



Amélioration de la rétention par le bois des sels d'ammonium quaternaire et conséquences sur la résistance à l'attaque des champignons: Etude du comportement, face aux basidiomycètes, du bois greffé par des motifs acyles à longue chaîne carbonée

Faisl Bousta

► **To cite this version:**

Faisl Bousta. Amélioration de la rétention par le bois des sels d'ammonium quaternaire et conséquences sur la résistance à l'attaque des champignons: Etude du comportement, face aux basidiomycètes, du bois greffé par des motifs acyles à longue chaîne carbonée. Autre. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 1998. Français. NNT: 1998NAN10235 . tel-01748359

HAL Id: tel-01748359

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01748359>

Submitted on 29 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



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>

THESE

Présentée pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I

en Sciences du Bois

Présenté par

Faisl BOUSTA

**Amélioration de la rétention par le bois des sels d'ammonium quaternaire et
conséquences sur la résistance à l'attaque des champignons.**

**Etude du comportement, face aux basidiomycètes, du bois greffé par des motifs
acyles à longue chaîne carbonée.**

Soutenue publiquement le 23 octobre 1998, devant la Commission d'Examen

Membres du jury:

Président :	MERLIN A.	Professeur à l'Université Henri Poincaré Nancy-I
Rapporteurs :	BOURELLE F.	Professeur à l'Université de Reims
	ROHR R.	Professeur à l'Université de Lyon-I
Examineurs :	KILBERTUS G.	Docteur d'Etat à l'Université Henri Poincaré Nancy-I
	LOUBINOUX B.	Professeur à l'Université Henri Poincaré Nancy-I
	REISINGER O.	Docteur d'Etat à l'Université Henri Poincaré Nancy-I

A la mémoire de ma Mère

A mon Père

A ma Femme Cécile

A mes Frères et Soeurs

A toute ma Famille

A mes Amis (es)

Avant propos

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

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au sein du LERMAB, équipe de microbiologie et de chimie organique IV de l'Université Henri Poincaré-Nancy I, sous la direction de Monsieur le professeur Bernard LOUBINOUX, à qui j'exprime ma reconnaissance la plus sincère pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour m'avoir guidé tout au long de ma formation, pour son soutien et la confiance qu'il m'a toujours accordées, qu'il soit assuré de ma profonde reconnaissance.

Je remercie Madame F. BOURELLE professeur à la faculté de Reims et Monsieur R. ROHR professeur à la faculté de Lyon, pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de juger ce travail.

Je tiens à remercier Messieurs G. KILBERTUS et O. REISINGER maître de conférence à l'Université Henri Poincaré-Nancy I, pour les remarques et conseils qui m'ont été très précieux pour mener ce travail, et pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de juger ce travail.

Mes sincères remerciements vont à Monsieur A. MERLIN professeur à l'Université Henri Poincaré-Nancy I, qui a bien voulu participer à mon jury de thèse.

Je tiens aussi à exprimer mes remerciements à Messieurs P. GERARDIN et E. KIFFER, maîtres de conférence à l'Université Henri Poincaré-Nancy I, pour leurs conseils, leur disponibilité et leurs aides de tous les instants.

Je tiens aussi à remercier Monsieur R. SHNEIDER, maître de conférence à l'Université Henri Poincaré-Nancy I, pour ses conseils et sa sympathie à mon égard.

Une place particulière est réservée à Messieurs J. GHANBAJA et A. KOEHLER, respectivement responsable du Microscope Electronique à Transmission et à Balayage, pour m'avoir enseigné les principes d'utilisations du Microscope électronique, leur savoir et leur gentillesse m'ont profondément touché.

Je remercie vivement Madame G. VILLEMIN Ingénieur au Centre de Pédologie de Nancy, pour les coupes ultramicrotomiques qu'elle a bien voulu réalisé malgré son emploi du temps très chargé.

Je souhaiterais par ailleurs adresser mes remerciements sincères à Monsieur P. ROUSSEL pour l'aide précieuse qu'il m'a apporté.

Je remercie vivement tous les membres de ma famille qui m'ont soutenue matériellement et moralement tout ces années.

J'adresse également mes remerciements à tous mes collègues du laboratoire de Microbiologie et de chimie organique IV, pour leurs conseils et leur amitié.

Je remercie également toutes les personnes qui, à divers titres, m'ont aidé sans pouvoir toutes les nommer individuellement.

Résumé :

L'étude présentée comporte deux parties distinctes qui ont le même objectif. La première partie s'intéresse à la modification de la structure chimique des sels d'ammonium quaternaire à chaînes grasses.

Les essais en boîte de Pétri montrent que les sels modifiés ont une activité fongicide comparable à celle des sels de départ.

Les essais d'imprégnation montre que, la modification de la structure chimique des sels est très bénéfique. Nous constatons que la rétention des sels modifiés au sein du bois a doublé.

Les analyses au M.E.T. nous ont permis de confirmer les résultats obtenus aux essais d'imprégnations. La modification de la structure chimique du sel d'ammonium permet d'augmenter le taux d'azote dans le bois de 44,4 %, d'où une augmentation du sel d'ammonium retenu par le bois.

Les analyses au M.E.B. ont permis de localiser le sel d'ammonium modifié au niveau des cavités cellulaires, alors qu'il nous était difficile de visualiser le sel d'ammonium soluble.

Les résultats que nous avons obtenus dans les essais mycologiques sur bois, constituent un point très positif dans le cadre des objectifs que nous nous sommes fixés à savoir la minimisation de la proportion du sel lessivé tout en gardant intact l'activité fongicide de ces derniers.

La dernière partie a consisté à étudier le comportement biologique de la sciure d'*Epicéa commun* modifiée par des motifs acyles gras à longue chaîne carbonée face au *Poria placenta*. Nous avons démontré que le bois modifié et exposé au *Poria placenta* pendant 7, 14 et 21 jours en présence ou en absence de glucose, reste intacte, en particulier au niveau des greffages.

Ce résultat très intéressant, peut apporter une réponse aux problèmes posés par la stabilité du matériau bois, et en même temps pour le préserver contre l'attaque du *Poria placenta*.

Mots clés :

Bois, Préservation, Ammonium quaternaire, Emulsions, Fongicides, MET, MEB, Greffage, Acides gras.

The Improvement of the retention of the quaternary ammonium salts in wood and its Consequences on the decay wood.

The Study of modified wood with fatty acids and the Research of new biological properties.

Abstract :

This study involves two distinct parts. In the first part, we have studied the chemical modification of quaternary ammonium salts in wood and the preservation of wood against attack by fungi.

The modified and the unmodified quaternary ammonium salts show the same biological activity in an artificial medium.

The blocks of wood, impregnated with modified and unmodified salts, show that the modification is very beneficial. We have noted that the retention of modified ammonium in the wood is twice than in wood treated with unmodified ammonium.

The results obtained in the impregnation test of wood are confirmed by transmission electron microscopy (TEM) coupled with an Electron Energy Loss Spectrometry (EELS). The modification of the chemical structure of ammonium salts allows an increase of the azote rate in wood (44,4 %).

The modified ammonium in the cellular cavity level has been observed by the Scanning Electron Microscopy (SEM).

The results we found in the biological wood resistance are very interesting. We have also found, for example, that a 1 % concentration of a quaternary ammonium salts preserves wood from the attack of *Coriolus versicolor* and *Poria placenta*.

The last part is devoted to the study of the ability of modified sawdusts with fatty acids to protect wood. Interesting results are obtained in this area.

Key words :

Wood, Preservation, Quaternary Ammonium, Emulsions, Fongicides, TEM, SEM, Greffage, Fatty Acids.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	5
---------------------	----------

GENERALITES

I. Présentation du matériau bois	7
I.1. Cellulose	7
I.2. Hémicelluloses	8
I.3. Lignine	9
I.4. Composés extractibles	9
I.5. Structure de la paroi cellulaire	10

CHAPITRE I

PARTIE I : BIBLIOGRAPHIE

II. Dégradation biologique du bois	12
II.1. Dégradation de la cellulose	12
II.2. Dégradation de la lignine	14
II.3. Spécificité de l'attaque fongique	15
III. Différents types de traitement des bois	17
III.1. Durabilité	17
III.2. Classes de risque	17
III.3. Traitement physique	18
a/ Séchage dit classique	19
b/ Autres procédés de séchage	19
III.4. Traitement biologique	20
III.5. Traitements chimiques du bois	20
III.5.1. Procédés ne faisant pas appel à la pression	21
III.5.2. Procédés faisant intervenir la pression	21
A- Injection à cellules pleines	22
B- Injection à cellules vides	22
C- Procédé d'imprégnation périphérique contrôlée	22
III.5.3. Produits de préservation (AACs)	24
III.5.3.1. Préservation du bois par les AACs	24
III.5.3.2. Biodégradation des AACs	27
III.5.3.3. Propriétés toxicologiques	28
III.5.3.4. Mécanismes d'action des AACs	29

IV. Matériel biologique	31
IV.1. Essences ligneuses	31
A. Choix du matériau	31
A.1. Pin sylvestre	31
A.2. Hêtre	31
B. Préparation des éprouvettes	31
IV.2. Champignons d'essais	32
A. <i>Coriolus versicolor</i>	33
B. <i>Poria placenta</i>	33
PARTIE II	
ESSAIS BIOLOGIQUES ET IMPREGNATIONS DU BOIS	
V. Matériel et méthode	34
Introduction	34
V.1. Présentation des sels d'ammonium	34
V.2. Préparation des sels de formule générale : BF(14 ; 15 ; 16 et 17)	35
V.3. Essais biologiques	37
V.3.1. Essais mycologiques en boîte de Pétri	37
a/ Produits solubles dans l'eau	37
b/ Produits insolubles dans l'eau	37
V.3.2. Essais sur bois	38
A. Traitement des éprouvettes de bois	38
A.1. Imprégnation du bois avec les sels d'ammonium non modifiés	38
A.2. Imprégnation du bois avec les sels d'ammonium modifiés	39
A.3. Lessivage des éprouvettes traitées	40
A.4. Détermination de la quantité du produit retenu	40
B. Exposition aux champignons	40
VI. Résultats et discussion	42
VI.1. Essais mycologiques en boîte de Pétri	42
a. <i>Poria placenta</i>	43
b. <i>Coriolus versicolor</i>	44
c. <i>Gloeophyllum trabeum</i>	46
d. <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	47
e. Conclusion	49
VI.2. Essais sur bois	50
VI.2.1. Traitement des éprouvettes de bois	50
VI.2.1.1. Imprégnation des éprouvettes avec les sels d'ammonium non modifiés	50

VI.2.1.2. Préparation des tétrafluoroborates et des hexafluorophosphates d'ammonium au sein du bois	54
VI.2.1.3. Imprégnations du bois avec les émulsions	59
VI.2.2. Mesure de la résistance biologique des éprouvettes traitées avec le tétrafluoroborate et l'hexafluorophosphate d'ammonium	61
VI.2.2.1. Eprouvettes traitées en deux applications successives	61
VI.2.2.2. Eprouvettes traitées avec les émulsions	62

PARTIE III MICROSCOPE ELECTRONIQUE

VII. Microscopie Electronique à Balayage	63
VII.1. Rappel des différents organes de la colonne du M.E.B	63
VII.2. Préparations des échantillons	64
VII.3. Résultats et discussion	64
VIII. Microscopie Electronique à Transmission	66
VIII.1. Spectroscopie par pertes d'énergie	66
VIII.2. Principe de la spectroscopie par pertes d'énergie	66
VIII.3. Résultats et discussion	67

CHAPITRE II RESISTANCE BIOLOGIQUE DE LA SCIURE MODIFIEE PAR CHIMIQUement

I. Greffage de motifs par liaison ester et carbamate	73
II. Dégradation des liaisons esters	74
II.1. Les enzymes lipolytiques	74
II.2. Les estérases ou carboxylestérases	75
II.3. Les lipases	75
II.4. Détection de l'activité lipolytique	75

III. Métabolisme des acides gras	76
III.1. Détection de la dégradation des acides gras	78
IV. Modifications chimiques de la structure du bois	79
IV.1. Fixation d'acides gras sur la sciure d'Épicéa : par liaison ester	79
A/ Préparation de la sciure du bois	79
B/ Préparation des acides gras à partir des graisses animales	79
a. <i>Saponification</i>	76
b. <i>Transformation de la graisse en chlorures d'acides</i>	76
c. <i>Réaction des chlorures d'acides gras avec la sciure d'Épicéa : synthèse de Bois-O-C(O)-R</i>	80
d. <i>Lavage au Soxhlet</i>	80
IV.2. Résultats	80
IV.3. Greffage de motifs par fonction uréthane	80
VI. Détermination de l'activité lipolytique et dégradation d'acide gras	85
VI.1. Milieu de mise en évidence de l'activité lipolytique	85
VI.2. Milieu de mise en évidence de la dégradation des acides gras	86
Conclusion	87
VII. Exposition de la sciure modifiée au <i>Poria placenta</i>	88
VII.1. Milieu de culture	88
VII.2. Résultats et discussions	89
CONCLUSIONS	95
BIBLIOGRAPHIES	97
ANNEXES	103

INTRODUCTION

Le bois est un matériau contemporain de l'homme. Premier matériau, utilisé par l'homme pour la production d'énergie, le bois a été aussi, avec la pierre, le premier matériau, utilisé pour la construction.

Actuellement, le bois est parmi les matières premières qui intéresse de plus en plus les industriels. Cependant, il pose de nombreux problèmes du fait de son instabilité et de sa sensibilité aux agressions provenant d'autres êtres vivants tels que les champignons et les insectes.

Pour augmenter la durabilité naturelle du bois vis-à-vis des agents externes auxquels il est sensible, une méthode classique consiste à imprégner le bois avec des produits de préservation.

Bien que des substances comme les sels métalliques soient très utilisées, de nombreuses recherches sont entreprises afin de trouver d'autres molécules efficaces et peut être plus intéressantes tant sur le plan de leurs interactions avec le bois que sur le plan économique.

Dans ce but, est apparue il y a une vingtaine d'année la famille des sels d'ammonium quaternaire qui ont déjà démontré leurs performances fongicides et insecticides.

Nous commençons notre travail par des généralités sur le matériau bois, sa composition chimique et la structure de la paroi cellulaire.

La première partie du chapitre I, est consacrée à la bibliographie sur la dégradation biologique du bois et aux différents traitements pour le préserver.

La deuxième partie de notre travail s'intéresse à l'amélioration de la rétention d'une série de sels d'ammonium quaternaire en modifiant leurs structures chimiques au sein du bois ou avant traitement du bois. Dans ce dernier cas, le produit modifié est introduit dans le bois par le biais d'émulsion.

D'autre part, nous avons étudié l'activité biologique de ces sels modifiés, en déterminant leurs seuils d'efficacité, à la fois dans un milieu de culture traditionnel en boîte de Pétri et dans le cas où ils sont introduits au sein du bois de Pin sylvestre et de Hêtre.

La troisième et dernière partie de ce chapitre s'intéresse à la mise en évidence de ces sels au sein du bois par utilisation de la technique de Microscopie Electronique à Balayage et à Transmission.

Le dernier chapitre de ce travail consiste à étudier la résistance biologique de la sciure d'Épicéa commun dont la structure chimique est modifiée par greffage des chaînes grasses, par liaison ester ou par liaison carbamate.

Les modifications de la structure chimique du bois ont été mises au point et effectuées au laboratoire par Maurin (1996). Le but de ces dernières est d'apporter une nouvelle réponse au problème de la préservation du bois.

Des recherches récentes ont démontré que les modifications de la structure chimique améliorent certaines propriétés mécaniques ou physico-chimiques du bois. Le bois modifié peut être utilisé comme filtre pour décontaminer les effluents industriels ou domestiques.

Dans ce chapitre, nous avons étudié d'une part, l'activité lipolytique, ainsi que la dégradation de l'acide stéarique en boîte de Pétri par *Poria placenta* Basidiomycète responsable de la pourriture brune du bois. D'autre part, nous avons testé la résistance biologique du bois modifié par greffage des motifs acyles à longue chaîne carbonée par des liaisons esters et par des liaisons uréthanes.

GENERALITES

Le bois utilisé comme matériau est, avant l'abattage de l'arbre, une matière vivante. Sous l'influence de phénomènes chimiques et biologiques, la partie centrale de l'arbre meurt et forme le bois duraminisé (dit duramen ou bois parfait) plus ou moins différencié selon les essences. La partie externe appelée aubier, reste active. Elle est périssable d'autant plus qu'elle renferme des substances de réserves riches en amidon qui attirent les micro-organismes et les insectes. Le duramen possède une durabilité naturelle généralement plus élevée, l'amidon étant remplacé par des tanins et autres polyphénols.

I. Présentation du matériau bois

Les essences résineuses (Gymnospermes) et feuillues (Angiospermes) diffèrent dans l'organisation de leurs tissus, non seulement par leur structure mais aussi par leur composition chimique (tableau 1).

Les constituants majeurs des parois cellulaires du bois sont des macromolécules dont les principales sont : la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. D'autres constituants polymériques sont présents en quantité moins importante comme l'amidon, les pectines....

Le tableau ci-dessous résume la répartition des composés chimiques dans les feuillus et les résineux.

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

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

Le pourcentage de cellulose ne varie pas ou peu entre les bois de feuillus et les bois de résineux. Cela n'est pas le cas de la lignine dont la proportion est comprise entre 18 et 25 % pour les bois feuillus et 25 à 35 % pour les bois résineux. Cela va nous permettre de mieux comprendre ultérieurement dans la partie dégradation biologique, la préférence des champignons pour un type de bois plutôt qu'un autre et dans la partie chimie les interactions des produits de préservation avec les différents constituants du bois.

I.1. Cellulose

Constituant le plus abondant du bois, elle représente 40 à 50 % de son poids sec. Elle est insoluble dans l'eau et dans les solvants organiques.

La figure 1 schématise la structure primaire de la cellulose. C'est une macromolécule polyosidique à haut poids moléculaire constituée par la répétition du motif cellobiose (déshydratation de deux unités β -O- glucopyrannose). Ces unités β -O- glucopyrannose sont reliées entre elles par des liaisons 1,4.

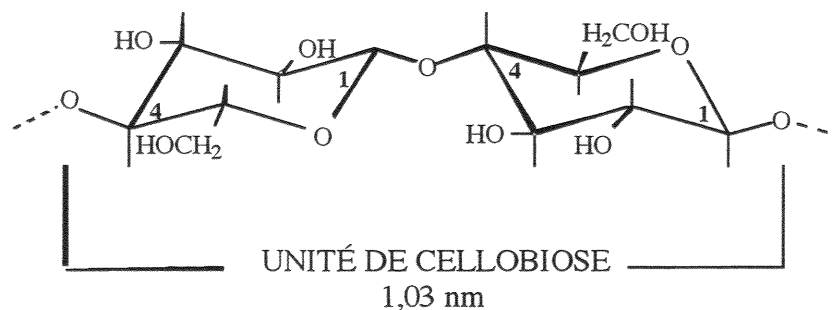


Figure 1 : Structure chimique de la cellulose

La structure spatiale de la cellulose est linéaire et seules des interactions intermoléculaires de types liaison hydrogène entre les groupements fonctionnels imposent la structure secondaire de cette molécule.

Cette géométrie permet une organisation des chaînes cellulosiques en microfibrilles, leur conférant un rôle de soutien dans la paroi cellulaire végétale.

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.

I.2. Hémicelluloses

Le nom d'hémicelluloses englobe tous les polysaccharides autres que la cellulose et les substances pectiques présentes dans la membrane cellulaire : ces polysaccharides à chaînes plus courtes et plus ramifiées sont à base de pentosanes (polymères de sucre à cinq carbones) et d'hexosanes (polymères de sucre à six carbones).

Leurs importances relatives varient selon l'essence considérée.

Tableau 2 : répartition des hémicelluloses entre les deux types d'essences.

	Résineux	Feuillus
Pentosane en %	10 à 25	20 à 35
Hexosane en %	12 à 20	3 à 4

Les hémicelluloses se présentent sous forme amorphe et s'organisent autour des microfibrilles de cellulose.

Cellulose et hémicelluloses possèdent de nombreux groupements hydroxyles qui confèrent au bois son caractère hygroscopique.

I.3. Lignines

Les lignines représentent la fraction non glucosidique la plus importante (10 à 30 % du bois). Ce sont des polymères complexes de nature principalement phénolique dont la structure tridimensionnelle n'est pas connue de façon exacte.

Les lignines sont obtenues par polymérisation oxydative de trois alcools phénylpropénoïques, les alcools coumaryliques, coniféryliques et sinapyliques (Figure 2).

Alcool coumarylique Alcool coniférylique Alcool sinapylique

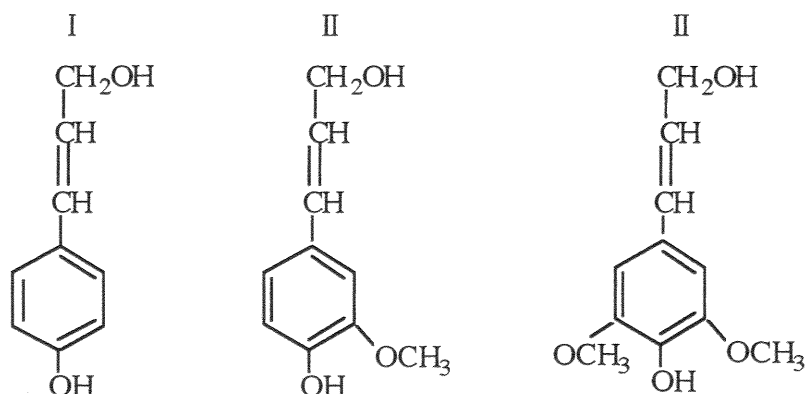


Figure 2 : Unités précurseurs de la lignine

Les proportions relatives de ces trois monomères diffèrent beaucoup entre les lignines des résineux et des feuillus. Le tableau 3 regroupe le pourcentage des trois monomères dans le bois des feuillus et des résineux.

Tableau 3 : pourcentage des différents monomères entre les deux types d'essences.

	I (en %)	II (en %)	III (en %)
Résineux	14	80	6
feuillus	6	47	47

La présence de nombreuses liaisons carbone - carbone entre les unités constitutives font que sa dégradation en produit de bas poids moléculaires est difficile (Freundenberg et al 1968)

Les lignines ont pour rôle essentiel de renforcer les propriétés mécaniques et d'accroître la résistance du bois aux attaques biologiques.

I.4. Composés extractibles

Les bois contiennent 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 habituellement inférieure à 5 %. Ils se situent essentiellement dans le lumen des cellules, les rayons parenchymateux et les canaux résinifères. Ils ne se combinent pas ou peu avec les composés des membranes cellulaires des bois.

Leur nature et leur composition sont très variables selon les essences. Pour le chêne, les substances extractibles sont principalement constituées de composés colorés. Les plus importants étant les tanins, polyphénols classés en deux groupes :

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

- Les tanins hydrolysables, esters de sucre avec un ou plusieurs acides polyphénoliques, 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.

Les tanins ont la propriété de former des précipités insolubles dans l'eau avec les protéines ou les alcaloïdes.

I.5. Structure de la paroi cellulaire

Les constituants majeurs cités précédemment forment la paroi des cellules ligneuses. Cette paroi présente une structure hétérogène ; elle est composée schématiquement, de l'extérieur vers la lumière cellulaire : (Figure 3).

- d'une membrane intercellulaire, appelée lamelle mitoyenne qui soude les cellules adjacentes (M),

- une paroi primaire (P) qui tapisse la couche intercellulaire,

- une paroi secondaire elle-même formée de trois sous-couches (S_1 , S_2 et S_3).

La sous-couche S_3 , appelée aussi paroi tertiaire porte des épaissements spiralés ou des protubérances, constituant les éléments d'une paroi "verruqueuse".

Au cours de la formation de la paroi secondaire et de sa lignification se différencient les ponctuations, zones d'interruption de la paroi secondaire, qui permettent des communications entre les cellules.

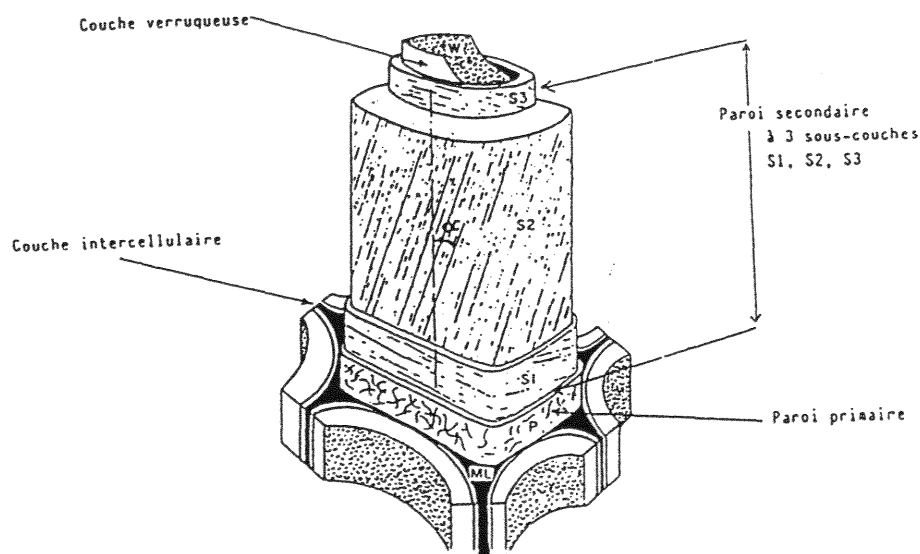


Figure 3 : Représentation schématique des différentes couches constituant la paroi cellulaire (d'après Core et al. 1979)

Les caractéristiques structurales et chimiques de ces différentes couches sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : constituants chimiques et caractéristiques de la paroi ligno-cellulosique

	Lignine	Hémicelluloses	Cellulose	Caractéristiques
Membrane Mitoyenne	80 %	20 %	0 %	Epaisseur : 0,5 à 1,5 μm Siège de la lignification des parois cellulaires
Paroi Primaire	70 %	20 à 25 %	-	Epaisseur : 0,03 à 0,1 μm Orientation quelconque des microfibrilles de cellulose zone de transition chimique entre membrane mitoyenne et paroi secondaire
Paroi Secondaire	20 %	-	> 80 %	Epaisseur : 2 à 15 μm (90 % de l'épaisseur totale). Faiblement incrustée de lignine et d'hémicelluloses.
S ₁	-	-	-	Epaisseur : 0,1 à 0,35 μm (5 à 10 % de l'épaisseur totale).
S ₂	-	-	> 50 %	Epaisseur : 1 à 10 μm (75 à 85 % de l'épaisseur totale).
S ₃	10 %	-	90 %	Epaisseur : 0,5 à 1,0 μm .

Les valeurs mentionnées dans ce tableau sont exprimées en fonction de la composition chimique globale de la couche considérée.

CHAPITRE I

PARTIE I
BIBLIOGRAPHIE

II. Dégradation biologique du bois

Les attaques biologiques qui altèrent l'état du bois sont essentiellement provoquées par des micro-organismes (bactéries ou champignons), par des insectes xylophages ou nidifiant dans le bois et par des mollusques marins.

La sévérité des attaques dépend des caractéristiques liées à l'espèce de bois, notamment la composition chimique, et aussi à des facteurs externes tel que le climat et les conditions de service du bois qui facilitent ou inhibent les dégradations biologiques.

Deux catégories d'insectes dégradent le bois :

- Les insectes sociaux (Termites) assimilent la cellulose grâce aux zooflagellés situés dans leur intestin.
- Les insectes à larves xylophages se nourrissent soit de cellulose (capricornes des maisons), soit d'amidon (les lyctus).

Certaines bactéries comme les Actinomycètes sont capables de dégrader la lignine. Nous évoquerons ce problème dans la partie consacrée aux traitements biologiques (paragraphe III.4).

Les champignons sont les micro-organismes les plus redoutables et causent des dégâts importants. C'est pour cette raison qu'on s'intéressera dans cette étude aux attaques provoquées par ces derniers et aux moyens de lutte contre celles-ci.

Les champignons dégradant le bois sont classés selon les dégâts qu'ils occasionnent et selon le type de polymère qu'ils sont capables de dégrader (Lignine, Hémicelluloses ou Cellulose) :

- Les champignons de pourriture brune décomposent essentiellement la cellulose et les hémicelluloses (ce sont des Basidiomycètes comme *Poria placenta*).
- Les champignons de pourriture blanche décomposent surtout la lignine mais aussi la cellulose et les hémicelluloses (ce sont des Basidiomycètes comme *Coriolus versicolor*).
- Les champignons de pourriture molle qui dégradent la cellulose et les hémicelluloses (ce sont des Basidiomycètes comme *Chaetonium globoseum*).

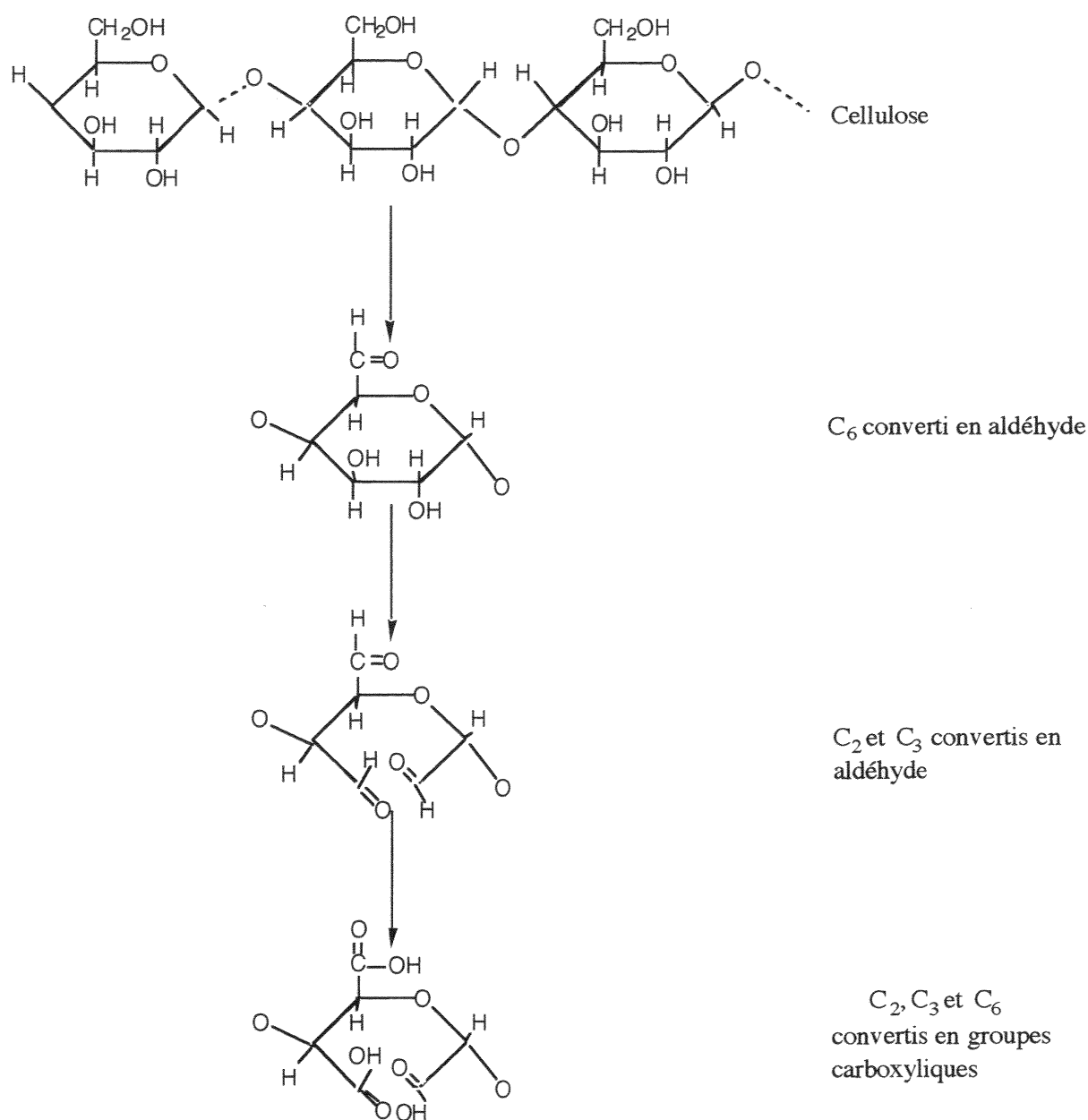
II.1. Dégradation de la cellulose

Les expériences réalisées par Highley en 1978 montrent que les pourritures cubiques métabolisent les polyssacharides de façon différente des pourritures molles et fibreuses.

Les analyses chimiques et ultrastructurales du bois dégradé par les pourritures cubiques indiquent que ces champignons libèrent des agents qui pénètrent profondément dans la microstructure du bois et dépolymérisent rapidement les polyssacharides avec une faible perte de masse (Cowling ; 1961, Highley et al. 1984).

Highley ; 1987 a réalisé des essais enzymatiques de dégradation de plusieurs polyssacharides par la cellulase commerciale de *Trichoderma reesei*. L'attaque commence toujours au point de contact avec la paroi cellulaire. Ses résultats confirment l'hypothèse de Cowling 1961, et Koenigs 1974. Les pourritures brunes produisent des agents capables de traverser les parois

cellulaires et d'ouvrir la microstructure. Walter et al 1980 ont essayé sans succès d'isoler, d'identifier et de purifier les substances secrétées par *Poria placenta*. Koenigs (1972a, 1974b) a montré que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peut solubiliser les fibres de coton en présence de Fe^{2+} . Cette altération est comparable à celle provoquée par les pourritures cubiques. Le mécanisme de dégradation de la cellulose par le système H_2O_2/Fe^{2+} proposé par Koenigs (1972, a-b) démarrerait par une oxydation du carbone C_6 de l'unité pyranose suivie de celle du C_2 et du C_3 , pour aboutir à une rupture de la chaîne, conduisant à la libération d'un groupement carboxylique. (Figure 4)



Rupture de la chaîne, perte des groupements carboxyliques.

Figure 4 : Mécanisme de la dégradation de la cellulose par un système H_2O_2/Fe^{2+} .
(d'après Koenigs 1972, ab)

Tous les auteurs sont d'accord sur le fait que les pourritures cubiques utilisent un mécanisme d'oxydation non protéinique pour dégrader la cellulose du bois.

A l'opposé des pourritures cubiques, les pourritures molles et fibreuses utilisent un mécanisme d'oxydation protéinique pour métaboliser la cellulose du bois.

Ces processus de dégradation sont gouvernés par plusieurs types d'enzymes, dont les plus importants sont les exo et endo-glucanases (Eriksson et al. 1973, Eriksson ; 1978). (Figure 5)

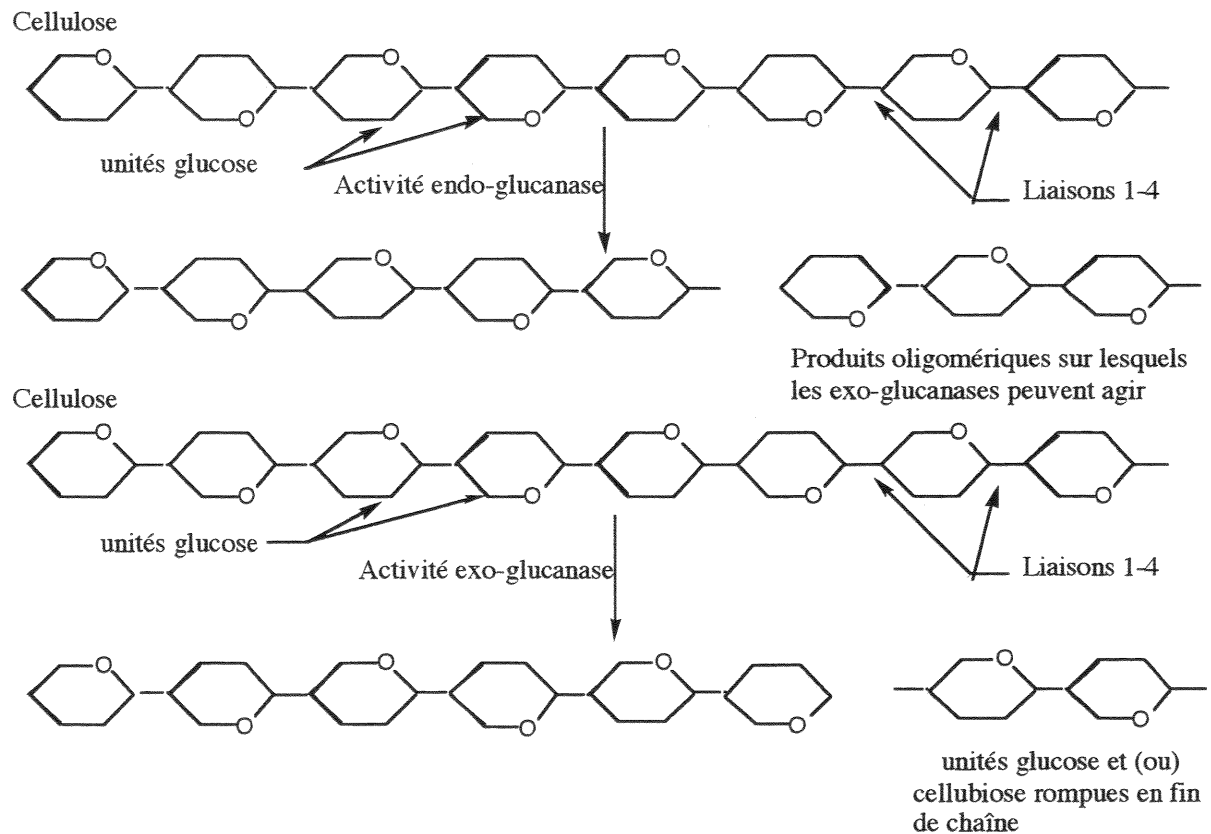


Figure 5 : Activité des exo-endo-glucanase. (Eriksson ; 1978)

Les exo-glucanases agissent en coupant le glucose (ou la cellobiose) aux extrémités de la chaîne polyssacharidique.

Les endo-glucanases agissent à l'intérieur du polymère cellulosique, rompant ainsi des liaisons chimiques et créant des fragments libres sur lesquels les exo-glucanases peuvent agir (Eriksen et al. 1977).

II.2. Dégradation de la lignine

Comme nous avons vu précédemment le terme lignine est un terme général désignant le produit issu de la polymérisation de motifs aromatiques variés.

Sa nature complexe et tridimensionnelle, son hétérogénéité, l'absence d'unités spécifiques répétitives, réduisent les chances de reconnaissance par une enzyme de dégradation (Kirk et al. 1978).

Si la transformation de la lignine en CO_2 ne peut donc être le résultat de l'action d'une seule enzyme, l'intervention de plusieurs catalyseurs d'activités complémentaires peut être envisagée.

Le mécanisme de dégradation de la lignine est influencé par la teneur en azote du substrat. Son augmentation inhibe l'initiation et la poursuite de la ligninolyse (Keyser et al. 1978).

Une dégradation de la lignine intervient au cours du métabolisme secondaire provoqué par la diminution de quelques éléments tel que l'azote (Kirk et al. 1978).

Kirk et Shimada (1985) ont montré que les enzymes mises en jeu sont extracellulaires, oxydatives et non spécifiques.

Parmi ces enzymes, la laccase a été étudiée en raison de son abondance et de sa facilité de purification. (Konishi et al. 1971).

Les agents de pourritures fibreuses produisent également des peroxydases extracellulaires (Gold et al. 1984). Elles oxydent le polymère ligneux à distance, en présence de peroxyde d'hydrogène. (Forney et al. 1982b ; Ander et al. 1985).

La ligninolyse est considérablement réduite lorsque le peroxyde d'hydrogène synthétisé par la glucose-oxydase (Eriksson et al. 1986) est réduit par la catalase (Faison et al. 1983).

Selon Yang et al. (1980) le catabolisme de la lignine dépend également des facteurs climatiques. Elle est rapidement dégradée par *Phanerochaete chrysosporium* lorsqu'elle est saturée en eau. Reid et al. 1982, ont montré que, la décomposition de la lignine par les pourritures fibreuses (*Phanerochaete chrysosporium* et *Coriolus versicolor*) est plus intense dans une atmosphère riche en oxygène qu'elle ne l'est dans l'air.

II.3. Spécificité de l'attaque fongique

Les compositions chimiques des divers constituants de la paroi lignocellulosique influencent la préférence des pourritures fibreuses et molles pour les feuillus et celle des pourritures cubiques pour les résineux. (Highley ; 1976, Nilson et al. 1987)

Les agents de pourritures fibreuses métabolisent rapidement la lignine et accessoirement la cellulose et les hémicelluloses. Cependant, ils attaquent surtout les feuillus qui sont plus riches en polymères ligneux que les résineux (Highley ; 1987, Cowling ; 1961).

Highley 1982a, en travaillant sur l'agent de pourriture fibreuse *Coriolus versicolor*, a démontré que ce dernier dégrade faiblement un feuillus tropical, riche en lignine coniférylique.

En 1985, Faix et al. prouvent que *Phanerochaete chrysosporium*, agent de pourriture fibreuse, décompose plus les résidus de type syringyle.

Leightley 1984, conclut que les pourritures fibreuses décomposent faiblement et difficilement la lignine de type guaïacyl, ce qui explique leur faible croissance sur les résineux et le fait qu'elles se développent principalement sur les feuillus.

Nilsson et al. 1987, Highley ; 1976 et 1987, ont conclu que les compositions chimiques des hémicelluloses influencent également la préférence des pourritures fibreuses pour les feuillus et celles des pourritures cubiques pour les résineux.

Par conséquent, la dégradation des lignines et des hémicelluloses enrobant la cellulose, constitue une étape déterminante pour l'établissement des micro-organismes dans le bois (Gadat ; 1986).

III. Différents types de traitement des 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.

La forme de traitement majoritaire des bois est le traitement par des produits chimiques. Notre étude porte sur ce type de traitement du bois. Deux autres modes de traitement existent de façon très minoritaire dans le domaine de la préservation du bois : le traitement physique et le traitement biologique.

Un traitement n'est pas effectué de façon systématique et dépend de plusieurs facteurs comme la durabilité naturelle du bois, ou les conditions d'emploi (classes de risque).

III.1. Durabilité

La durabilité naturelle du bois c'est-à-dire la résistance intrinsèque du bois face aux attaques d'organismes destructeurs, est variable selon les essences.

Certaines sont très durables, d'autres, au contraire, sont très altérables. La façon dont l'arbre a poussé et a été abattu joue aussi un rôle.

La durabilité dépend aussi des conditions d'emploi. Ainsi, on définit différentes classes de risque, selon les conditions d'utilisation du bois.

III.2. Classes de risque (EN 335-2)

La norme EN 335-2 définit les classes des risques biologiques d'emploi du bois, en fonction de la situation où il sera placé. Il est prévu cinq classes.

Tableau 5 : Classement des risques biologiques d'emploi du bois.

(d'après la norme EN 335-2)

N° classe	Situation en service	Risques biologiques
1	Bois sec, humidité toujours inférieure à 20 %	Insectes
2	Bois sec mais dont l'humidité peut occasionnellement dépasser 20 %	Insectes Champignons de surface
3	Bois à une humidité fréquemment supérieure à 20 %	Pourriture Insectes
4	Bois à une humidité toujours supérieure à 20 %	Pourriture Insectes
5	Bois immergés en permanence dans l'eau	Pourriture Insectes Térébrants marins

Classe 1 : Bois sec, humidité toujours inférieure à 20 %. Parmi les ouvrages entrant dans cette classe on peut citer : meubles, parquets en pièce sèches, etc...

Classe 2 : Bois sec mais dont l'humidité peut occasionnellement dépasser 20 %.

Exemples : charpentes, planchers, ossatures.

Classe 3 : Bois à une humidité fréquemment supérieure à 20 %.

Exemples : menuiseries extérieures.

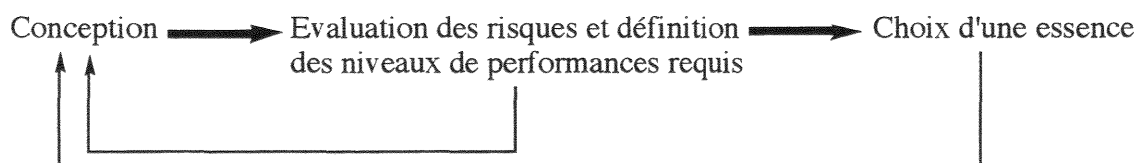
Classe 4 : Bois à une humidité toujours supérieure à 20 %.

Exemple : bois au contact du sol ou de l'eau, pièces horizontales fendillées, assemblages ou toute autre cause faisant piège à eau stagnante.

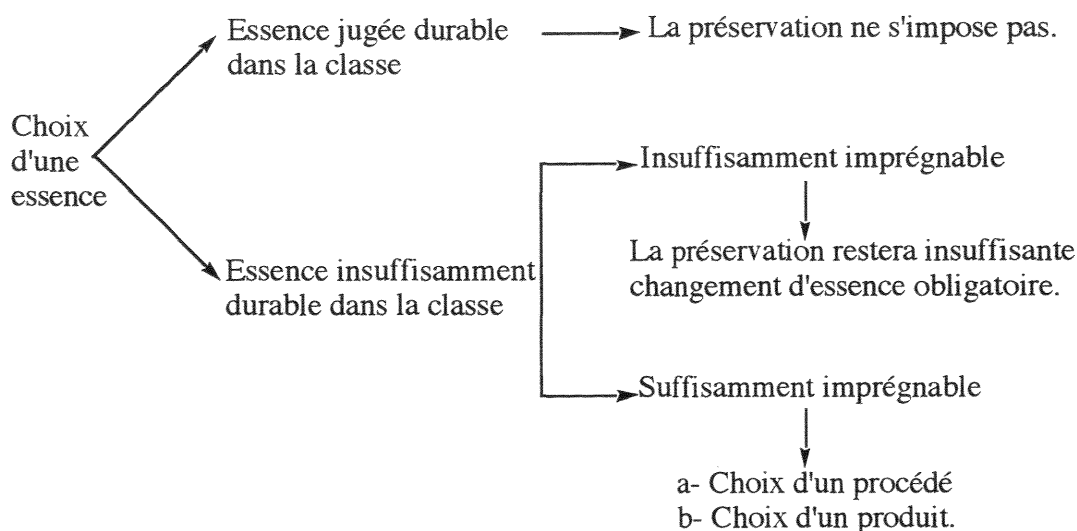
Classe 5 : Bois en contact permanent avec l'eau.

Cette classe englobe tous les bois immergés en permanence dans l'eau.

A partir de l'évaluation du risque biologique auquel les bois seront exposés en service, le cheminement de la décision à prendre est représenté, dans la norme, par le schéma suivant :



Le cas échéant, révision de la conception. A partir de cette étape, deux solutions sont possibles :



III.3. Traitement physique

Le traitement le plus pratiqué dans les industries de la filière bois est le séchage. C'est une opération très importante dans le processus de transformation du bois, et même primordiale pour une bonne mise en oeuvre ultérieure du bois et une bonne protection dans le temps du matériau.

En général, le séchage du bois est inclus dans la fabrication, soit dans la scierie si celle-ci le pratique, soit dans le processus de fabrication. Il existe différents procédés de séchage :

a/ Séchage dit classique. On peut citer les quatres grands procédés, ayant chacun ses variantes.

⊗ *Séchage à l'air libre ou séchage naturel*. C'est la forme la plus ancienne, qui nécessite du temps et de l'espace. D'autre part, ce procédé ne permet pas de sécher les bois à des humidités très basses (rarement en dessous de 14-15 %, équilibre du bois à l'air libre). Cependant, la consommation d'énergie est faible.

⊗ *Séchage par air chaud*. Actuellement, il représente la forme la plus courante du séchage du bois. Il est basé sur le même principe que le séchage du bois à l'air libre, c'est-à-dire une pression partielle de vapeur à la surface du bois inférieure à la pression de vapeur saturée. Evaporant l'eau de surface, des vides sont créés et l'eau intérieure va migrer vers les surfaces externes où elle sera évaporée.

⊗ *Séchage haute température*. Il s'agit d'un séchage par air chaud où la température de l'air se situe aux alentours de 120 à 150°C. Ce procédé n'est pratiqué que pour des bois résineux mi-lourds à légers ou pour des feuillus présentant une circulation facile de l'eau.

⊗ *Séchage sous vide*. Ce procédé est couramment utilisé depuis une vingtaine d'années. Le bois rangé sur des baguettes est placé dans un autoclave. La circulation de l'eau est favorisée par le vide.

b/ Autres procédés de séchage.

⊗ *Déshumidification et pompe à chaleur*. Sans augmenter la température de l'air, on jouera sur la pression partielle de vapeur dans l'air. On diminue, par différents procédés, la quantité de vapeur d'eau dans l'air et par là on augmente sa capacité d'absorption.

⊗ *Vapeur surchauffée*. Datant de 1985-1986, ce procédé fait appel à la vapeur pour sécher les matériaux bois.

D'autres types de traitements, qui sont peu utilisés actuellement et dont les procédés sont en cours d'évaluation au niveau industriel, consistent à la pyrolyse ménagée du bois : les procédés utilisés mettent en jeu un traitement thermique du bois à une température de 180 à 280°C 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).

III.4. Traitement biologique

Ce traitement consiste à imprégner les bois avec des composés extractibles de bois de coeur de certaines essences (châtaignier par exemple) réputées pour leurs propriétés de résistance par rapport aux attaques de micro-organismes.

Moret 1997, a étudié l'extraction de Tropolones à partir de deux espèces : Red cedar (*Thuja plicata*) et du Thuja commun (*Thuja occidentalis*) réputées pour leur durabilité naturelle. Ces substances ainsi extraites sont appliquées au Pin sylvestre (*Pinus sylvestris*).

Coombs et al. 1973, ont conclu que, ces molécules soumises à la lumière, à la chaleur et à l'oxygène, perdent irréversiblement leur structure ainsi que leurs propriétés.

Au laboratoire, Roussel (1997) a étudié les propriétés mécaniques du bois traité avec des bactéries, ayant un pouvoir antagoniste sur des champignons responsables du bleuissement du bois (Bezert, 1994). Les résultats obtenus ont montré que l'utilisation de bactéries du genre actinomycète pour lutter contre le bleuissement du bois provoque une dégradation du matériau, qui se manifeste par une diminution significative du module de rigidité. Ce résultat est rapproché de celui obtenu par Effransjah (1988) sur le bois d'Épicéa traité avec trois souches bactériennes (*Bacillus* et *Pseudomonas*).

Selon l'axe longitudinal, le traitement bactérien n'induit aucune modification notable des caractéristiques du bois. Selon les axes radial et tangentiel, on constate une diminution de 30 % du module de rigidité.

III.5. Traitements chimiques du bois

Comme nous l'avons mentionné précédemment, c'est le mode de traitement des bois le plus utilisé.

Le problème de la préservation des bois mis en-oeuvre n'est pas une préoccupation spécifique à notre époque. Les premiers produits définis utilisés au 18^{ème} siècle sont le sulfate de cuivre et le chlorure de mercure. Depuis, plusieurs voies ont été explorées simultanément pour améliorer la résistance du bois d'oeuvre face aux agents biologiques.

Les travaux réalisés ont portés sur la recherche de nouveaux produits actifs mais aussi sur les solvants et additifs pouvant aider leur pénétration et/ou leur fixation. Cet ensemble, produits actifs, solvants et additifs s'appelle formulation.

La Norme NF x 40-500 classe les produits de préservation en trois grands groupes :

- Produits hydrosolubles : sont essentiellement des sels minéraux utilisés seuls, mais généralement en mélanges définis.
- Produits huileux "naturels" : dont les créosotes, obtenues par distillation des goudrons de houille.
- Solutions organiques : comprennent essentiellement trois constituants
 - Matières actives : à caractère biocide ou biostatique,
 - adjuvants : qui assurent la stabilité du produit et la fixation des matières actives dans les bois,
 - solvant : dans lequel sont dissoutes ou diluées les matières actives et les adjuvants.

Les méthodes d'imprégnation ont également fait l'objet de plusieurs travaux. Plusieurs types de procédés d'imprégnation des produits de préservation dans le bois sont utilisés. Cependant, nous distinguons essentiellement deux familles de procédés selon qu'ils font appel ou non à la pression.

III.5.1. Procédés ne faisant pas appel à la pression

- Le badigeonnage est une méthode souvent employée. Ce traitement est appliqué au pinceau. Il faut donc que le produit soit de faible viscosité et que le traitement soit répétitif car la protection ne peut être que superficielle.

- Déplacement de sève : cette technique connue aussi sous le nom d'imprégnation axiale, ne peut être utilisée que dans le cas des bois ronds et fraîchement abattus, car elle met à profit les mécanismes naturels de circulation de sève dans les tissus vivants, cette dernière étant progressivement remplacée par un produit de préservation. Dans ce cas, seul l'aubier sera imprégné.

- Le trempage ou l'immersion fait également partie de ces techniques : le bois est immergé dans un liquide de préservation. La durée de trempage varie en fonction de la concentration de la solution, de la taille de la pièce à traiter ainsi que de l'essence.

Ces techniques de préservation du bois, ne nécessitent pas un investissement important, sauf évidemment dans les trempages industriels.

III.5.2. Procédés faisant intervenir la pression

Le principe général consiste à faire intervenir le vide pour extraire l'air inclus dans les cellules, et à utiliser la pression pour pousser le liquide en profondeur dans le bois.

L'imprégnation se pratique dans des autoclaves. Plusieurs procédés caractérisés chacun par leur cycle de pression et de dépression existent et sont utilisés en fonction de la rétention et de la pénétration que l'on veut obtenir. Ils se rattachent à l'un des deux types ci-après :

A- Injection à cellules pleines (Figure 6)

Elle consiste à gorger les vides cellulaires du produit d'imprégnation dont on recherche une meilleure rétention maximale.

Une première phase consiste à extraire par le vide l'air inclus dans les cavités cellulaires ; puis on introduit le liquide d'imprégnation qui se trouve ainsi aspiré dans les cellules ; on y force le cheminement en profondeur en appliquant sur le liquide une pression élevée (de 6 à 15 bar) jusqu'à refus, c'est-à-dire le moment à partir duquel le bois ne peut plus absorber davantage de liquide, ce dernier étant alors vidé de l'autoclave.

B- Injection à cellules vides (Figure 7)

Elle consiste à faire circuler le produit d'imprégnation dans tous le système capillaire des cellules du bois, de manière à en imprégner les membranes, puis à retirer l'excédant de produit des cavités cellulaires. Elle permet de réaliser une répartition convenable d'une quantité réduite de produit qui imbibe la matière ligno-cellulosique et présente trois avantages :

- ne pas alourdir le bois
- ne pas présenter le risque d'exsudations ultérieures de produits
- économiser un excédant de produit inutile à la bonne conservation recherchée.

Pour cela le produit est poussé dans le réseau cellulaire par une pression suffisante pour enfermer dans chaque cellule l'air inclus sous forme d'une microbulle comprimée autour de laquelle passe le liquide. Le retour à la pression normale permet à cet air comprimé de reprendre sa place en chassant l'excès de liquide.

C- Procédé d'imprégnation périphérique contrôlée (Figure 8)

Ce procédé fait également intervenir le vide et, éventuellement, une pression limitée. Il tend à réaliser une imprégnation à cellules vides mais sans rechercher le refus. En effet, on ne veut obtenir qu'une couche périphérique protégée, ce qui implique que les bois à protéger soient usinés avant le traitement.

Il se pratique également dans des appareils étanches. L'extraction par un vide limité de l'air inclus dans les cellules des tissus périphériques du bois, à plus ou moins grande profondeur, permet, lorsque le liquide est introduit dans l'appareil -sans couper le vide- une succion du produit lors du retour à la pression atmosphérique. L'entrée du liquide dans le bois est éventuellement aidée par une légère pression atmosphérique (2 bar maximum) s'il s'agit d'essence peu imprégnable. Un second vide, appliqué après que le liquide ait été évacué de l'appareil, a

pour double but d'extraire du bois l'excédant de produit, pour n'y retenir que la quantité désirée et de créer lors du retour à la pression atmosphérique une aspiration vers l'intérieur du bois, laissant une surface propre.

Ce procédé est bien adapté aux bois de construction, entre autres aux traitements de menuiseries. Il permet, en utilisant des produits formulés à cette fin, d'associer la stabilisation à la protection contre les altérations biologiques.

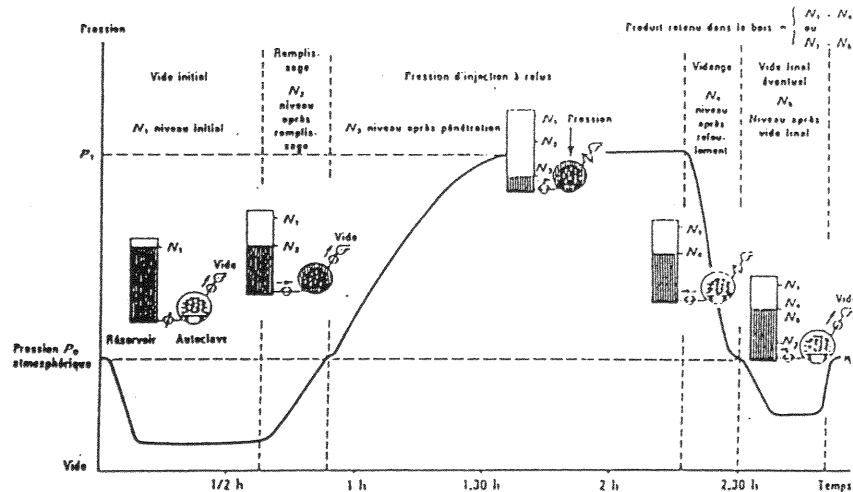


Figure 6 : Schéma d'injection à cellules pleines

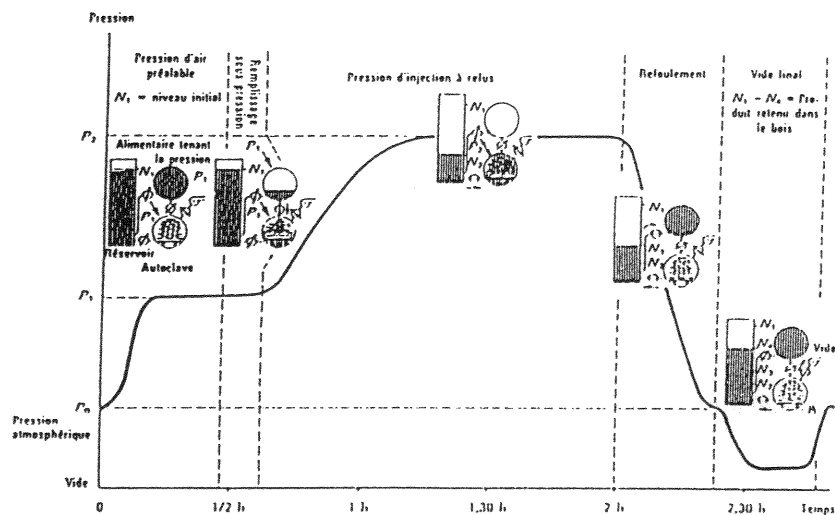


Figure 7 : Schéma d'injection à cellules vides

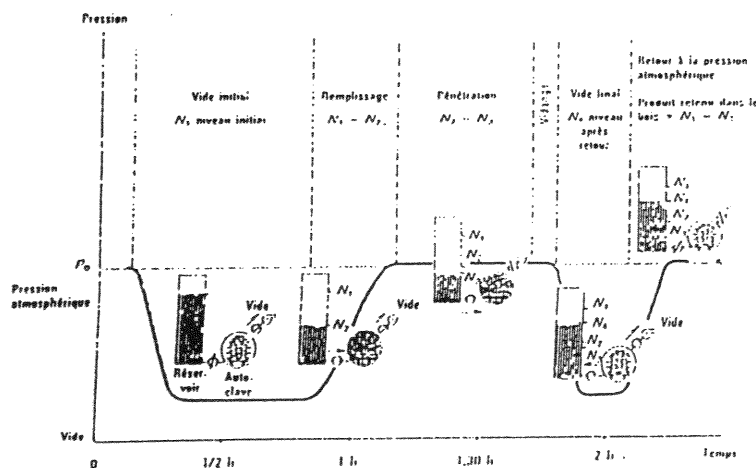


Figure 8 : Schéma d'imprégnation périphérique contrôlée

Le procédé d'imprégnation que nous avons utilisé le plus souvent dans notre étude est une variante de laboratoire de ceux existants. Il consiste à appliquer un vide initial, pour éliminer l'air dans les cellules. Le produit d'imprégnation est introduit par aspiration. La force de la pression atmosphérique, permet d'introduire le produit de traitement dans les cellules du bois. Les éprouvettes du bois, sont laissées dans la solution d'imprégnation pendant 3 heures. L'excès du liquide est éliminé par égouttage.

III.5.3. Produits de préservation : (Sels d'ammonium quaternaire)

Ces composés sont couramment désignés par l'abréviation Anglo-saxonne : AACs (Alkyl Ammonium Compound), nous la conservons afin d'alléger le texte.

Les sels d'ammonium quaternaire utilisés en préservation du bois sont des composés comportant une chaîne grasse, d'au moins huit atomes de carbone, et trois autres groupements alkyles variables selon les sels.

Ils sont obtenus par substitution de radicaux alkyles ou aryles sur une molécule d'ammoniac.

Ces composés sont généralement incolores, faciles à dissoudre dans bon nombre de solvants (en particulier dans l'eau) et présentant un large spectre biocide.

III.5.3.1. Préservation du bois par les AACs

En raison des problèmes posés par les produits de préservation tel que le pentachlorophenol, d'autres molécules de synthèse ont été mises à jour. Parmi, ces dernières les sels d'ammonium quaternaire.

Les premiers essais des sels d'alkylammonium sur les champignons lignivores ont été réalisés en Allemagne par Oertel 1965.

En Angleterre, Richardson, 1972, a étudié leurs possibilités d'utilisation pour préserver les bois frais contre le bleuissement.

Durant les années 70, un grand intérêt s'est manifesté pour l'utilisation des sels d'ammonium dans les différents domaines de la préservation du bois. Actif contre *Poria placentata* et *Gloeophyllum trabeum* dans le pin, le bromure de céthyl triméthylammonium (CTAB) ont confirmé leur intérêt dans le domaine de la préservation du bois.

Un des avantages de ce groupe de molécules est qu'elles se fixent très rapidement dans le bois. 1984, Vinden a démontré qu'il existe dans le bois un nombre défini de sites disponibles pour la fixation du chlorure de benzalkonium.

Les composés Ammonium quaternaire sont fixés dans le bois, en particulier par un mécanisme d'échange d'ions. L'affinité des AACs pour une espèce donnée de bois dépend de sa teneur en lignine, hémicelluloses et cellulose.

L'affinité pour la lignine augmente lorsque le pH de la solution de traitement augmente. Preston et al. en 1991, ont montré que le pH de la solution influence la fixation de chlorure de didécyl diméthylammonium (DDAC) et se fixe mieux sur la lignine que sur la cellulose (figures 9 et 10).

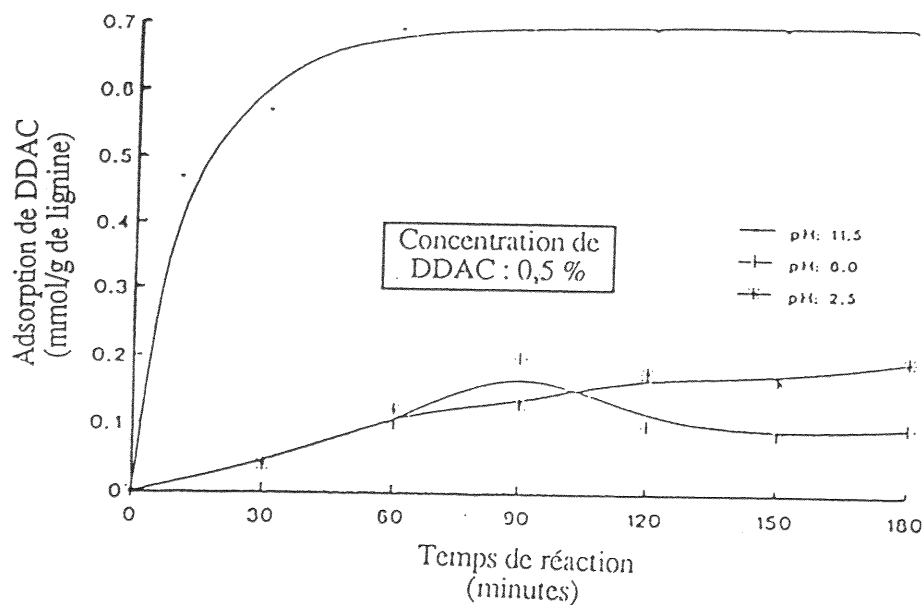


Figure 9 : L'adsorption de chlorure de didécyl diméthyl ammonium (DDAC) sur la lignine à différents pH. (Preston et al.1991)

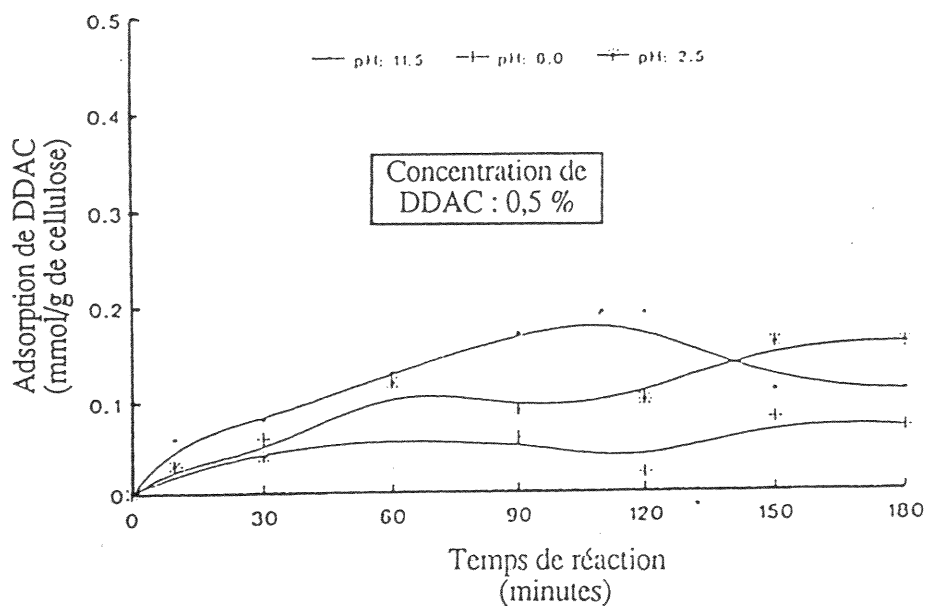


Figure 10 : L'adsorption de chlorure de didécyl diméthyl ammonium (DDAC) sur la cellulose à différents pH. (Preston et al.1991)

Loubinoux et al. en 1992 ont montré que, la fixation de bromure de benzyl dodécyl diméthyl ammonium dépend du pH de la solution. Les résultats obtenus montrent clairement que, le milieu acide défavorise la fixation du sel alors que le milieu basique la favorise (tableau 6).

Tableau 6 : Influence du pH de la solution de traitement sur la fixation du bromure de benzyl dodecyl diméthyl ammonium. (Malek 1991)

pH de la solution	Concentration de la solution à l'équilibre	Quantité de sel fixé à l'équilibre	masse de sel fixé sur la sciure	Proportion de sel fixé	masse du bois après traitement
	(mmol/l)	(mmol/l)	(mg)	(%)	gramme
1	16,2	0,44	169	35	2,50
7	12,8	0,61	234	49	2,60
13	2,0	1,15	441	92	2,66

De même, la fixation des sels d'ammonium dépend de leur structure chimique. Les résultats du tableau 7, indiquent qu'effectivement les sels se fixent d'autant plus sur le bois que leur lipophilie est grande.

Tableau 7 : Fixation de bromure d'alkyl benzyl diméthyl ammonium sur la sciure de Hêtre. (Malek. 1991)

Longueur de la chaîne alkyle	Concentration initiale de la solution	quantité de sel fixé par 1 g de sciure		Proportion de sel fixé
	(mmol/l)	(mmol)	(mg)	(%)
C ₈	5	0,022	7,2	22
	25	0,074	57,2	35
	35	0,284	113,6	50
C ₁₀	10	0,051	18,4	26
	20	0,139	49,8	35
	30	0,240	85,6	40
	40	0,359	128,2	45
C ₁₂	5	0,066	25,6	67
	15	0,158	60,8	53
	25	0,243	93,6	49
	35	0,341	131,2	49

Le bois une fois traité ne change pas de couleur. La manipulation des bois fraîchement traités nécessite le port des gants pour se protéger d'une possible irritation, cependant le bois traité une fois sec peut être manipulé à main nue.

Le traitement des bois avec les AACs n'empêche en aucun cas l'application et la tenue des peintures.

III.5.3.2. Biodégradation des AACs

Alors que les essais au laboratoire sont très positifs, les essais au champ montrent une diminution de l'efficacité des AACs (Ruddick 1981 et 1983).

Ruddick a conclu que la baisse des performances des AACs dans les tests au champ ne peut être expliquée par la lessivabilité, mais par une possible dégradation des AACs par les champignons de coloration du bois. En 1984, il a étudié la résistance du bois traité avec du chlorure d'alkyl benzyl diméthylammonium, préalablement infesté par des champignons de coloration (*Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus* et *champignons imprafaits*) isolés à partir de poteaux traités avec les AACs. Il montre que l'infestation préalable des éprouvettes de bois par un mélange de souches de champignons de coloration entraîne des attaques du bois par les basidiomycètes lignivores (*Poria placenta*, *Gloeophyllum trabeum* et *Lentinus lepidus*) plus importantes et des seuils d'efficacité du produit plus élevés. Il en conclut que la baisse de performance des produits est due à une biodégradation de ces derniers.

En 1987, Ruddick étudie l'influence de la modification des AACs sur leurs performances au contact du sol. Il conclut que, les AACs non modifiés protègent faiblement le bois contre les champignons lignivores. Il envisage donc de modifier les AACs par addition de produits chimiques efficaces contre les champignons de coloration.

L'ammonium modifié le plus efficace de l'étude résulte de l'association chlorure d'alkyl benzyl diméthylammonium/oxyde de cuivre. Après 4 ans au contact du sol aucun champignon de coloration n'est présent sur le bois traité. et l'efficacité de l'AAC contre les champignons lignivores est maintenue.

Diverses recherches ont été effectuées pour améliorer l'efficacité au champ des sels d'alkylammonium en les combinant avec des sels de cuivre.

Les résultats obtenus par Butcher, Preston et Drysdal (1979), décrits dans le tableau 8, montrent que l'ajout de sels de cuivre à un sel d'ammonium est très bénéfique, particulièrement dans les essais au champ.

Il présente, cependant, divers inconvénients : il conduit à des solutions chimiquement instables et modifie la couleur du bois ; ce dernier, une fois traité, peut corroder les métaux placés à son contact.

Tableau 8: étude de la protection du bois obtenue en associant le sel d'ammonium et le sel de cuivre (Butcher, Preston et Drysdale 1979)

Bois	Traitement	Essais de champ			Cave à champignons		
		kg/m ³	Mois	% intact	kg/m ³	Mois	% intact
<i>Pinus radiata</i>	Chlorure de benzalkonium	10,60	30	80	14	3	82
	Chlorure de benzalkonium + sel de cuivre (4 : 1)	11,00	30	94	15	3	98
	Chlorure d'octyldécyl diméthylammonium	5,6	30	81	8	3	92
	Chlorure d'octyldécyl diméthylammonium + sel de cuivre (4 : 1)	5,6	30	97	7	3	98
<i>Betula alba</i>	Chlorure de benzalkonium	12,50	18	78	13	2	78
	Chlorure de benzalkonium + sel de cuivre (4 : 1)	11,20	18	86	13	2	90
	Chlorure d'octyldécyl diméthylammonium	5,80	18	74	7	2	94
	Chlorure d'octyldécyl diméthylammonium + sel de cuivre (2 : 1)	6,00	18	96	7	2	100
	Acétate de coco diméthylammonium	6,50	18	50	6	2	10
	Acétate de coco diméthylammonium + sel de cuivre (4 : 1)	6,10	18	84	-	-	-
Témoins	Non traités	0	18	60	0	2	45

III.5.3.3. Propriétés toxicologiques

Durant de nombreuses années les AACs ont été utilisés comme des bactéricides, désinfectants domestiques, adoucisseurs de linge.

Dans le domaine médical, les ammoniums quaternaire sont utilisés comme antiseptiques et désodorisants, en oto-rhino-laryngologie principalement (Centrimonium, par exemple).

Le bromure d'ammonium est utilisé comme somnifère ou comme médicament de l'épilepsie. (Grand Larousse médical.1984)

De nombreuses études ont été menées sur les propriétés toxicologiques des produits utilisés dans le domaine de la préservation du bois.

Tillott et Coggings en 1981, ont comparé la toxicité des divers produits utilisés pour préserver le bois, vis-à-vis des mammifères. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9 : Comparaison de toxicité des divers produits utilisés pour la préservation du bois. (Tillott et Coggings. 1981)

Produits	DL ₅₀ mg/Kg	Animal
Chlorure d'alkyl (C ₁₂) benzyl diméthylammonium	910	Rat
Chlorure d'alkyl (C ₁₄) benzyl diméthylammonium	660	Rat
Chlorure de dialkyl (C ₁₂ , C ₁₄) diméthylammonium	1100	Souris
Alkyl (C ₁₂ , C ₁₄) diméthylamine	1580	Rat
CuSO ₄ , 5H ₂ O	613	Souris
Bicarbonate de sodium (2H ₂ O)	166	Souris
Pentoxyde d'arsenic	31	Souris
Acide borique	2660	Rat
	1740	Souris
Fluorure de sodium	200	Rat
	80	Souris

III.5.3.4. Mécanisme d'action des AACs

L'activité bactéricide des AACs et en particulier, du chlorure d'alkyl diméthylammonium (C₁₂ à C₁₈) a été mentionné pour la première fois par Domagk en 1935.

En 1951 Salton, a conclu que l'effet bactéricide de bromure de cetyl triméthylammonium se manifeste par une désorganisation de la paroi cellulaire, et la libération des constituants cellulaires.

Isomaa (1984), indique que, les sels d'alkyl triméthylammonium agissent au niveau de la membrane cytoplasmique des Lymphocytes et les Erythrocytes du Rat par intercalation dans la structure de la couche lipidique.

L'intercalation des agents avec la membrane cellulaire, se fait en trois étapes distinctes (Figure 11).

1^{ère} étape : Intercalation des molécules amphiphiliques dans la couche lipidique des cellules.

Cette intercalation est gouvernée principalement par des interactions hydrophobiques.

2^{ème} étape : Désorganisation des chaînes hydrocarbonées de la couche lipidique. Ce qui peut affecter, les fonctions de la membrane telles que :

- La mobilité des récepteurs, l'activité enzymatique des membranes et la régulation de la forme des cellules.

3^{ème} étape : Effondrement de la structure de la couche cellulaire. Ce qui entraîne la mort des cellules. Si la concentration du surfactant est importante la membrane cellulaire peut être solubilisée.

La capacité des surfactants a lysé et a affecté le processus membranaire. Celle-ci est en relation avec la longueur de la chaîne alkyl. Les plus efficaces ont une chaîne alkyl longue (C_{16} , C_{18}).

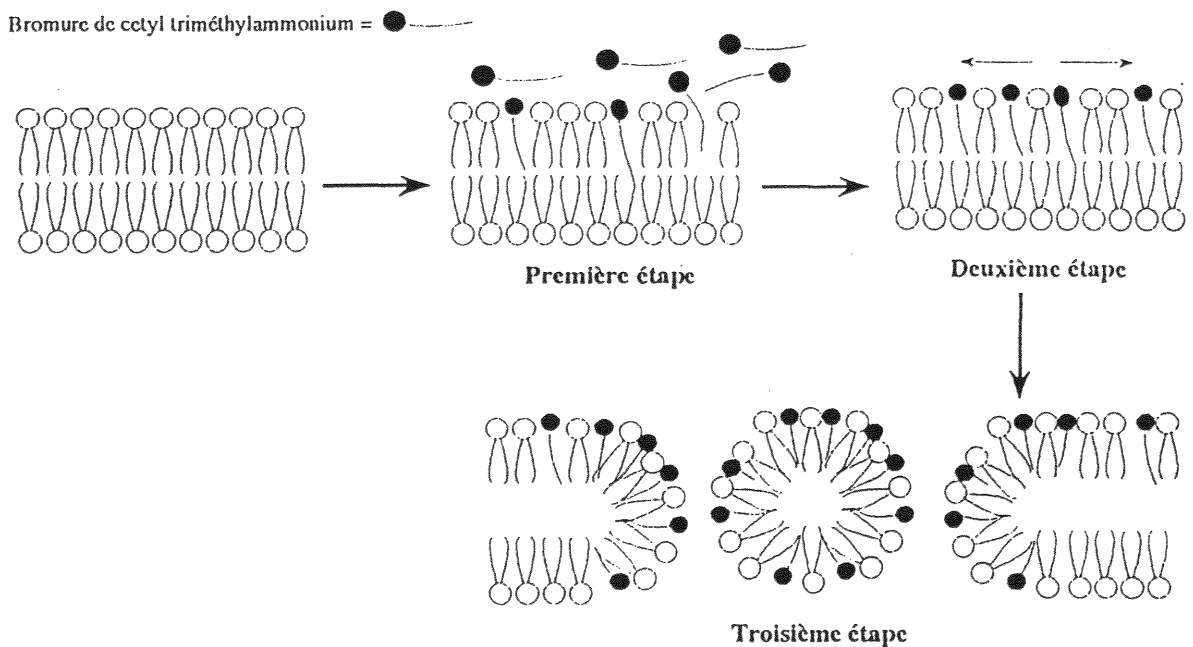


Figure 11 : Interaction des sels alkyl triméthylammonium avec la membrane cellulaire (Isomaa 1984)

Afin d'approfondir le mode d'action des pesticides, de nombreux travaux ont été effectués sur les organites cellulaires de végétaux (chloroplastes et mitochondries) et d'animaux (mitochondries). Steffann, 1987, a étudié le pouvoir inhibiteur du bromure benzyl dodécyl diméthylammonium sur les propriétés oxydatives et phosphorylantes des mitochondries isolées à partir d'un Basidiomycète *Agaricus bisporus*. Cette auteur, a conclu que l'ajout du sel d'ammonium provoque un gonflement de la mitochondrie. Par conséquent, la membrane interne devient perméable aux ions K^+ .

Selon Moreland 1978, le sel d'alkylammonium aurait deux effets : tout d'abord, il modifierait la fluidité membranaire puis perméabiliserait la membrane au passage des ions K^+ .

Hensley et Hanson 1975, ont conclu, qu'un pesticide ayant cet effet formerait des pores membranaires.

IV. Matériel biologique

IV.1. Essences ligneuses

A. Choix du matériau bois

Deux essences sont retenues :

- Le Pin (*Pinus sylvestris.L.*)
- Le Hêtre (*Fagus sylvatica.L.*)

Notre choix a été guidé par leur faible résistance aux agents de dégradation et leur utilisation en tant qu'essences de référence pour les essais de produits de préservation en Europe (Norme Européenne NE. 113, 1980).

A.1. Le Pin (*Pinus sylvestris.L.*)

Les essences provenant de montagne, à accroissements fins et réguliers donnent essentiellement des bois de menuiserie. Celles de plaine, à texture forte produisent des bois de mines, des poteaux, des bois de charpente et de menuiserie. Les provenances de plaine à texture et densité faibles sont utilisées en caisseries. Les petits bois sont utilisés pour la fabrication des panneaux de particules et des panneaux de fibres.

A.1. Le Hêtre (*Fagus sylvatica.L.*)

Les utilisations de cette essence sont nombreuses et variées, suivant la grosseur du tronc et la qualité du bois.

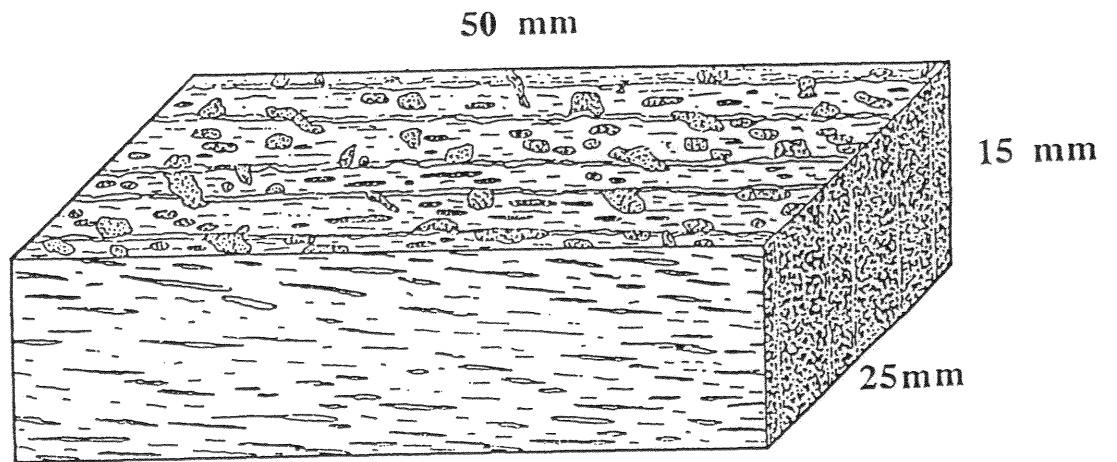
Les petits bois sont destinés à la papeterie, la distillation et le chauffage. Les bois moyens sont utilisés comme sciages pour l'ébénisterie, la parqueterie, l'emballage...etc

Les gros bois, de bonne qualité, donnent des placages pour contreplaqués. Ils peuvent être utilisés en ébénisterie, dans la fabrication d'instruments de musique...etc

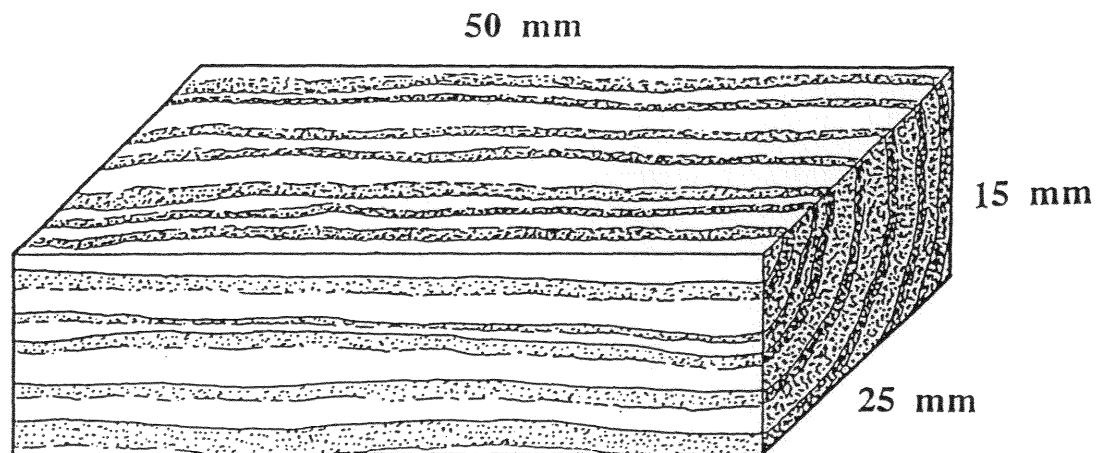
Les gros bois, impropres au déroulage ont les mêmes utilisations que les bois moyens et peuvent également servir à confectionner des traverses de chemin de fer.

B. Préparation des éprouvettes

Les éprouvettes de Pin et de Hêtre ont été préparées à l'Ecole Nationale supérieure de Technologies et Industries du Bois (ENSTIB) d'Epinal. Selon le protocole établi par la Norme Européenne EN.113. Leurs dimensions nominales à 12 % d'humidité sont 5 x 2,5 x 1,5 cm (Figure 12).



A. Eprouvette de Hêtre



B. Eprouvette de Pin sylvestre

Figure 12 : Préparation des éprouvettes du bois selon la Norme EN113

IV.2. Champignons d'essais :

Les champignons utilisés au cours de nos expériences représentent deux agents de pourritures : fibreuse (ou blanche) et cubique (ou brune).

- Agents de pourriture fibreuse : (Basidiomycètes)
 - *Phanerochaete chrysosporium*
 - *Coriolus versicolor*
- Agents de pourriture cubique : (Basidiomycètes)
 - *Poria placenta*
 - *Gloeophyllum trabeum*
 - *Coniophora puteana*

Ces cinq souches sont utilisées pour étudier l'efficacité des produits, en Boîte de Pétri. Pour les essais sur bois, nous avons choisi d'utiliser deux souches : *Coriolus versicolor* et *Poria placenta*.

A/ *Coriolus versicolor* (L.ex.fr.) Quel.

Synonymes : *Polyporus versicolor* (L.ex.fr.)

Polystictus versicolor (L.ex.fr.)

Trametes versicolor (L.ex.fr.)

Souche : CTB. 836.A.

Ce germe est cosmopolite et très commun dans les pays tempérés. On le rencontre presque toujours sur les feuillus. Il se développe à une température de 25°C et à des pH situés entre 4,5 et 5,5. Ce champignon de plein air nécessite une forte humidité pour se développer, on le rencontre sur les bois de feuillus mis en oeuvre dans des lieux humides ou en contact avec le sol.

B/ *Poria placenta* (Fries)

Synonyme : *Poria monticola* (Murill.)

Souche : FPRL. 280.

Cette souche attaque toutes les essences résineuses. Elles se rencontre principalement sur les poteaux.

Sur des éprouvettes d'aubier de Pin sylvestre, elle provoque une perte de masse minimale de 20 % en 16 semaines d'exposition.

PARTIE II

***ESSAIS BIOLOGIQUES ET
IMPREGNATIONS DU BOIS***

V. Matériel et méthodes

Introduction

Les sels d'ammonium que nous avons étudiés sont solubles dans l'eau. Après imprégnation du bois par ces produits et évaporation du solvant, il reste une certaine quantité de sel au sein du bois. Si le bois est soumis à un lessivage abondant, une quantité importante du produit est lessivée.

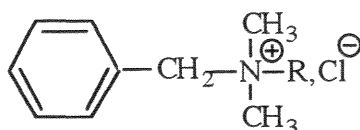
Notre étude s'intéresse particulièrement à ce point, et la solution que nous avons proposée pour minimiser la proportion de produit lessivable consiste à rendre ces produits insolubles dans l'eau par modification de leur structure chimique. L'intérêt de cette démarche serait, en particulier, d'accroître la rétention du produit et donc la durée de la protection.

Cette modification de structure est réalisée soit au sein du bois après imprégnation selon une méthode déjà utilisée au laboratoire, soit avant traitement du bois, de façon plus classique. Dans ce dernier cas, il a été nécessaire de préparer des microémulsions de produits pour pouvoir traiter le bois.

Nous avons, en parallèle, étudié l'activité biologique de ces produits une fois leur structure modifiée.

V.1. Présentations des sels d'ammonium

Nous n'avons pas effectué nous même la synthèse des sels d'ammonium quaternaire. Ces produits commerciaux sont préparés et distribués par notre partenaire industriel la société STEPAN Europe de VOREPPE (France).

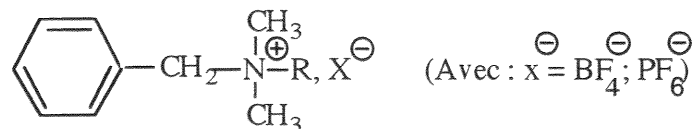


Chlorure de benzalkonium

Nous avons travaillé avec différents mélanges de produits à chaîne alkyle (R) plus ou moins longue tous préparés à partir de deux produits de base décrits dans le tableau ci-dessous.

Nom	Formule	R
T80 M = 359,6 g/mole	$\text{C}_6\text{H}_5\text{---CH}_2\text{---N}^+(\text{CH}_3)_2\text{---R, Cl}^-$	$\text{C}_8 + \text{C}_9 : < 10 \%$ $\text{C}_{12} : 50 \%$ $\text{C}_{14} : 19 \%$ $\text{C}_{16} : 9 \%$ $\text{C}_{18} : 3 \%$
B80 M = 315 g/mole	$\text{C}_6\text{H}_5\text{---CH}_2\text{---N}^+(\text{CH}_3)_2\text{---R, Cl}^-$	$\text{C}_{12} : 40 \%$ $\text{C}_{14} : 50 \%$ $\text{C}_{16} : 10 \%$

V.2. Préparations des sels de formule générale : BF(14 ; 15 ; 16 et 17)



Ces modifications de structures que nous avons réalisées impliquent des réactions peu coûteuses et facile à mettre en oeuvre.

Deux séries de réactions différentes consistant à remplacer le chlorure du sel d'ammonium par l'anion BF_4 ou PF_6 réactif, ont été effectuées :

- La première série de réactions utilise le réactif NaBF_4 et conduit à la formation des produits BF_{14} et BF_{16} .
- La seconde série utilise le réactif KPF_6 et permet d'obtenir les produits BF_{15} et BF_{17} .

Pour la suite nous garderons cette appellation pour alléger notre texte. Le tableau 9 regroupe les sels d'ammonium de départ, les réactifs utilisés pour effectuer les modifications et les produits obtenus :

Tableau 9 : Modification des sels d'ammonium par les différents réactifs et les produits obtenus

Sels d'ammonium utilisés	Réactifs	Produits obtenus
B₈₀	NaBF₄	B₈₀ ; BF₄ = BF14
B₈₀	KPF₆	B₈₀ ; PF₆ = BF15
T₈₀	NaBF₄	T₈₀ ; BF₄ = BF16
T₈₀	KPF₆	T₈₀ ; PF₆ = BF17

112 g de B₈₀ (0,25 moles) à 80 % de matière active sont solubilisés dans 500 ml d'eau distillée. Deux équivalents molaires de Na BF₄ (soit 54,9 g) sont solubilisés dans 250 ml d'eau distillée. Les deux solutions sont mélangées et maintenues sous agitation à la température ambiante. La réaction est instantanée, et forme un précipité blanc. Celui-ci est essoré, lavé avec de l'eau distillée et séchée au dessiccateur une nuit en présence de MgSO₄.

- **BF14** (B_{80} ; BF_4): Tetrafluoroborate d'alkyl benzyl diméthylammonium

- * $M = 410,9$ g/mole
- * Poudre blanche
- * $F = 64^\circ C$
- * Rendement = 95 %.

- **BF15** (B_{80} ; PF_6): Hexfluorophosphate d'alkyl benzyl diméthylammonium

- * $M = 469,2$ g/mole
- * Poudre blanche
- * $F = 62^\circ C$
- * Rendement = 90 %.

- **BF16** (T_{80} ; BF_4): Tetrafluoroborate d'alkyl benzyl diméthylammonium

- * $M = 366,4$ g/mole
- * Poudre blanche
- * $F = 63^\circ C$
- * Rendement = 95 %.

- **BF17** (T_{80} ; PF_6): Hexfluorophosphate d'alkyl benzyl diméthylammonium

- * $M = 424,5$ g/mole
- * Poudre blanche
- * $F = 62^\circ C$
- * Rendement = 92 %.

Nous nous sommes intéressés à la détermination du seuil d'efficacité vis-à-vis des pourritures du bois. D'une part sur un milieu de culture traditionnel et d'autre part sur le bois lui-même. En effet, les essais en boîte de Pétri n'ont pour prétention que de déterminer rapidement si une molécule présente ou non une efficacité biocide. Mais, ils ne permettent pas de préjuger de l'activité d'un produit lorsque celui-ci sera appliqué au bois.

La toxicité d'un produit au sein du bois est gouvernée par plusieurs paramètres : concentration de la solution d'imprégnation, rétention, distribution et l'utilisation du solvant porteur.

La mise en évidence de la modification chimique des sels d'ammonium au sein du bois est réalisée en utilisant la technique de la Microscopie Electronique. L'effet de l'anion sur l'activité biologique des sels d'ammonium est aussi étudié.

V.3. Essais biologiques

V.3.1. Essais mycologiques en Boîte de Pétri

Pour déterminer l'activité fongicide des produits chimiques, plusieurs techniques, ont été mises au point par différents auteurs.

Parmi ces dernières, on peut citer, les tests sur l'inhibition de la germination des spores, la croissance, ou la respiration des champignons.

La technique la plus utilisée est l'effet d'un produit sur la croissance des microorganismes. Elle consiste, à incorporer les substances, sous forme de solutions, à un milieu de culture encore fluide, et par inoculation de ce dernier par le microorganisme choisi. La croissance du champignon est suivie en fonction du temps. Ceci permet de déterminer l'effet toxique des produits chimiques à un temps donné.

Nous avons utilisé la formule ci-dessous, pour déterminer le taux d'inhibition T en (%) pour chaque concentration du produit.

$$T (\%) = 100 \left(1 - \frac{\text{Surface envahie par le champignon pour une concentration donnée}}{\text{Surface envahie par le champignon, dans les boîtes témoins}} \right)$$

Dans nos expériences, nous testons l'activité fongicide de deux types de produits :

- Produits solubles dans l'eau. Dans ce cas l'incorporation au milieu de culture est facile.
- Produits insolubles dans l'eau. L'incorporation de ces derniers dans le milieu de culture se fait par solubilisation préalable dans une petite quantité d'acétone.

a/ Les produits solubles : (B_{80} et T_{80})

A partir d'une solution mère à 1 gramme de sel par litre d'eau distillée, nous avons préparé une série de Boîte de Pétri à des concentrations croissantes (0, 25, 50, 100, 150 et 250 ppm).

b/ Les produits insolubles : BF (14 ; 15 ; 16 et 17)

Ces produits se présentent sous forme de poudre blanche, insolubles dans l'eau, sont préalablement solubilisés dans l'acétone (0,1 ml) et rapidement introduits dans le milieu porté à 70°C.

La préparation est soigneusement agitée jusqu'à complet refroidissement afin de réaliser une suspension homogène des produits dans le milieu de culture. Lors du coulage, les boîtes sont laissées entrouvertes (sous la hotte, et autour du bec) quelques instants, pour laisser évaporer d'éventuelles traces d'acétone.

Ainsi, nous avons préparé des boîtes de Pétri à des concentrations croissantes (0, 25, 50, 100, 150 et 250 ppm de matière active).

Des milieux de culture avec et sans acétone sont préparés pour vérifier d'éventuelles interactions ou inhibitions de cette dernière.

Les boîtes sont inoculées avec le champignon d'essai et l'activité inhibitrice des produits est évaluée en mesurant quotidiennement par planimètre l'évolution de la croissance du mycélium jusqu'au moment où les boîtes témoins sont complètement envahies par le champignon. Le taux d'inhibition T en (%) est calculé en appliquant la formule citée précédemment.

V.3.2. Essais sur bois

La technique en boîte de Pétri évoquée précédemment permet d'étudier l'activité intrinsèque des produits, mais elle n'est pas directement transposable au bois. Il est indispensable de travailler sur du bois pour déterminer l'efficacité réelle des produits étudiés.

La méthode d'essai que nous avons utilisée fait l'objet de la Norme Européenne EN.113. Elle consiste à confronter les champignons et les éprouvettes traitées (de masse initiale connue) dans des conditions contrôlées de température et d'humidité. Après incubation, on détermine la masse finale des éprouvettes à l'état anhydre et on calcule l'éventuelle perte de masse.

L'efficacité des produits est donc mesurée par les variations de perte de masse que les champignons occasionnent à des éprouvettes de bois traitées avec des solutions de concentrations croissantes de sels d'ammonium non modifiés et modifiés, pendant un temps d'exposition de 16 semaines.

A/ Traitement des éprouvettes de bois.

Les éprouvettes de bois sont séchées à l'étuve à la température de 80°C. La masse anhydre initiale (m_0) est relevée. Elles sont ensuite placées dans une cloche à vide, munie d'un robinet à deux voies.

Les éprouvettes sont recouvertes de baguettes de verre, les empêchant de flotter lors de l'introduction du produit, une pression réduite de 28 mbar est maintenue à l'intérieur de la cloche, pendant 30 minutes. Après ce temps, la connexion avec la pompe est fermée et le produit est introduit par aspiration. Après retour à la pression atmosphérique, l'ensemble est laissé au repos pendant 3 heures. Les éprouvettes sont ensuite placées sur une grille, de façon à s'égoutter à l'air libre puis sont séchées à l'étuve pendant 48 heures à 80°C.

A.1/ Imprégnation des éprouvettes avec les sels d'ammonium non modifiés

Ces produits sont solubles dans l'eau, les éprouvettes sont imprégnées avec des solutions à concentrations croissantes de (0 - 0,12 - 0,25 - 0,5 et 1 % en masse).

A.2/ Imprégnation des éprouvettes avec les sels d'ammonium modifiés

La modification de la structure chimique des sels est effectuée soit au sein du bois, par une imprégnation en deux temps, soit avant traitement du bois. Dans ce dernier cas, il est nécessaire de préparer des émulsions ou des microémulsions dans l'eau des produits pour pouvoir les introduire dans le bois.

- La modification au sein du bois, implique les deux traitements successifs suivant :

⊙ Premier traitement avec des solutions à concentrations croissantes (0 - 0,12 - 0,25 - 0,5 - 1 et 3,5 % en masse) de B_{80} ou de T_{80} dans l'eau,

⊙ séchage,

⊙ second traitement par des solutions à 1équivalent molaire de $NaBF_4$ ou KPF_6 .

- Les microémulsions sont préparées en mélangeant le sel d'ammonium modifié, l'alcool hexylique, la cyclohexanone et un tensioactif nommé Tox.X.7356.B dans des proportions qui varient en fonction du sel utilisé, les formulations sont regroupées dans le tableau 10.

Les éprouvettes de bois sont traitées avec une solution de microémulsion à 4 % de matière active (qui correspond à 3,5 % en masse de sel de départ B_{80} ou T_{80}). Cette concentration est fixée, car les solutions de microémulsions ne sont pas diluables à l'infini. A des concentrations inférieures à 4 % elles sont instables et le produit précipite.

Tableau 10 : Formulations des microémulsions des sels modifiés (à 25 % de produit brut)

	<u>E/C BF₁₄</u>	<u>E/C BF₁₅</u>	<u>E/C BF₁₆</u>	<u>E/C BF₁₇</u>
	BF₁₄ (25 %)	BF₁₅ (25 %)	BF₁₆ (25 %)	BF₁₇ (25 %)
Alcool Hexylique	18 %	16 %	30 %	22,6 %
Cyclohexanone	27 %	29 %	15 %	22,4 %
Tox X 7356 B	30 %	30 %	30 %	30 %

BF₁₄: correspond à **B₈₀, BF₄** {M = 410,9 g/mole}

BF₁₅: correspond à **B₈₀, PF₆** {M = 469,2 g/mole}

BF₁₆: correspond à **T₈₀, BF₄** {M = 366,4 g/mole}

BF₁₇: correspond à **T₈₀, PF₆** {M = 424,5 g/mole}

Pour vérifier la toxicité des solvants qui composent les microémulsions des éprouvettes de Pin sylvestre sont traitées avec une solution contenant 4,8 g d'alcool hexylique, 2,4 g de cyclohexanone et 4,8 g de tensioactif Tox.x.7356.B dans 100 g d'eau distillée.

Nous avons tenus compte de ces concentrations pour imprégner les éprouvettes de bois en deux applications successives. Ce qui nous permettra de comparer l'efficacité des produits

introduits d'une part, par le biais des microémulsions et des produits formés au sein du bois, d'autre part.

A.3/ lessivage des éprouvettes traitées

Les éprouvettes imprégnées sont lavées à l'eau distillée pour déterminer la quantité de produit fixé sur le bois et résistant au lessivage.

Nous avons utilisé la technique de macération des éprouvettes décrite dans la Norme Française NF x 41-565, qui consiste à faire subir aux éprouvettes traitées quatre séries de délavage dans des flacons contenant de l'eau distillée en quantité égale à cinq fois le volume des éprouvettes, cela sous agitation.

A.4/ Détermination de la quantité de produit retenu

Nous déterminons la quantité de produit retenu sur les éprouvettes traitées, lessivées et séchées, en appliquant la formule suivante :

$$\text{Produit retenu en gramme} = M_f - M_0$$

où :

- M_0 : masse anhydre initiale
- M_f : masse anhydre finale.

B/ Exposition aux champignons.

Ces éprouvettes sont réparties en trois lots distincts:

Lot e₁ (éprouvettes traitées): Ce sont les éprouvettes imprégnées et soumises à l'attaque des champignons. Dans nos essais elles sont au nombre de quatre par concentration et par flacon.

Lot e₂ (éprouvettes témoins): Ce sont les éprouvettes non traitées et traitées avec les solvants utilisés pour préparer les microémulsions. En nombre égal à celui des, éprouvettes **e₁**, elles sont placées en flacons de culture.

Lot e₃: Ce sont des éprouvettes non traitées et traitées, placées dans des flacons de culture nonensemencés à raison de quatre par flacon. Elles servent au calcul d'un facteur de correction (**C**) des variations de masse des éprouvettes traitées ou non, sous l'influence de facteurs non liés à l'action lignivore des champignons d'essais.

Le calcul de la perte de masse non corrigée (**PMNC**) est donnée par la formule suivante:

$$\text{PMNC} = (m_1 - m_2) / m_1 \times 100$$

Où:

m₁: Masse initiale avant exposition au champignon.

m₂: Masse finale après exposition au champignon.

Cette perte de masse est corrigée par un facteur de correction (C) défini par la formule:

$$C = (m'_1 - m'_2) / m'_1 \times 100$$

Où:

m'₁: Masse initiale.

m'₂: Masse finale.

La perte de masse corrigée (**PMC**) est égale à:

$$\text{PMC} = \text{PMNC} - C$$

Les éprouvettes traitées et lessivées ont été séchées et avant l'essai biologique proprement dit, stérilisées à la vapeur d'eau pendant 15 minutes à 120°C.

La durée d'exposition fixée par la norme EN.113 est de 16 semaines. Le seuil d'efficacité d'un produit est compris entre deux valeurs limites de teneurs correspondant : (appelé aussi limite de toxicité)

- L'une à la concentration la moins élevée protégeant le bois,
- l'autre à la concentration immédiatement inférieure dans la série employée, pour laquelle le bois commence à ne plus être suffisamment protégé.

La protection apportée au bois par le produit, à une concentration donnée, est considérée comme suffisante si les deux conditions suivantes sont remplies :

- La moyenne corrigée des pertes de masse des éprouvettes est inférieure à 3 %,
- une éprouvette, au maximum, a une perte de masse supérieure à 3 % mais inférieure à 5 %.

Tous les résultats obtenus sont regroupés et présentés sous forme de tableaux en annexe II tableaux de pertes de masse.

VI.1. Essais mycologiques en Boîte de Pétri

Les tableaux 11 et 12 regroupent les pourcentages d'inhibition pour les concentrations étudiées (0 - 25 - 50 - 100 - 150 - 250 et 500 ppm de matière active dans le milieu de culture). Ces essais nous permettent de déterminer la quantité de produit nécessaire pour inhiber totalement la croissance des champignons étudiés.

Tableau 11 : Pourcentages d'inhibition des champignons, essais en Boîtes de Pétri à 25, 50, 100, 150, 250 et 500 ppm de matière active de T₈₀ et ses dérivés.

[illegible]

Tableau 12 : Pourcentages d'inhibition des champignons, essais en Boîtes de Pétri à 25, 50, 100, 150, 250 et 500 ppm de matière active de B₈₀ et ses dérivés.

[illegible]

Afin de rendre plus claire ces résultats, nous les présentons ci-dessous sous la forme d'histogramme (Figures 13 à 20). Avant de discuter ces résultats, il convient de mentionner que ceux obtenus sur le milieu témoin (1 litre de milieu malt - agar additionné de 0,1 ml d'acétone) ne diffèrent pas de ceux obtenus sur un milieu conventionnel sans acétone.

a/ *Poria placenta* (Figures 13 et 14)

Sur milieu témoin, la boîte de Pétri est envahie complètement en 11 jours de culture.

Pour les sels d'ammonium non modifiés (T_{80} et B_{80}) nous observons un arrêt total du développement à partir de la concentration de 100 ppm.

D'après nos résultats, nous constatons qu'il n'y a aucune différence entre les deux produits non modifiés T_{80} et B_{80} , sur *Poria placenta*.

Pour les sels d'ammonium modifiés tous produits confondus, nous constatons que le seuil d'efficacité est de 150 ppm, à l'exception du produit B_{80},BF_4 où nous atteignons 100 % d'inhibition à une concentration de 100 ppm.

En se référant au tableau 11 et 12, nous remarquons que lorsque la concentration des produits dans le milieu de culture est multipliée par six, l'efficacité de T_{80} - T_{80},BF_4 - T_{80},PF_6 - B_{80} - B_{80},BF_4 et B_{80},PF_6 augmente respectivement de 6,4 - 42,9 - 29 - 8,7 - 25 et 35,1 % vis à vis de *Poria placenta*.

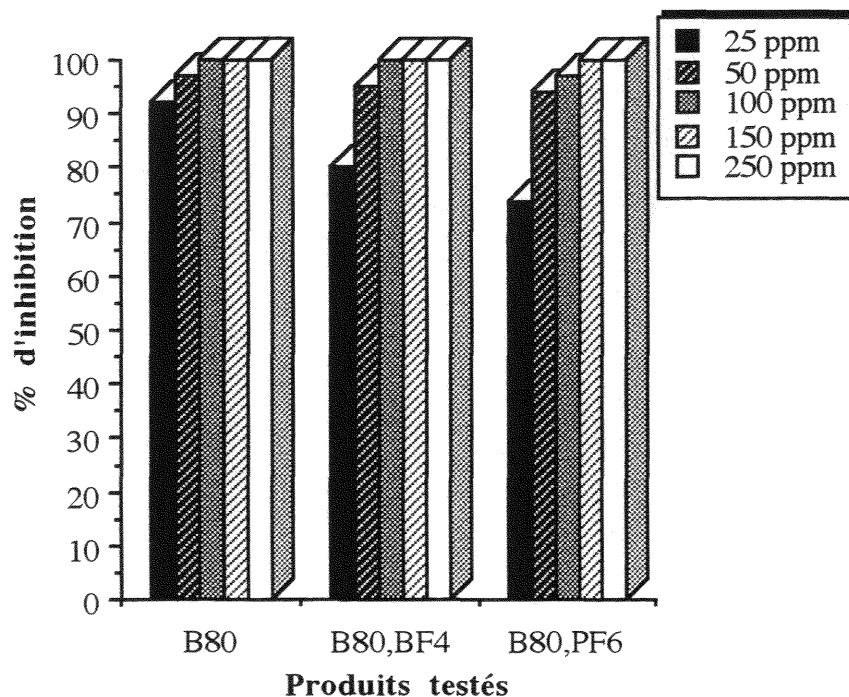


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition des chlorures d'alkyl benzyl diméthylammonium non modifiés et modifiés vis-à-vis de la croissance du *Poria placenta*.

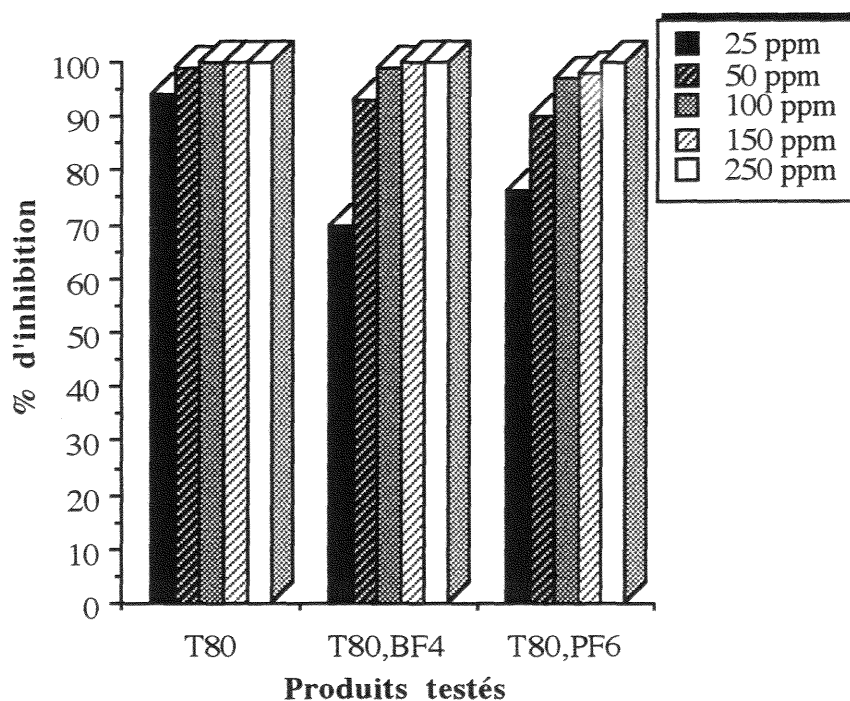


Figure 14 : Pourcentage d'inhibition des chlorures d'alkyl benzyl diméthylammonium non modifiés et modifiés vis-à-vis de la croissance du *Poria placenta*.

b/ *Coriolus versicolor* (Figures 15 et 16)

La totalité de la boîte de Pétri est envahie après 10 jours de culture sur milieu témoin.

Nous constatons que les deux sels d'ammonium non modifiés (T_{80} et B_{80}), ont une action similaire sur *Coriolus versicolor*.

L'inhibition totale de ce germe est obtenue avec une concentration de 100 ppm de matière active dans le milieu de culture.

Gadat (1986), a étudié l'action du PCP sur ce germe, avec des concentrations de 400 ppm et 500 ppm les taux d'inhibitions sont respectivement de 71,5 % et 77,7 %.

L'action inhibitrice des sels d'ammonium sur le *Coriolus versicolor* est supérieure à celle du PCP. En effet, l'inhibition de la croissance totale *Coriolus versicolor* est obtenue avec une concentration de 150 ppm pour tous les produits préparés, à l'exception des sels d'ammonium associés à l'anion PF_6 où la concentration nécessaire pour inhiber totalement la croissance de cette souche est de 250 ppm.

En comparant les résultats obtenus avec les sels d'ammonium non modifiés (T_{80} et B_{80}) sur *Poria placenta* et *Coriolus versicolor*, nous pouvons remarquer, pour des concentrations inférieures à 100 ppm, que *Coriolus versicolor* résiste plus que *Poria placenta*.

En se référant au tableau 12, nous constatons que l'action inhibitrice des sels d'ammonium modifiés dépend de l'anion associé à ces derniers. En effet, à une concentration massique de 25 ppm nous obtenons un taux d'inhibition de 94 % de *Coriolus versicolor* en utilisant le sel

d'ammonium B_{80} associé à l'anion BF_4 , alors que, pour le même sel B_{80} et à la même concentration massique associé à l'anion PF_6 , le taux d'inhibition est de l'ordre de 79 %. Ce résultat peut être expliqué par le nombre de moles des produits présents dans le milieu de culture.

Pour une même concentration massique de 25 ppm, nous avons en solution $6,1 \cdot 10^{-5}$ moles de B_{80}, BF_4 et seulement $5,3 \cdot 10^{-5}$ moles de B_{80}, PF_6 .

Plus la concentration des produits augmente dans les milieux de culture, et plus les écarts entre les taux d'inhibition se réduisent et deviennent identiques pour des concentrations élevées.

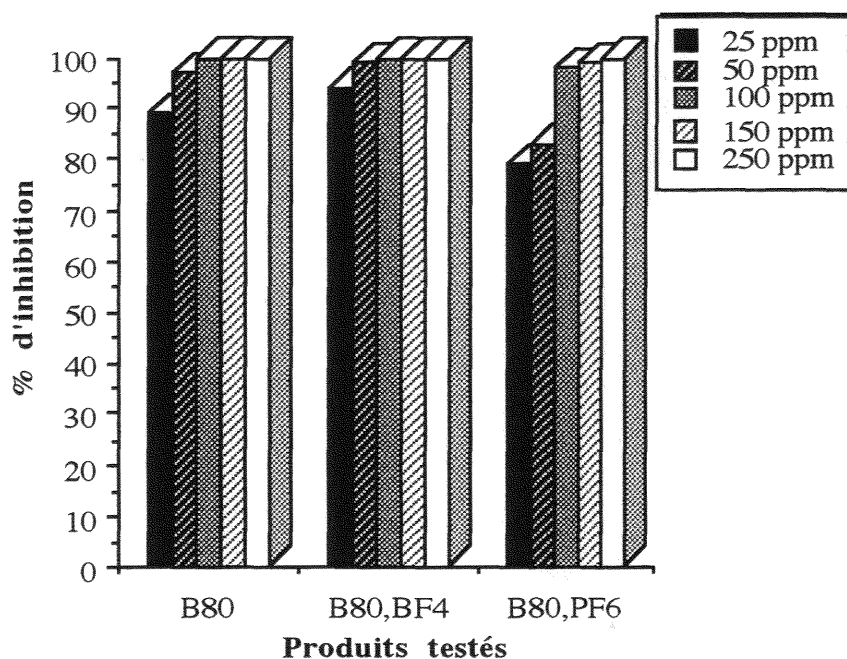


Figure 15 : Pourcentage d'inhibition des chlorures d'alkyl benzyl diméthylammonium non modifiés et modifiés vis-à-vis de la croissance du *Coriolus versicolor*.

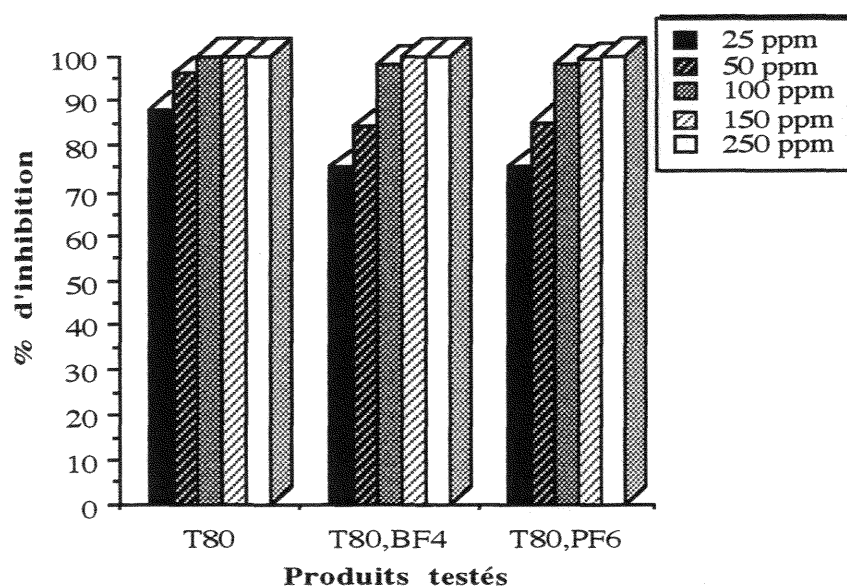


Figure 16 : Pourcentage d'inhibition des chlorures d'alkyl benzyl diméthylammonium non modifiés et modifiés vis-à-vis de la croissance du *Coriolus versicolor*.

c/ *Gloeophyllum trabeum* (Figures 17 et 18)

Sur le milieu témoin, cet agent de pourriture cubique colonise toute la surface de la boîte de Pétri en 11 jours.

Ce champignon est beaucoup plus sensible aux sels d'ammonium que les deux souches précédentes. En effet, des concentrations de 50 ppm suffisent pour réduire son taux de croissance de 95 à 99 %.

Aux concentrations de 100 ppm (0,01 %) nous constatons un arrêt total de la croissance du champignon.

Gadat (1983), a déterminé les doses d'inhibition totale de la croissance de ce basidiomycète par CuSO_4 et les formulations CCA. Elles sont respectivement de 0,04 % et 0,07 %.

En Boîte de Pétri l'efficacité des sels d'ammonium est donc quatre fois supérieures au CuSO_4 et sept fois supérieure au CCA sur ce champignon.

Par contre, les sels d'ammonium sont moins efficaces que PCP qui inhibe totalement la croissance de ce basidiomycète à une concentration de l'ordre de 30 ppm.

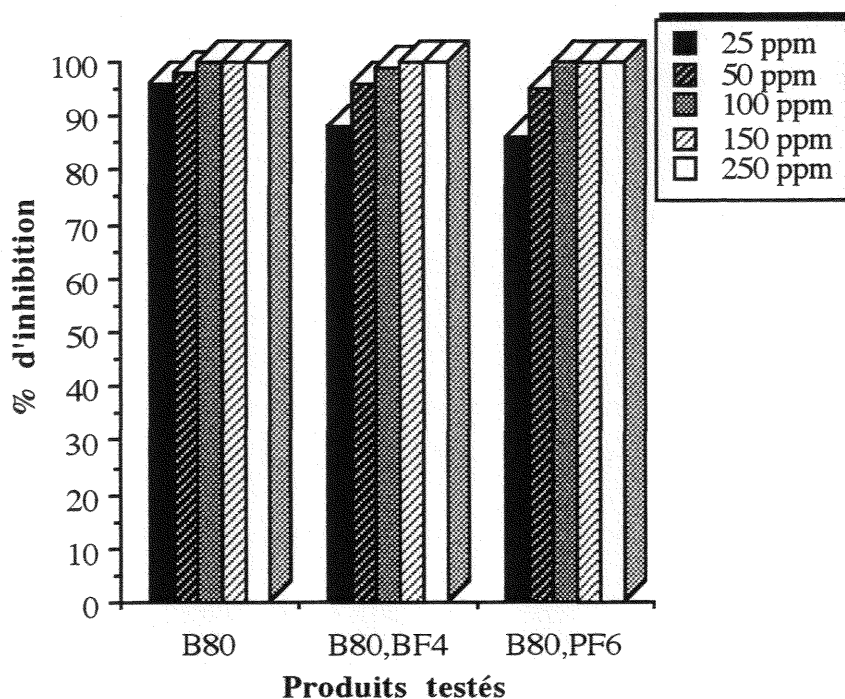


Figure 17 : Pourcentage d'inhibition des chlorures d'alkyl benzyl diméthylammonium non modifiés et modifiés vis-à-vis de la croissance du *Gloeophyllum trabeum*.

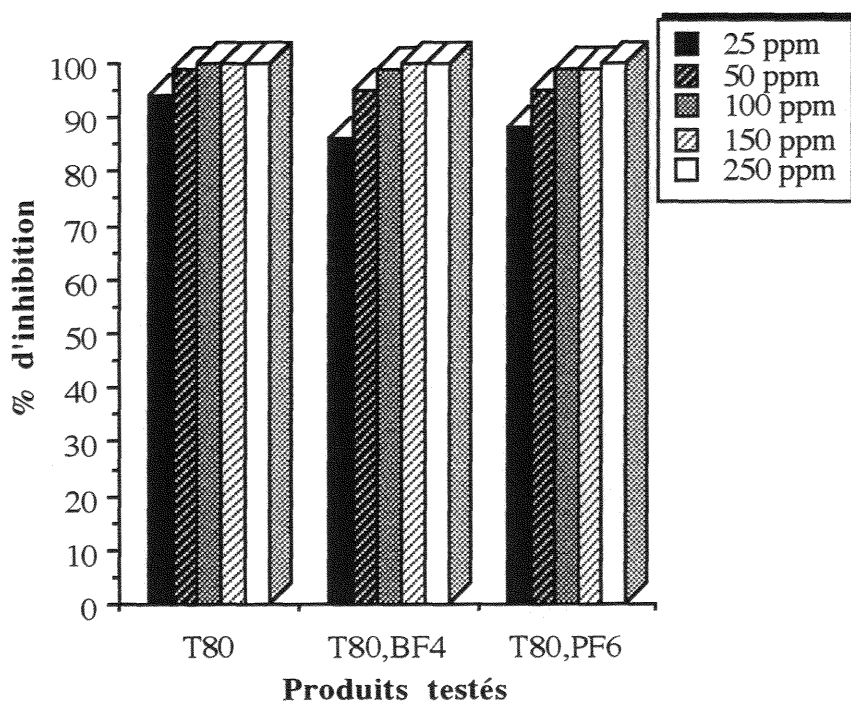


Figure 18 : Pourcentage d'inhibition des chlorures d'alkyl benzyl diméthylammonium non modifiés et modifiés vis-à-vis de la croissance du *Gloeophyllum trabeum*.

d/ *Phanerochaete chrysosporium* (Figures 19 et 20)

La souche a une croissance rapide. En effet, sur le milieu témoin la boîte est envahie complètement au bout de 2 jours de culture. Ce basidiomycète est le plus sensible aux sels d'ammonium, puisqu'à 50 ppm nous atteignons des taux d'inhibition de l'ordre de 98 à 100 %.

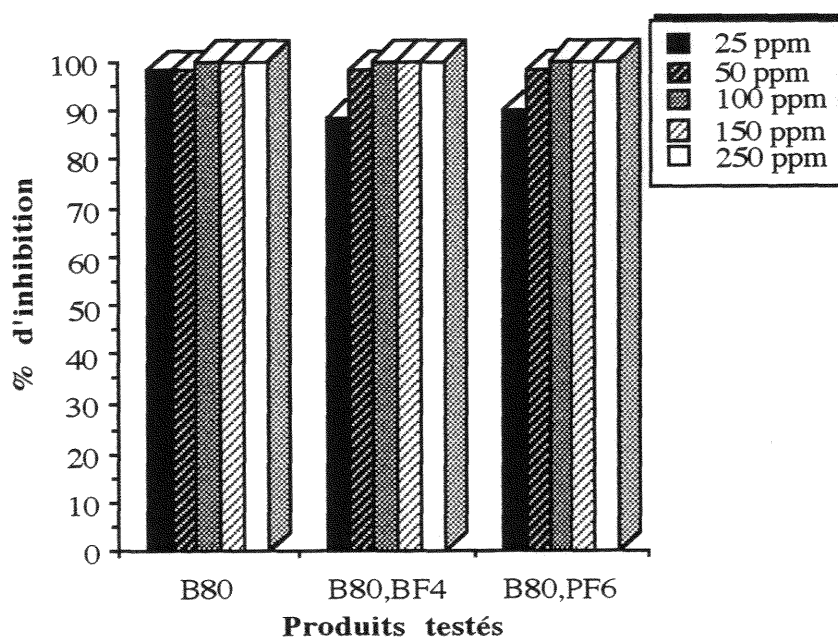


Figure 19 : Pourcentage d'inhibition des chlorures d'alkyl benzyl diméthylammonium non modifiés et modifiés vis-à-vis de la croissance du *Phanerochaete chrysosporium*.

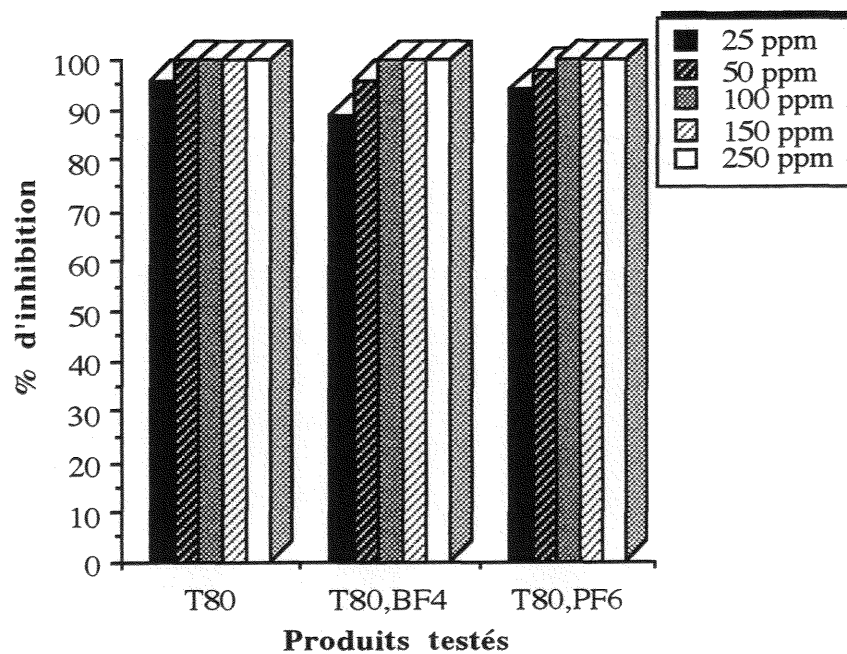


Figure 20 : Pourcentage d'inhibition des chlorures d'alkyl benzyl diméthylammonium non modifiés et modifiés vis-à-vis de la croissance du *Phanerochaete chrysosporium*.

Conclusion

Les sels d'ammonium non modifiés et modifiés, se montrent efficaces pour endiguer le développement des basidiomycètes testés sur milieu de culture.

Les concentrations massiques (en ppm) en fongicides permettant l'inhibition totale de la croissance des champignons sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Nous intégrons dans ce dernier les résultats de Gadat (1983 et 1986) avec le PCP, CuSO_4 et le CCA.

	<i>Poria placenta</i>	<i>Coriolus versicolor</i>	<i>Gloeophyllum trabeum</i>	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>
T₈₀	100	100	100	50
T₈₀, BF₄	150	150	150	100
T₈₀, PF₆	250	250	150	100
B₈₀	100	100	100	100
B₈₀, BF₄	100	100	150	100
B₈₀, PF₆	150	250	100	100
PCP	-	> 500 (*)	30	-
CuSO₄	-	600	400	-
CCA	-	1700	700	-

(*) : Le taux d'inhibition est de 77,7 % à cette concentration.

Si on compare globalement les sels d'ammonium modifiés et non modifiés, il est difficile de mettre en évidence une supériorité des uns par rapport aux autres. L'efficacité d'un produit dépend non seulement de sa quantité dans le milieu de culture mais aussi de l'anion qui lui est associé. Il aurait donc été souhaitable de comparer l'activité fongicide des produits pour des concentrations molaires identiques.

Les essais mycologiques en Boîte de Pétri ont mis en évidence une efficacité certaine de l'ensemble des produits testés.

Cependant ils ne permettent pas de préjuger de l'activité d'un produit lorsque celui-ci sera appliqué au bois, ni de connaître la teneur à laquelle il conférera la protection désirée.

VI.2. Essais sur bois

Pour les raisons évoquées précédemment, des essais de détermination de seuils d'efficacité fongicide des différents produits, appliqués dans le bois ont été entrepris.

Poria placenta et *Coriolus versicolor* ont été choisis, d'une part parcequ'elles présentent une bonne résistance aux produits testés en boîte de Pétri, d'autre part pour que soient représentées un agent de pourriture cubique et de pourriture fibreuse.

VI.2.1. Traitement des éprouvettes de bois

L'ensemble des données recueillies est fourni en annexe II (rétentions tableaux 1 à 14, perte de masse par éprouvettes et moyennes, humidités finales tableaux 1 à 12).

VI.2.1.1 Imprégnation des éprouvettes avec les sel d'ammonium non modifiés (T_{80} et B_{80}).

Des éprouvettes de Pin et de Hêtre sont imprégnées sous vide avec des concentrations croissantes (0 - 0,12 - 0,25 - 0,5 et 1 %) et lessivées selon la norme française NF. 41-565. Les masses de produits retenus après traitement avec des solutions de concentration 1 % puis lessivage des éprouvettes sont rassemblées dans le tableau 13 et 14.

Tableau 13 : Rétention des sels d'ammonium non modifiés (T_{80} et B_{80}) sur des éprouvettes de Pin sylvestre traitées avec une solution à 1 % avant et après lessivage.

Produits	Avant lessivage					Après lessivage			
	m_0	m_1	Quantité retenue en			m_2	Quantité retenue en		
	g	g	g	mmoles	%	g	g	mmoles	%
T_{80}	9,405 $\pm 0,26$	9,580 $\pm 0,26$	0,175 $\pm 0,01$	0,56 $\pm 0,02$	1,90 $\pm 0,10$	9,501 $\pm 0,27$	0,096 $\pm 0,006$	0,31 $\pm 0,014$	1,02 $\pm 0,03$
B_{80}	8,711 $\pm 0,58$	8,818 $\pm 0,57$	0,107 $\pm 0,01$	0,30 $\pm 0,02$	1,23 $\pm 0,15$	8,734 $\pm 0,57$	0,024 $\pm 0,01$	0,065 $\pm 0,038$	0,26 $\pm 0,18$

Tableau 14 : Rétention des sels d'ammonium non modifiés (T_{80} et B_{80}) sur des éprouvettes de Hêtre traitées avec une solution à 1 % avant et après lessivage.

Produits	Avant lessivage					Après lessivage			
	m_0	m_1	Quantité retenue en			m_2	Quantité retenue en		
	g	g	g	mmoles	%	g	g	mmoles	%
T_{80}	10,726 $\pm 0,35$	10,880 $\pm 0,36$	0,154 $\pm 0,01$	0,5 $\pm 0,04$	1,43 $\pm 0,10$	10,859 $\pm 0,33$	0,133 $\pm 0,01$	0,42 $\pm 0,02$	1,24 $\pm 0,09$
B_{80}	13,344 $\pm 0,58$	13,515 $\pm 0,57$	0,171 $\pm 0,00$	0,5 $\pm 0,02$	1,31 $\pm 0,12$	13,357 $\pm 0,56$	0,013 $\pm 0,02$	0,04 $\pm 0,05$	0,1 $\pm 0,15$

Nous avons, par ailleurs, tracé les courbes correspondant aux rétentions des sels d'ammonium exprimées en gramme en fonction des concentrations du bain de traitement (figures 21 à 33).

Les tableaux 13 et 14 montrent que, quelque soit l'essence considérée, le sel d'ammonium T_{80} est mieux retenu que B_{80} après lessivage.

Le lessivage a une forte incidence sur la quantité du sel d'ammonium T_{80} retenu par le Pin sylvestre. En effet, 45 % du produit total retenu est éliminé. Par contre, sur le hêtre le lessivage n'élimine que 14 % du produit retenu.

Quelque soit l'essence, le lessivage élimine à peu près 80 % du produit B_{80} contenu par le bois, ce sel résistant moins bien au lessivage que le T_{80} . Les figures 21 et 22 analysent un peu mieux le comportement du Pin sylvestre face aux deux sels.

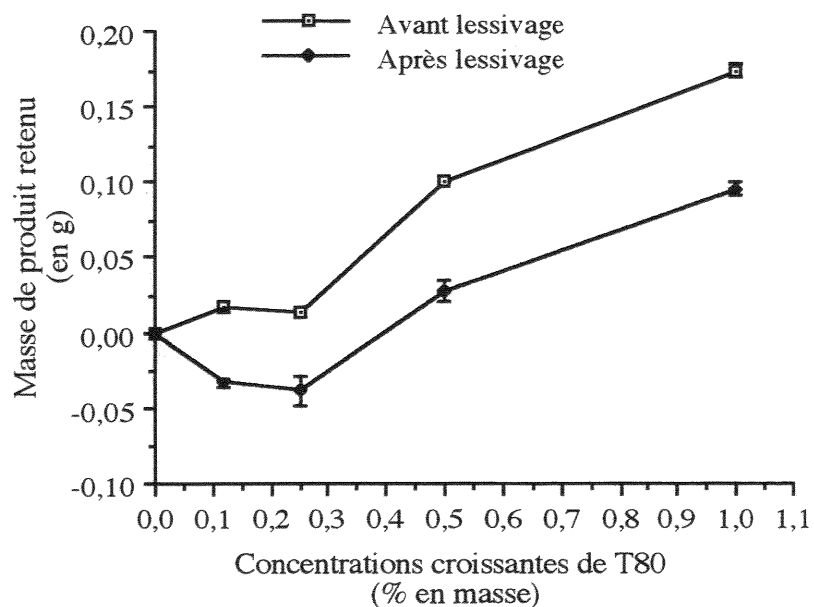


Figure 21 : Quantité moyenne de T_{80} retenu en gramme sur des éprouvettes de Pin sylvestre en fonction des différentes concentrations (% en masse)

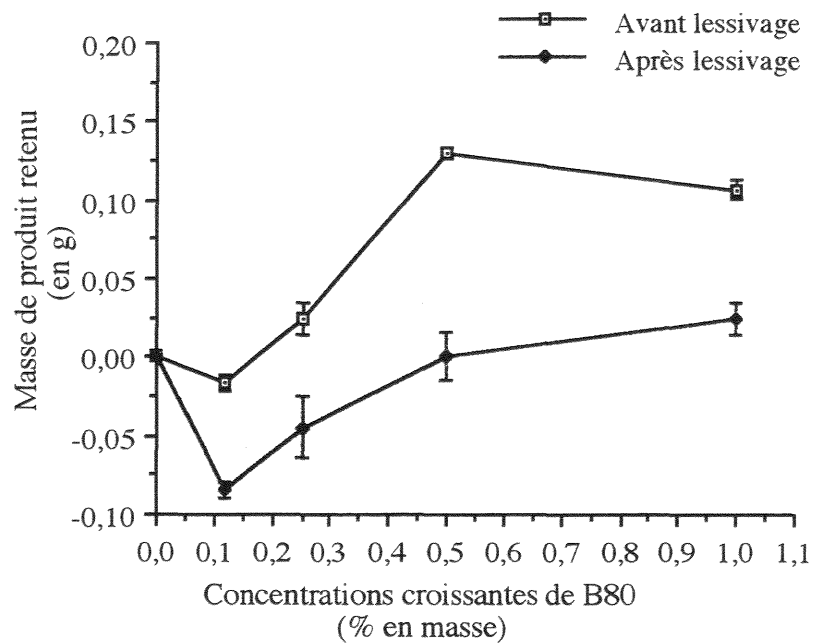


Figure 22 : Quantité moyenne de B_{80} retenu en gramme sur des éprouvettes de Pin sylvestre en fonction des différentes concentrations (% en masse)

La rétention de T_{80} par le bois augmente assez nettement avec la concentration des produits dans le bain de traitement, que ce soit avant ou après lavage.

Pour B_{80} , il y a aussi augmentation, celle-ci semble être moins nette et semble tendre vers une valeur limite (de l'ordre de 0,10 g avant lessivage).

Pour tenter de mieux comprendre l'effet du lessivage sur la quantité des deux sels d'ammonium (T_{80} et B_{80}) retenus par le bois, nous avons calculé le pourcentage des produits lessivés pour les concentrations utilisées. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Quantités des produits retenues après lessivage par le Pin sylvestre en fonction des différentes concentrations utilisées.

Concentrations en %	quantités retenues en (g) après lessivage	
	T_{80}	B_{80}
0,12	-0,034	-0,084
0,25	-0,038	-0,045
0,5	0,028	0,006
1	0,096	0,024

L'effet du lessivage est important pour les faibles concentrations, au fur et à mesure que la concentration des bains de traitement augmente, la quantité des produits lessivés diminue (Tableau 15).

Les figures 23 et 24 décrivent les quantités en gramme, des produits retenus cette fois par le Hêtre en fonction des concentrations des bains de traitement. Les courbes ont à peu près la même allure que celles du Pin.

Néanmoins, sur le Hêtre nous constatons que, pour des faibles concentrations 0,12 % de T_{80} et 0,25 à 0,5 % pour B_{80} , avant lessivage la perte de masse est assez importante par rapport à celle enregistrée sur le Pin.

Cette perte de masse peut être expliquée par la composition chimique du Hêtre. En effet, cette essence est plus riche en substances extractibles que le Pin sylvestre.

La quantité des produits dans les solutions de traitement à faible concentration est insuffisante pour compenser la quantité d'extractibles entraînés hors du bois. Lorsque la quantité des produits augmente et devient suffisante pour compenser la quantité des extractibles éliminés, nous enregistrons alors des gains de masse. Ce phénomène de perte de masse est mentionné par plusieurs auteurs (Malek, 1991 et Gadat, 1986).

Le lessivage a une influence sur la fixation de B_{80} . En effet, 92,4 % du produit est lessivé. Pour le T_{80} , le lessivage n'a pas d'incidence sur sa rétention, ce qui confirme les résultats obtenus sur le Pin.

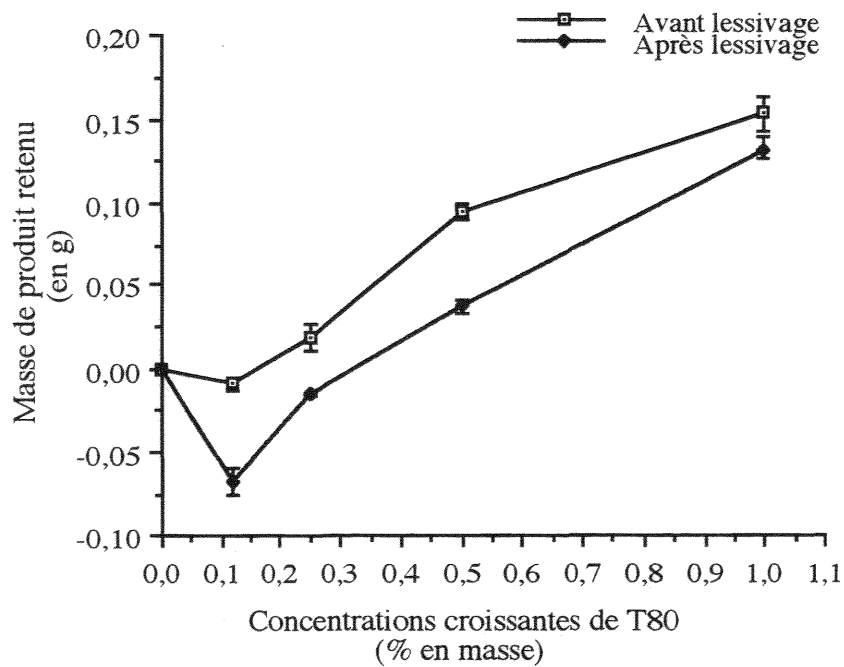


Figure 23 : Quantité moyenne de T_{80} retenu en gramme sur des éprouvettes de Hêtre en fonction des différentes concentrations (% en masse)

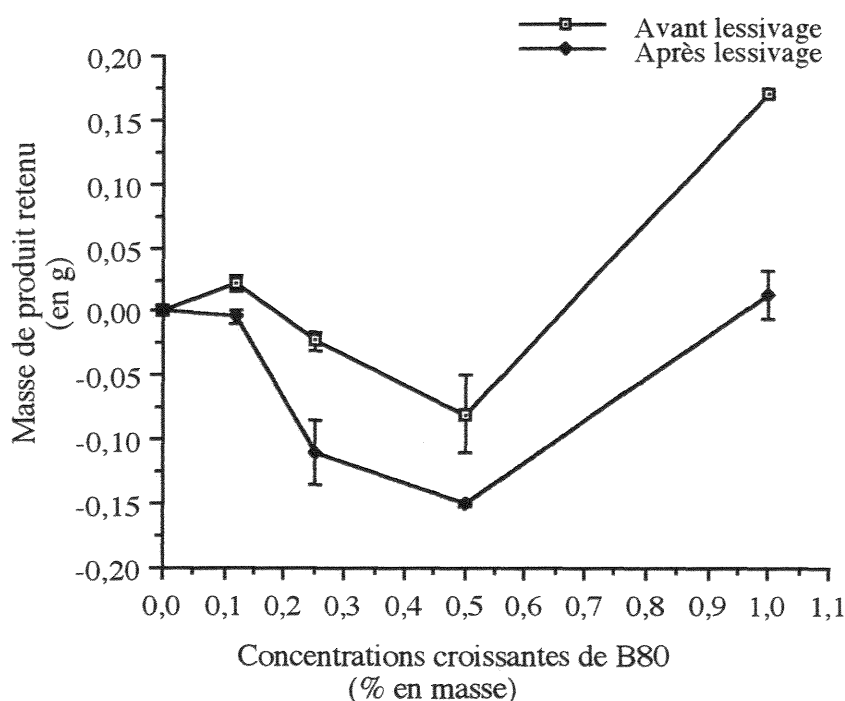


Figure 24 : Quantité moyenne de B_{80} retenu en gramme sur des éprouvettes de Hêtre en fonction des différentes concentrations (% en masse)

VI.2.1.2 Préparation des tétrafluoroborates et des hexafluorophosphates d'ammonium au sein du bois

Des éprouvettes du bois de Pin sylvestre et de Hêtre sont soumises à deux imprégnations successives. Pour ce qui est de la première, nous les avons traités avec des solutions aqueuses contenant différentes concentrations de chlorure d'ammonium. Après séchage, un deuxième traitement avec une solution aqueuse contenant un équivalent molaire de $NaBF_4$ ou KPF_6 relativement au sel d'ammonium est effectué, puis les éprouvettes sont séchées puis soumises au délavage. Les résultats obtenus sont présentés sous forme de courbes dans les figures 25 à 32.

Avant lessivage, les éprouvettes obtenues présentent en surface une fine couche blanchâtre probablement constituée de chlorure de sodium.

La modification de la structure chimique du sel d'ammonium est mise en évidence en particulier par l'analyse au microscope électronique à balayage décrite au paragraphe (Balayage).

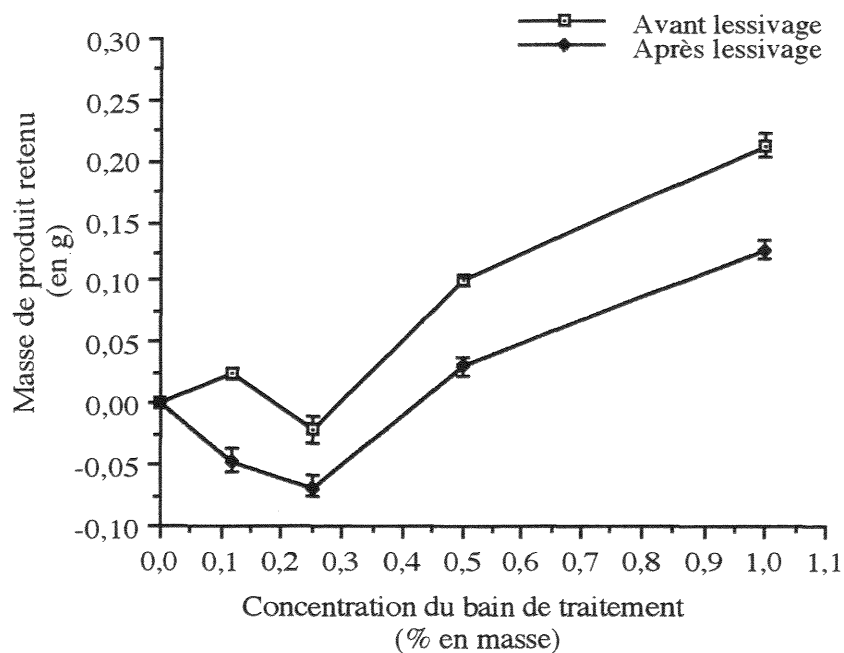


Figure 25 : Quantité de tétrafluoroborate d'ammonium T_{80}, BF_4 retenu en gramme sur des éprouvettes de Pin sylvestre en fonction des différentes concentrations (% en masse)

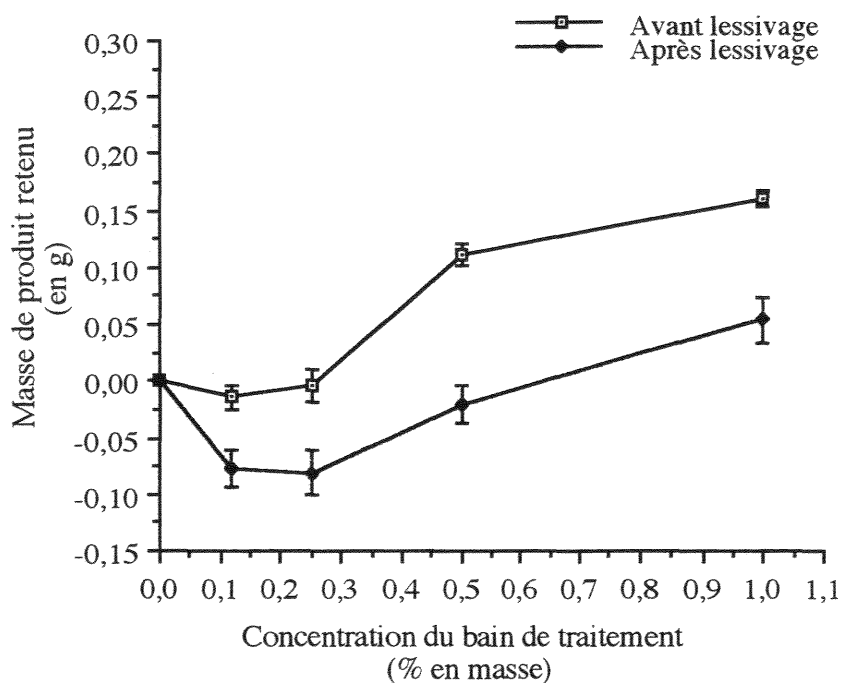


Figure 26 : Quantité de tétrafluoroborate d'ammonium B_{80}, BF_4 retenu en gramme sur des éprouvettes de Pin sylvestre en fonction des différentes concentrations (% en masse)

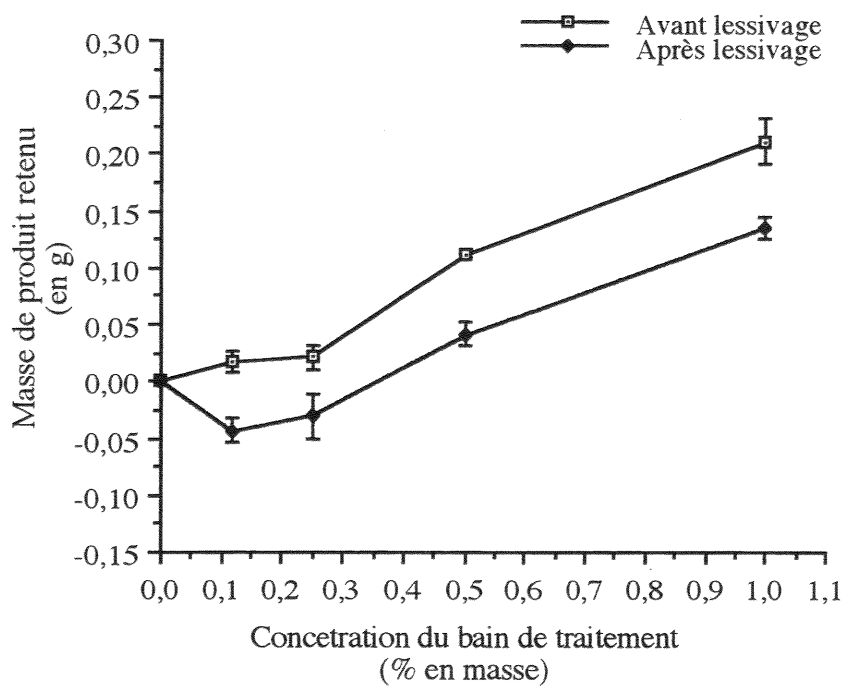


Figure 27 : Quantité d'hexafluorophosphate d'ammonium T_{80}, PF_6 retenu en gramme sur des éprouvettes de Pin sylvestre en fonction des différentes concentrations (% en masse)

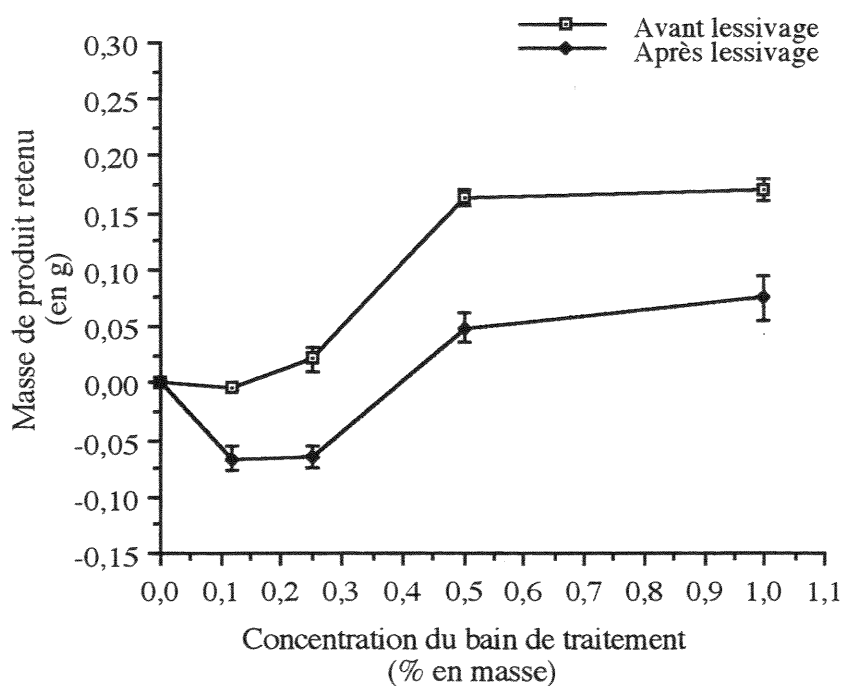


Figure 28 : Quantité d'hexafluorophosphate d'ammonium B_{80}, PF_6 retenu en gramme sur des éprouvettes de Pin sylvestre en fonction des différentes concentrations (% en masse)

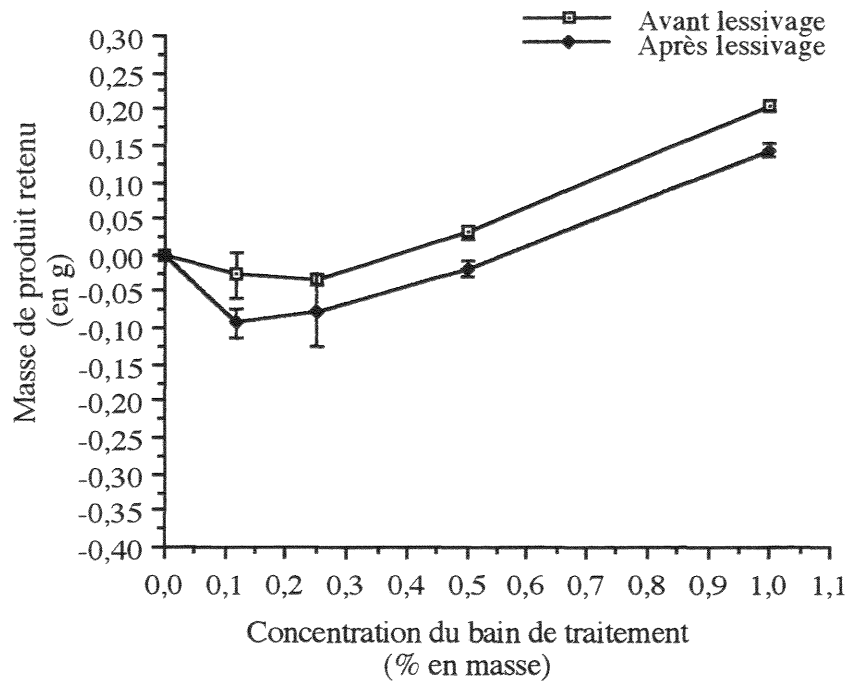


Figure 29 : Quantité de tétrafluoroborate d'ammonium T_{80}, BF_4 retenu en gramme sur des éprouvettes de Hêtre en fonction des différentes concentrations (% en masse)

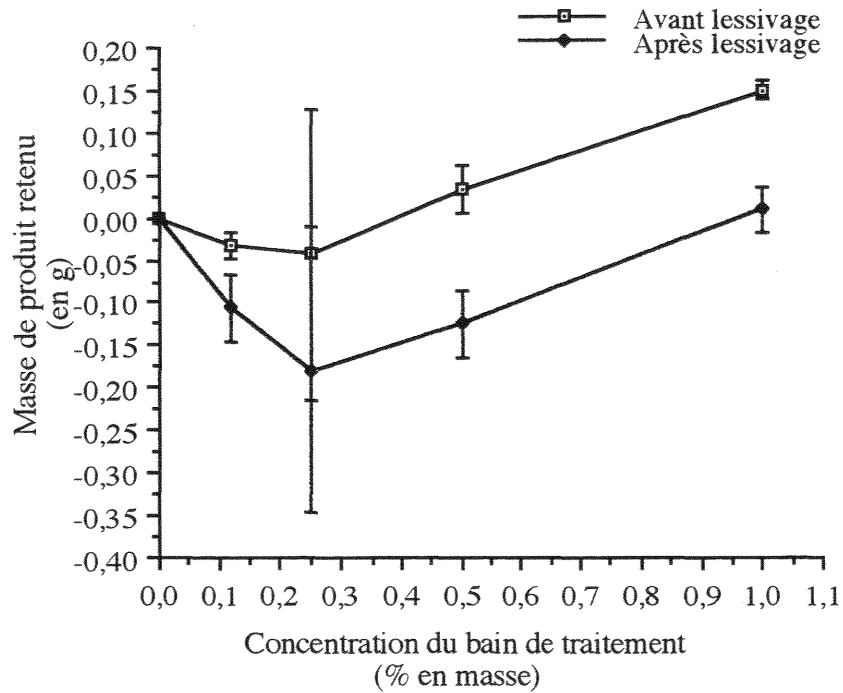


Figure 30 : Quantité de tétrafluoroborate d'ammonium B_{80}, BF_4 retenu en gramme sur des éprouvettes de Hêtre en fonction des différentes concentrations (% en masse)

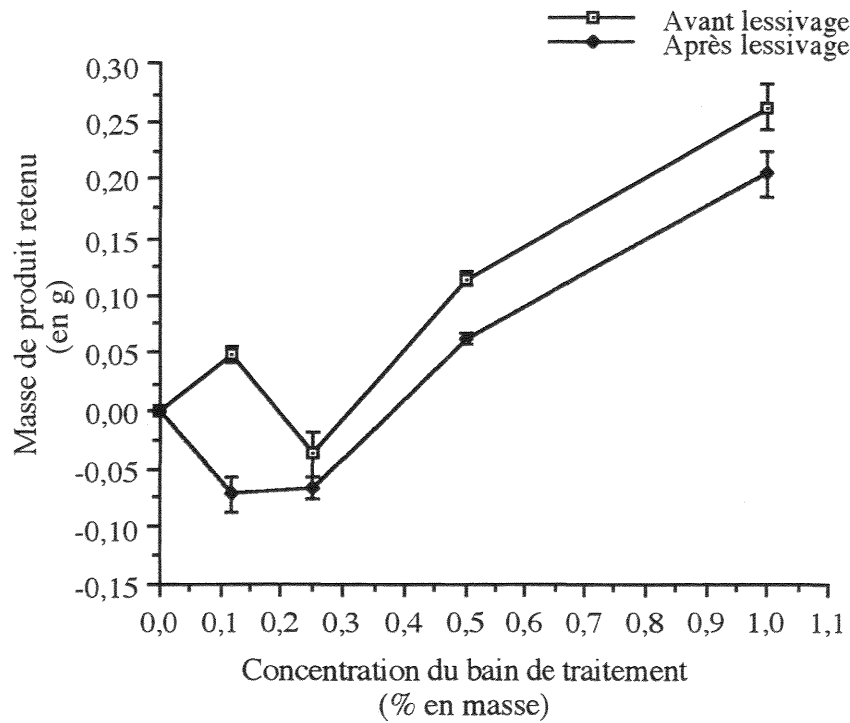


Figure 31 : Quantité d'hexafluorophosphate d'ammonium T_{80}, PF_6 retenu en gramme sur des éprouvettes de Hêtre en fonction des différentes concentrations (% en masse)

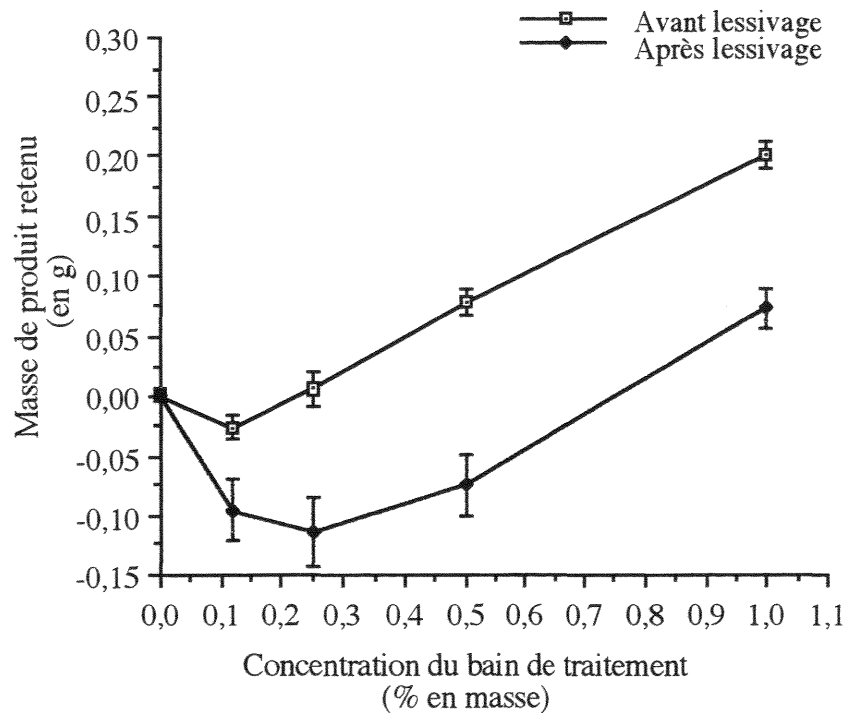


Figure 32 : Quantité d'hexafluorophosphate d'ammonium B_{80}, PF_6 retenu en gramme sur des éprouvettes de Hêtre en fonction des différentes concentrations (% en masse)

Les quantités molaires estimées des produits retenus sur le bois, traité avec des solutions à 1 % de matière active (3,17 mM) de T_{80} et 1 % de matière active (2,84 mM) de B_{80} , sont regroupées dans les tableaux 16 et 17. Les pourcentages des produits retenus sur le bois sont calculés par rapport aux concentrations molaires des solutions de traitement.

Tableau 16 : Quantités de produit (T_{80} , $T_{80};BF_4$ et $T_{80};PF_6$) retenu (en mM) sur le bois après lessivage.

Essences	Pin sylvestre		Hêtre	
Produits	mM	% produit retenu	mM	% produit retenu
T_{80}	0,31	9,8	0,42	13,2
$T_{80};BF_4$	0,35	11,0	0,39	12,3
$T_{80};PF_6$	0,32	10,1	0,48	15,1

Tableau 17 : Quantités de produit (B_{80} , $B_{80};BF_4$ et $B_{80};PF_6$) retenu (en mM) sur le bois après lessivage.

Essences	Pin sylvestre		Hêtre	
Produits	mM	% produit retenu	mM	% produit retenu
B_{80}	0,067	2,4	0,036	1,3
$B_{80};BF_4$	0,13	4,6	0,027	0,95
$B_{80};PF_6$	0,16	5,6	0,16	5,6

La modification de la structure chimique des sels permet d'augmenter la quantité de produit retenu dans le bois.

Pour le B_{80} , qui est sensible au lessivage, nous constatons que la quantité molaire retenue sur le Pin sylvestre après lessivage a doublé (tableau 17). Par ailleurs, la fixation des différents produits dépend du type d'essence utilisée et de la nature de l'anion fixé. Ainsi nous obtenons une meilleure résistance au lessivage avec l'anion PF_6 .

VI.2.1.3. Imprégnation du bois avec les émulsions

Les éprouvettes de Pin sylvestre sont traitées avec une solution d'émulsion à 4 % de matière active. Comme nous l'avons mentionné précédemment au paragraphe (V.3.2. A.2), à des concentrations inférieures à 4 % concentration où les émulsions deviennent instables.

En parallèle, à des fins de comparaison, des éprouvettes sont traitées en deux applications successives comme précédemment, en premier temps avec des solutions de B_{80} ou T_{80} à 3,25 % de matière active et en deuxième temps avec une solution à 1 équivalent molaire de $NaBF_4$ ou KPF_6 .

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de tableau en Annexe I (Tableaux 13 et 14). Le tableau 18 représente les quantités molaires des différents produits retenus sur le bois avant et après lessivage.

Tableau 18 : Quantité des produits retenus en (mM) sur les éprouvettes de Pin sylvestre avant et après lessivage

Produits	Produit retenu en mM		% de produit retenu après lessivage
	Avant lessivage	Après lessivage	
B₈₀	1,81	1,04	57,5
B₈₀, BF₄	2,11	1,4	66,4
BF₁₄ émulsion	2,19	1,5	68,5
B₈₀, PF₆	2,19	1,9	86,8
BF₁₅ émulsion	1,66	1,1	66,3
T₈₀	2,17	1,06	48,8
T₈₀, BF₄	2,39	2,09	87,4
BF₁₆ émulsion	1,55	1,07	69,0
T₈₀, PF₆	1,57	1,53	97,5
BF₁₇ émulsion	2,42	1,8	74,4

Nous constatons que, comme attendu, la modification de la structure chimique des sels d'ammonium au sein du bois est très bénéfique. Puisqu'elle permet de réduire considérablement les quantités de produit lessivé.

Des éprouvettes traitées avec B₈₀ et T₈₀ perdent au lessivage respectivement 42,5% et 51,2% du produit introduit dans le bois.

Des éprouvettes traitées avec les sels d'ammonium préparés (T₈₀, PF₆) au sein du bois ou introduits par le biais des émulsions, ne perdent respectivement que 3% et 25% des sels d'ammonium lors du lessivage.

En comparant les procédés de traitement en un temps et en deux temps, nous constatons que ce dernier permet de retenir dans le bois après lessivage une charge plus importante (Tableau 18). Cependant pour des éprouvettes traitées avec B₈₀, BF₄ en deux temps, ou en émulsion, nous retenons des quantités identiques.

Il apparait aussi, que quelque soit le sel d'ammonium de départ, la résistance au lessivage est améliorée avec l'anion PF₆.

VI.2.2. Mesure de la résistance biologique des éprouvettes traitées avec le tétrafluoroborate et l'hexafluorophosphate d'ammonium

VI.2.2.1 Eprouvettes traitées en deux applications successives

Afin de déterminer le seuil d'efficacité de chaque produit, les éprouvettes traitées sont exposées à des cultures pures de champignon pendant 16 semaines. Nos résultats détaillés sont donnés en annexe II (Tableaux 1 à 12).

Dans le tableau 19 nous présentons pour chaque produit le seuil d'efficacité (exprimé en gramme de produit retenu sur le bois) vis-à-vis des champignons d'essai.

Tableau 19 : seuils d'efficacité sur bois des sels d'ammonium non modifiés et modifiés (exprimés en gramme de produit retenu sur le bois)

Produits	Champignons	
	<i>Poria placenta</i>	<i>Coriolus versicolor</i>
T₈₀	<0,028	0,038<S.E≤0,133
T₈₀,BF₄	<0,031	<0,144
T₈₀,PF₆	<0,042	>0,205
B₈₀	<0,006	<0,013
B₈₀,BF₄	<0,054	<0,011
B₈₀,PF₆	<0,049	<0,073

Le Pin sylvestre est exposé au *Poria placenta* qui entraîne une perte de masse des éprouvettes témoins de 24,2 %. Tandis que pour le Hêtre exposé au *Coriolus versicolor*, nous enregistrons des pertes de masse de l'ordre de 27,7 %.

T₈₀ et ses dérivés

Nous constatons que le *Coriolus versicolor* résiste plus aux produits que le *Poria placenta*.

En effet, pour tous produits confondus, des quantités inférieures à 0,054 g (concentration de la solution de traitement inférieure à 1 %) sont suffisantes pour protéger le Pin sylvestre contre le *Poria placenta*. Par contre des quantités supérieures sont nécessaires pour protéger à 100 % le Hêtre contre l'attaque de *Coriolus versicolor* (Tableau 19).

Par ailleurs, nous constatons que le sel d'ammonium T₈₀ associé à l'anion PF₆ voit son efficacité diminuer. Sur le Hêtre, le sel d'ammonium T₈₀ non modifié a un seuil d'efficacité compris entre 0,038 g et 0,133 g (concentration de la solution de traitement comprise entre 0,5 et 1 %). Associé à l'anion BF₄, son seuil d'efficacité est inférieur à 0,144 g (concentration de la solution de traitement inférieure à 1 %).

Le même sel associé à l'anion PF_6 voit alors son efficacité dépasser 0,205 g (concentration de la solution de traitement supérieure à 1 %) (Tableau 19).

B_{80} et ses dérivés

Une charge inférieure à 0,013 g (concentration de la solution de traitement inférieure à 1 %) de B_{80} est suffisante pour protéger totalement les deux essences contre l'attaque des deux champignons. Comme pour le T_{80} , la nature de l'anion influence l'efficacité du sel. Le sel associé à l'anion BF_4 est plus efficace que le même sel associé à l'anion PF_6 .

VI.2.2.2 Eprouvettes traitées avec les émulsions

Ces éprouvettes sont lessivées, séchées et exposées à une culture pure de *Poria placenta* pendant 16 semaines.

Les résultats sont représentés sous forme de tableaux en annexe II (Tableaux 13 à 18). Nous constatons que les éprouvettes non traitées et les éprouvettes traitées avec les solvants présentent respectivement des pertes de masse de 25,6 % et de 31,2 %.

Les solvants utilisés ne présentent aucune toxicité vis-à-vis du *Poria placenta*. Les éprouvettes de Pin sylvestre traitées avec les solvants et exposées au *Poria placenta* présentent une perte de masse supérieure à celle enregistrée sur des éprouvettes témoins.

Les éprouvettes traitées avec les émulsions ou en deux applications successives sont protégées à 100 % contre l'attaque de *Poria placenta*.

En effet, les quantités retenues sur le bois sont largement supérieures au seuil d'efficacité. Pour les émulsions, nous retenons sur les éprouvettes de Pin sylvestre des quantités allant de 0,393 g à 0,752 g (Annexe II tableaux 15 à 18). Pour le procédé en deux applications successives la charge introduite dans le bois est de l'ordre de 0,333 g à 0,866 g (Annexe II tableaux 13 et 14).

PARTIE III

MICROSCOPE ELECTRONIQUE

VII. Microscope Electronique à Balayage

Nous avons fait appel à cette technique parce que d'une part elle nous permet d'étudier la surface d'un échantillon massif et que d'autre part l'étape de la préparation des échantillons est souvent moins longue et moins compliquée.

L'échantillon doit être rendu sec et conducteur. La conductibilité de ce dernier est réalisée par un dépôt d'une couche métallique en surface. Le métal évaporé est choisi en fonction de sa bonne capacité d'émission d'électrons secondaires et de sa facilité d'évaporation. C'est de l'or, du platine, du palladium ou des alliages de ces métaux qui sont utilisés.

VII.1. Rappel des différents organes de la colonne du M.E.B. (Figure 33)

L'échantillon est exploré par une petite sonde et les électrons incidents sur sa surface sont absorbés ou rétrodiffusés. Ces derniers sont recueillis par un détecteur et le courant enregistré va commander le faisceau d'un moniteur et ainsi créer une image.

Les électrons absorbés provoquent de nombreuses réactions lors de leur ralentissement, dont certaines peuvent être exploitées pour former une image.

Le cas le plus utilisé est un électron dit "secondaire" qui est éjecté de la surface il est ensuite attiré vers un détecteur. Le courant enregistré est affiché sous forme d'image.

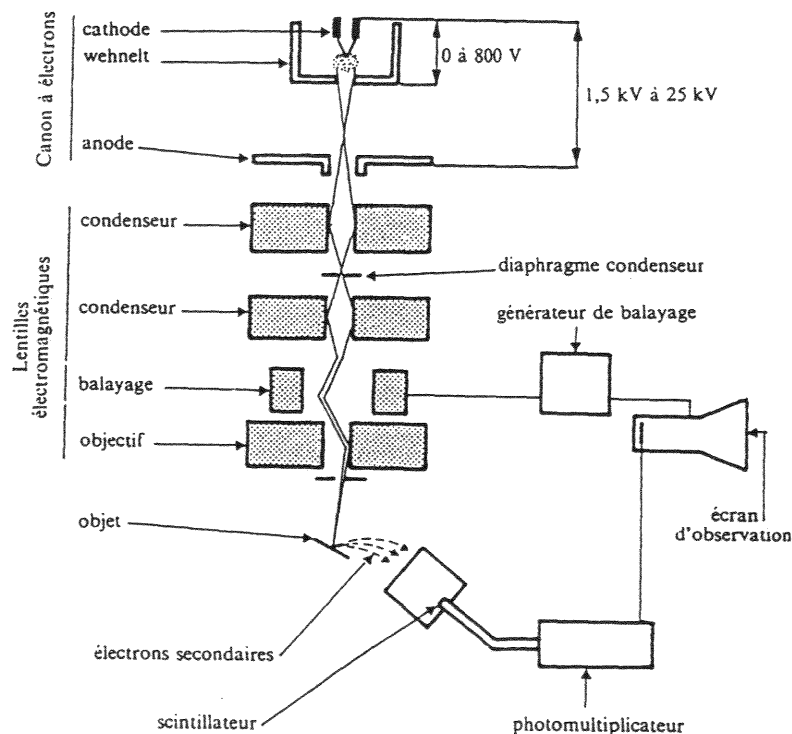


Figure 33 : Microscope Electronique à Balayage

VII.2. Préparations des échantillons

Ces procédés sont nombreux et complexes. De plus, chaque type d'échantillon nécessite une méthode particulière.

Dans le cas des échantillons biologiques, il faut d'abord fixer le tissu avec des sels lourds, l'acide osmique par exemple, suivi d'une déshydratation par passages successifs dans des bains d'acétone à concentration croissante.

Etant donné que nos produits sont solubles dans l'acétone, cette technique ne peut être utilisée.

Pour éviter l'effet néfaste de ces traitements, nous avons réalisé des coupes à main levée dans le sens des fibres du bois (Coupes Longitudinales-Radiales).

Les sections sont placées sur un disque en cuivre, la surface interne en haut. Elles sont mises dans un évaporateur thermique qui permet de déposer sur ces dernières une couche fine d'or de l'ordre de 300 à 400 °Å.

L'observation se fait au service commun de Microscope Electronique à Balayage de l'Université de Nancy I (Ingénieur M^r Koehler).

VII.3. Résultats et discussion

Nous avons prélevé des écailles au niveau des éprouvettes de Pin sylvestre traitées avec une solution aqueuse à 1 % du chlorure d'alkyl benzyl diméthylammonium T_{80} , T_{80} puis avec une solution aqueuse à 1 équivalent de $NaBF_4$ et T_{80} puis avec une solution aqueuse à 1 équivalent de KPF_6 . Ces éprouvettes traitées ont subi ensuite un lessivage selon la norme française NFx41-565.

Sur chaque plage étudiée, une image est prise. Cette étude ultrastructurale nous permet de mettre en évidence la modification chimique du sel d'ammonium au sein du bois.

Les photos représentatives sont regroupées dans la Planche I. Bien que la qualité des coupes soit mauvaise, nous pouvons constater que le sel d'ammonium T_{80} associé à l'anion BF_4 ou PF_6 est localisé au niveau des cavités cellulaires (Planche I.B et I.C) alors que le sel T_{80} soluble n'est pas visible (Planche I.A). Cependant, la spectroscopie de pertes d'énergie d'électrons transmis nous a permis de le détecter (Tableau 20, figure 36) sur les parois cellulaires.

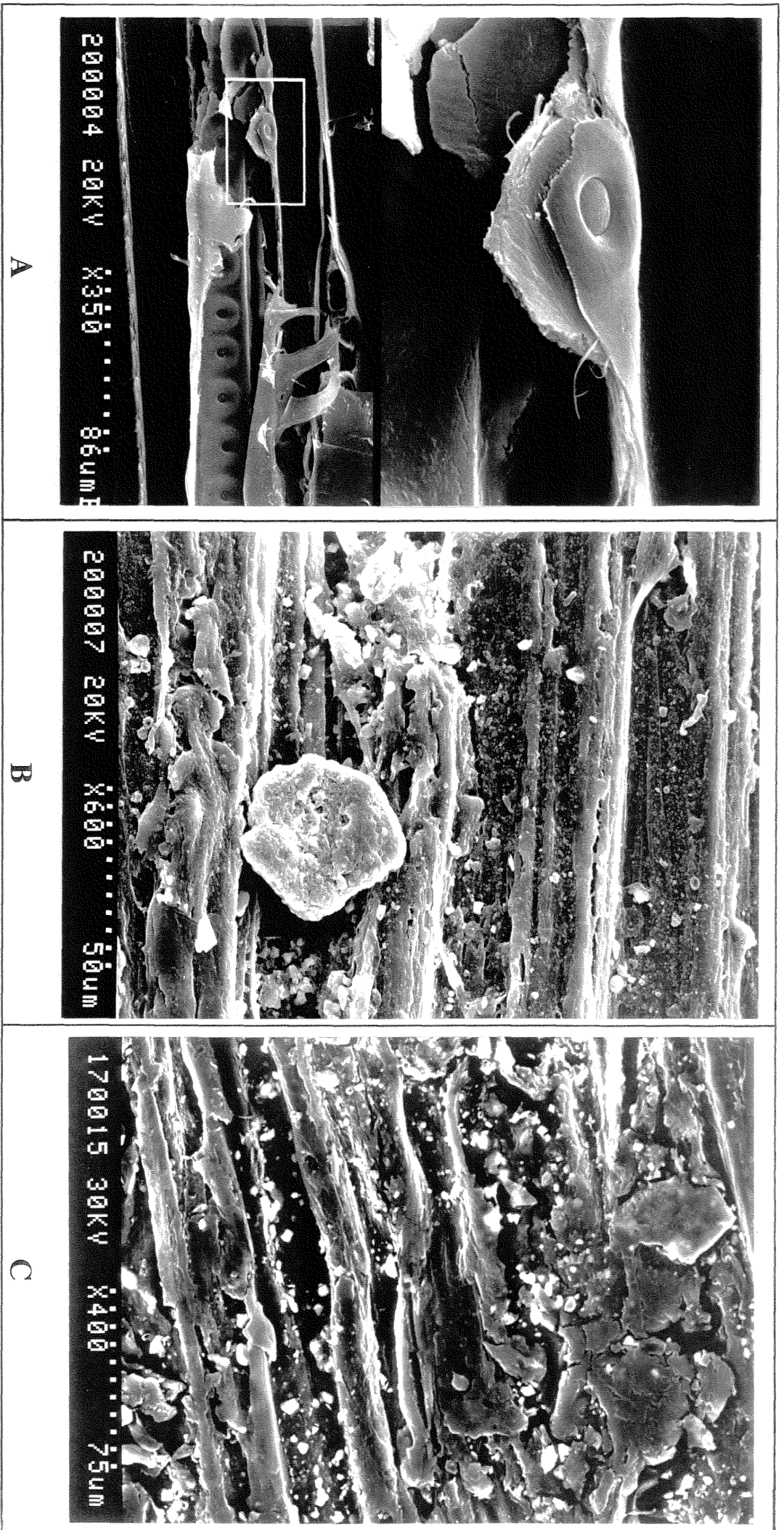


Planche I : Coupes à main levée des éprouvettes de Pin sylvestre traitées avec

- A. Chlorure d'alkyl benzyl diméthylammonium à 1 %
- B. Chlorure d'alkyl benzyl diméthylammonium à 1 % puis avec 1 équivalent molaire de NaBF_4
- C. Chlorure d'alkyl benzyl diméthylammonium à 1 % puis avec 1 équivalent molaire de KPF_6

VIII. Microscope Electronique à Transmission (MET)

Le microscope électronique à transmission est un instrument particulièrement important pour l'étude locale des matériaux.

Contrairement au microscope électronique à balayage où on peut observer un échantillon massif, au MET l'échantillon doit avoir une épaisseur inférieure à $0,2 \mu\text{m}$ pour pouvoir être traversé par le faisceau d'électrons.

Les techniques de préparations sont très différentes selon la nature des matériaux. Pour les échantillons biologiques la technique la plus utilisée est l'ultramicrotomie. Cette technique très délicate qui demande beaucoup de doigté, nécessite généralement deux étapes :

- l'inclusion dans un enrobant approprié,
- la coupe au couteau de verre ou de diamant sur un ultramicrotome selon la nature de l'échantillon à couper.

L'analyse de la composition chimique de l'échantillon pendant son observation peut être effectuée.

La technique d'analyse que nous avons utilisée dans notre étude est la spectroscopie par pertes d'énergie d'électrons transmis. Ces analyses sont qualitatives, car elles sont effectuées sur des volumes très réduits.

L'avantage de l'utilisation de cette technique est de détecter et d'analyser les éléments légers tel que l'azote.

VIII.1. Spectroscopie par pertes d'énergie

La spectroscopie par pertes d'énergie d'électrons transmis, EELS (ou Electron Energy Loss Spectrometry), tire partie des interactions qui se produisent entre un faisceau d'électrons et une cible pour caractériser celle-ci.

VIII.2. Principe de la spectroscopie par pertes d'énergie

Lorsque les électrons traversent l'échantillon, ils subissent des chocs avec les atomes de la matière. Certains de ces chocs leur font perdre de l'énergie (Figure 34).

Le principe de EELS est donc de mesurer la perte d'énergie des électrons incidents pour remonter à la reconnaissance et au dosage des éléments présents et responsables des pertes caractéristiques.

La fixation par le tétr oxyde d'osmium et les coupes ultramicrotomiques de nos échantillons traités et lessivés ont été réalisés par Madame Villemin au Centre de Pédologie de Nancy.

L'observation se fait au service commun de Microscope Electronique à Transmission de l'Université de Nancy I (Responsable M^r Ghanbaja).

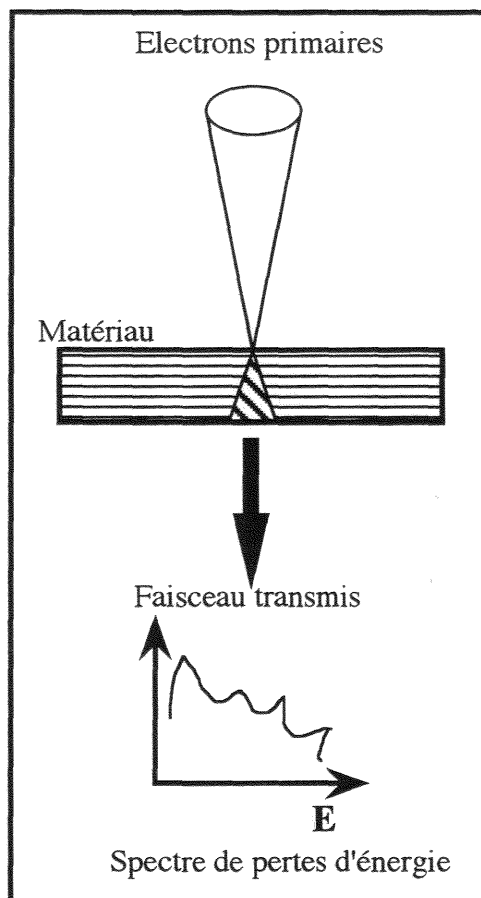


Figure 34 : Principe de spectroscopie par pertes d'énergie d'électrons transmis

VIII.3. Résultats et discussion

Les résultats obtenus sont présentés dans les figures 35 à 38. Les spectres de pertes d'énergie d'électrons transmis font apparaître deux pics dont les positions en énergie correspondent respectivement à 299 et 411,1 eV.

La première valeur s'approche de celle attendue théoriquement pour la raie K du carbone. La deuxième valeur, qui nous intéresse dans notre étude, est proche de celle attendue pour la raie K de l'azote. Il nous était très difficile de mesurer cette valeur surtout pour le bois témoin (non traité) et celui correspondant à un traitement avec du T_{80} car le pic est assez large. Ce pic s'affine pour le bois traité avec T_{80}, BF_4 et T_{80}, PF_6 , et son poids devient important.

Le tableau 20 regroupe les taux d'azote retrouvé dans des échantillons du bois et ceci pour chaque traitement. A titre de comparaison, nous présentons aussi le taux d'azote pour le bois témoin.

Tableau 20 : Analyses qualitatives et quantitatives de l'azote des échantillons prélevés à partir du bois témoin et traité par les différents produits

Echantillons	Taux d'azote en %
Témoin	2,2
T ₈₀	9
T ₈₀ ,BF ₄	13
T ₈₀ ,PF ₆	13

Nous constatons que le taux d'azote détecté dans le bois augmente avec le traitement. En effet, pour le bois traité avec le sel d'alkyl benzyl diméthylammonium seul (T₈₀) à 1 %, nous retenons dans le bois 9% d'azote, alors que pour le bois traité avec le même sel d'ammonium à la même concentration puis traité avec le NaBF₄ ou KPF₆ le taux d'azote augmente de 44,4 %.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus lors des imprégnations sur bois. L'association du sel d'ammonium avec un anion BF₄ ou PF₆ permet d'améliorer sa rétention.

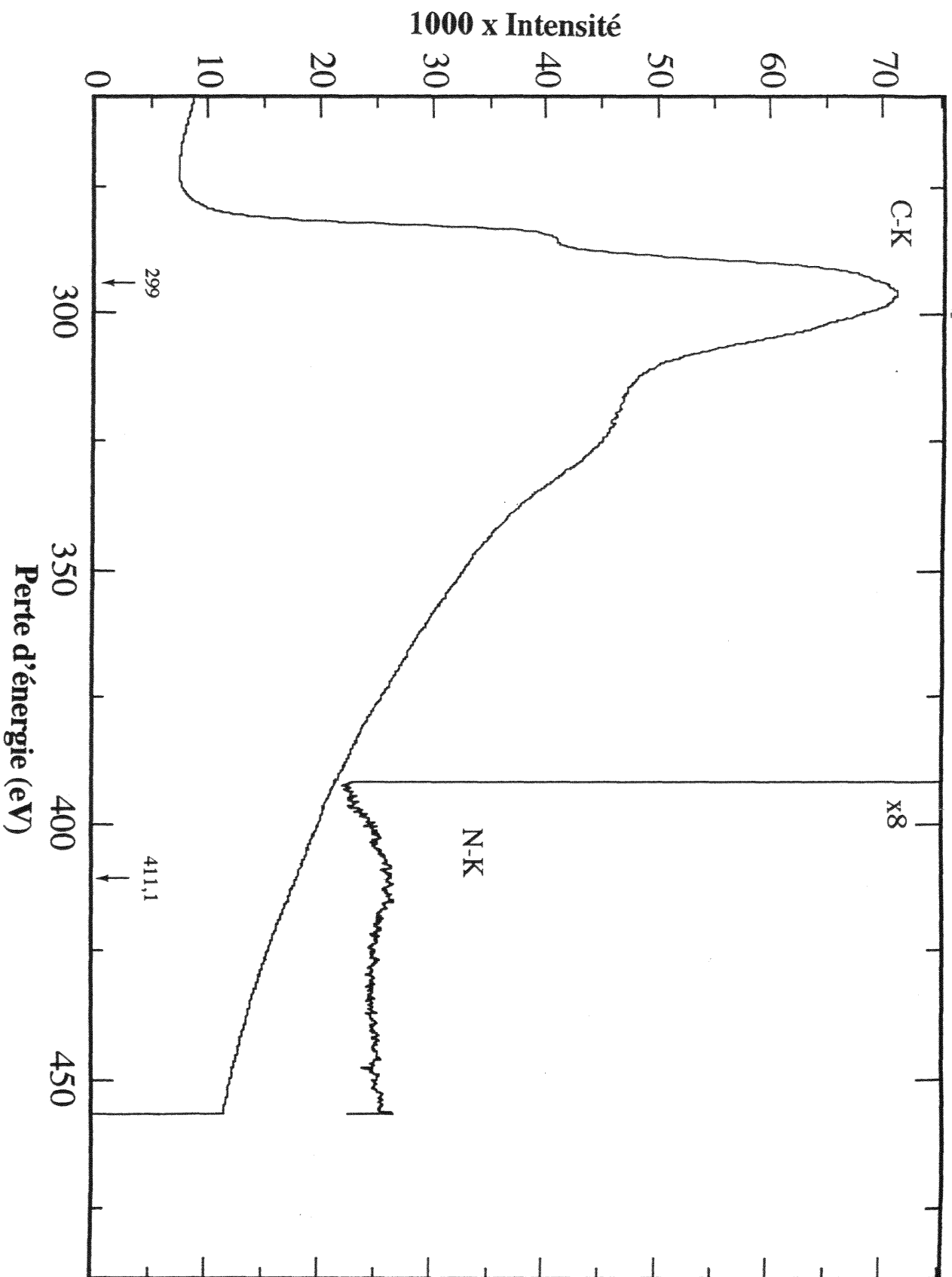


Figure 35 : Spectre de pertes d'énergie d'électrons transmis, sur du bois témoin

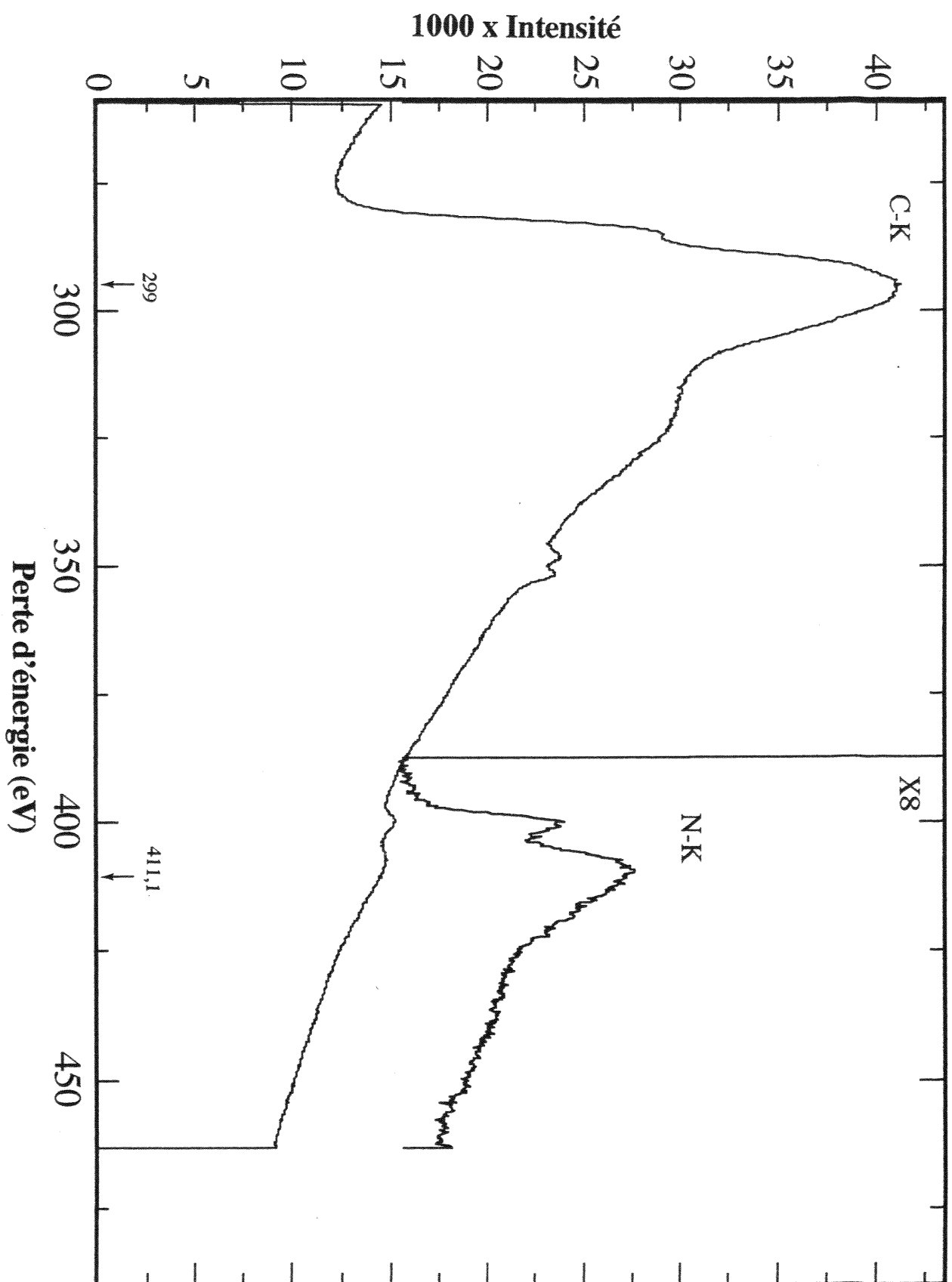


Figure 36 : Spectre de pertes d'énergie d'électrons transmis, sur du bois traité avec le chlorure d'alkyl benzyl diméthylammonium T₈₀

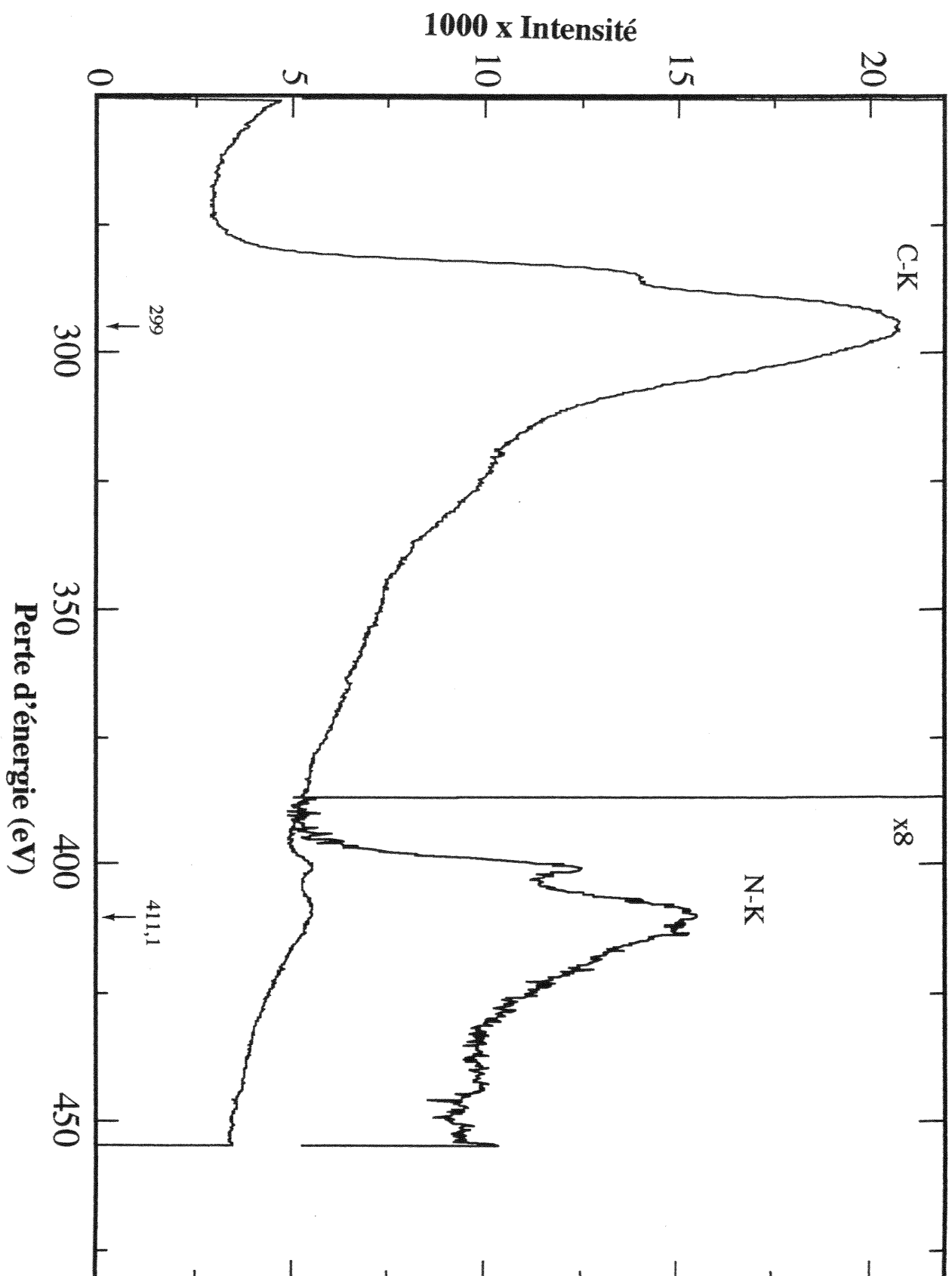


Figure 37 : Spectre de pertes d'énergie d'électrons transmis, sur du bois traité avec le chlorure d'alkyl benzyli diméthylammonium $T_{80} BF_4$

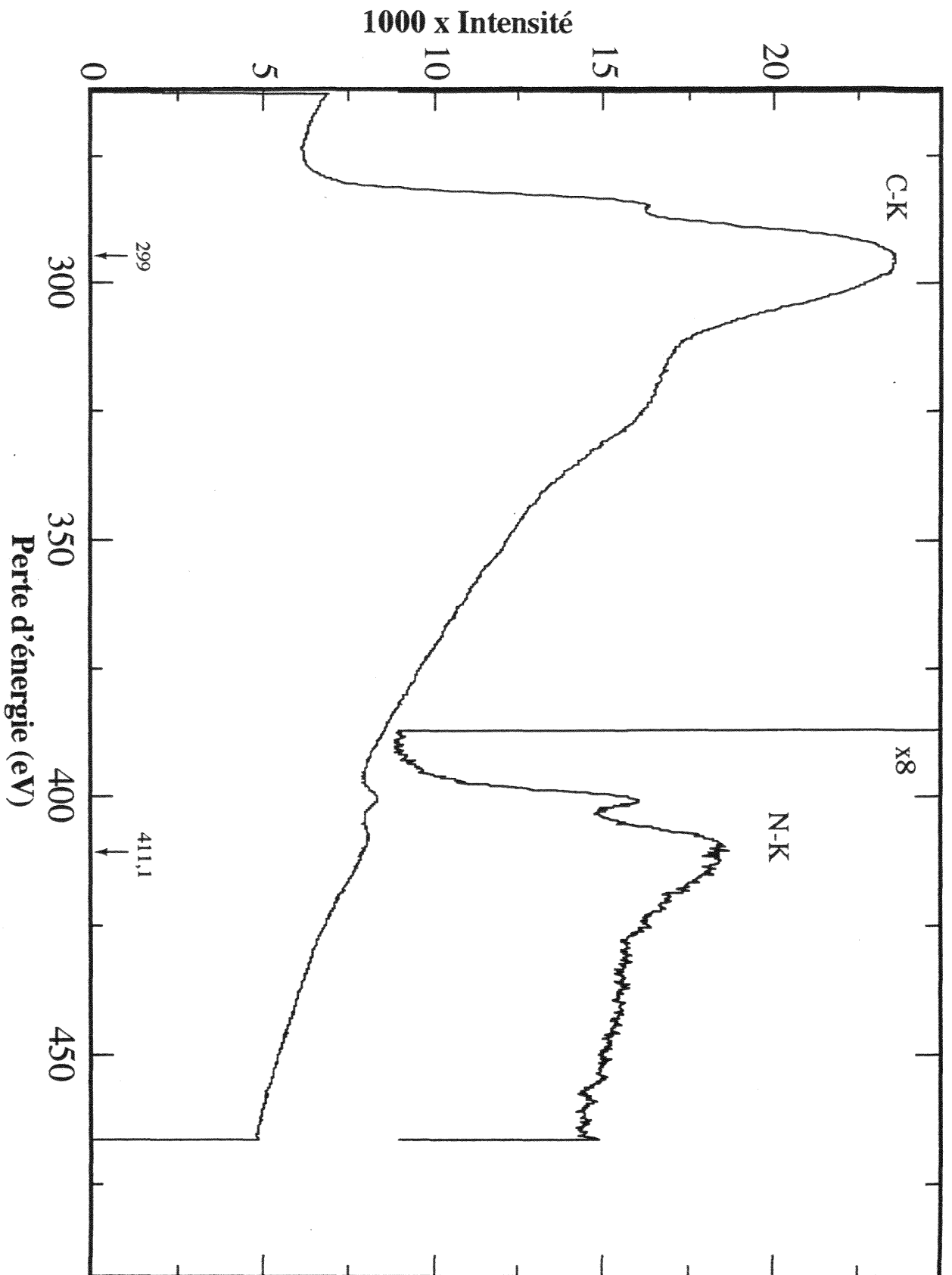


Figure 37 : Spectre de pertes d'énergie d'électrons transmis, sur du bois traité avec l'hexafluorophosphate d'alkyl benzyl diméthylammonium T_{80} , PF_6

CHAPITRE II :

***RESISTANCE BIOLOGIQUE DE LA
SCIURE MODIFIÉE
CHIMIQUEMENT***

Les modifications chimiques de la structure du bois peuvent apporter une nouvelle réponse au problème de la préservation du matériau. Ces modifications peuvent le stabiliser dimensionnellement, le rendre plus hydrophobe ou plus hydrophile, et peuvent le protéger contre les attaques biologiques. En effet, la résistance du bois modifié chimiquement sera liée principalement à une perte des sites de reconnaissance des champignons et non à la toxicité des produits greffés.

Notre travail consiste, d'une part, à modifier la structure chimique de la sciure d'Épicéa par greffage des chaînes grasses par liaison ester ou uréthane. Cette modification est effectuée en utilisant le protocole expérimental déjà utilisé au laboratoire par Maurin 1996. D'autre part, nous avons étudié la résistance de cette sciure modifiée à l'attaque de *Poria placenta*.

I. Greffage de motifs par liaison ester et carbamate

Dans cette étude bibliographique, nous nous limiterons à deux types de modifications : l'un permet la fixation de motifs par liaison ester et l'autre par liaison uréthane.

Le greffage d'une molécule par liaison ester peut être obtenue de différentes façons. Dans le tableau 21 nous regroupons les réactions les plus connues.

Tableau 21 : Modification du bois par fixation de motifs par liaison ester

Nom de la réaction	Réactions	Auteurs
Acétylation	$\text{Bois-OH} + \text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{CH}_3$ $\downarrow$ $\text{Bois-O}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{CH}_3 + \text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{OH}$	Peterson (1979)
Acétylation utilisation de cétène	$\text{Bois-OH} + \text{H}_2\text{C}=\text{C}=\text{O}$ $\downarrow$ $\text{Bois-O}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{CH}_3$	Karlson (1974)
utilisation des anhydrides : phtalique, succinique et maléïque	$\text{Bois-OH} + \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R} \diagup \text{C} \diagdown \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ $\downarrow$ $\text{Bois-O}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{OH}$	Matsuda (1985 a, 1993)

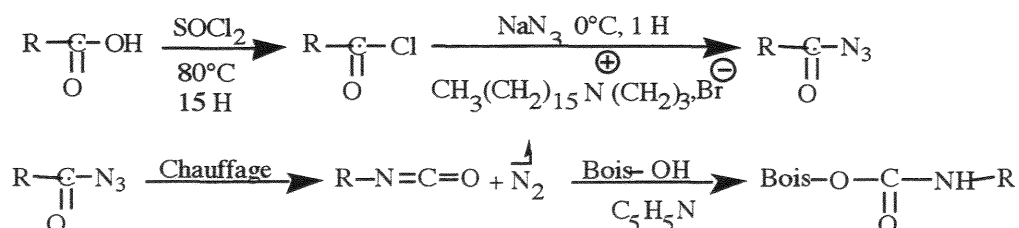
L'estérification du bois à l'aide d'un chlorure d'acide a longtemps suscité peu d'intérêt du fait de la libération d'acide chlorhydrique capable de dégrader le bois. Thiebaut, 1995 a montré qu'en utilisant un courant d'azote on peut éviter la dégradation du bois par l'acide chlorhydrique.



La deuxième réaction bois-isocyanate permet de modifier le bois en impliquant une liaison carbamate.



Plusieurs voies de synthèse de l'isocyanate existent. Nous citerons dans cette étude celle utilisée par Maurin, 1996 qui consiste à utiliser un précurseur azidure d'acyle qui libère l'isocyanate correspondant après chauffage. L'isocyanate libéré peut réagir avec un alcool ou avec le bois Gérardin, 1995. Le schéma ci-dessous décrit la méthode de synthèse d'azidure d'acyle gras à partir d'un acide.



II. Dégradation des liaisons esters

Bon nombre de microorganismes, sont capables d'hydrolyser les liaisons esters présentes dans les molécules de triglycérides.

II.1. Les enzymes lipolytiques

Les enzymes lipolytiques sont capables de dégrader les liaisons esters présentes dans les molécules de triglycérides (Mourey, 1989) et conduisent à la libération d'acides gras. Elles ont été beaucoup étudiées pour les industries alimentaires. Les connaissances de ces enzymes résultent des travaux effectués sur la lipase pancréatique, et la digestion de la fraction grasse des produits laitiers.

II.2. Les estérases ou carboxylestérases

Ces enzymes sont intracellulaires. Elles sont capables d'hydrolyser toutes sortes de substrats en solution dans l'eau (Lawrence, 1967), tels que les esters d'acide carboxylique et d'alcool.

La liaison hydrolysée par une carboxylestérase est donnée (Figure 38). Les esters éthyliques, notamment l'éthylbutyrate, passent pour être des substrats privilégiés des carboxylestérases (Mourey, 1989)

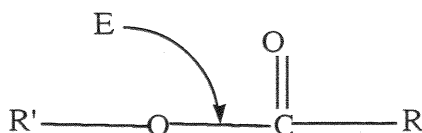


Figure 38 : Liaison hydrolysée par une carboxylestérase (E = carboxylesterase)

II.3. Les lipases

Elles sont en général extracellulaires (Yamane, 1987), chez les procaryotes comme chez les champignons et les levures.

Les lipases peuvent être considérées comme des estérases particulières. Elles sont capables d'hydrolyser des substrats assez proches, cependant, elles n'agissent pas sur des substrats en solution contrairement aux estérases, mais seulement sur des micelles de lipides. Les liaisons hydrolysées par les lipases sont données dans la figure 39.

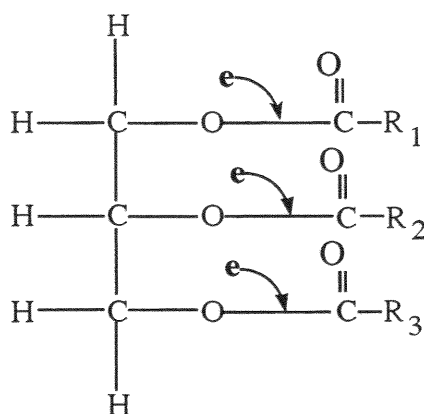


Figure 39 : Liaisons hydrolysées par une lipase (e = lipase)

II.4. Détection de l'activité lipolytique

En général, ces milieux sont gélifiés. La détection de l'activité lipolytique se fait soit par la mise en évidence de la disparition du substrat, soit par la révélation des acides gras libérés lors de l'hydrolyse. La consommation du substrat se traduit par une disparition de l'émulsion autour des microorganismes lipolytiques.

La révélation des acides gras libérés se fait, soit par le virage d'un indicateur coloré, soit par la précipitation des sels de calcium ou de cuivre.

Dans notre étude, on s'est intéressé particulièrement à la disparition du substrat :

La disparition du substrat est basée sur l'apparition de plages de lyse, ou zones claires qui traduisent la disparition de l'émulsion autour des microorganismes lipolytiques. La tributyrine est parmi les substrats les plus utilisés (Mourey et Kilbertus 1976).

Le milieu à la tributyrine permet la révélation d'une activité estérasique et lipasique. Le diamètre des plages de lyse est proportionnel à l'activité lipolytique des microorganismes considérés.

III. Métabolisme des acides gras

Après la libération des acides gras par la lipolyse, d'autres enzymes interviennent pour les dégrader. La plupart des études effectuées dans ce domaine sont focalisées sur les bactéries.

La voie de dégradation des acides gras la plus connue est la β - oxydation mis en évidence par Lynen et al en 1953, dans les tissus des cellules végétales et animales. L'acide gras est dégradé par perte de deux carbones à chaque tour d'hélice de Lynen (Figure 40).

Cette β - oxydation est intramitochondriale. Les acides gras franchissent la paroi cellulaire, et sont activés en Acyl-coenzyme A.

Après, ils entrent dans le cycle de la β - oxydation (hélice de LYNEN) qui consiste en une dégradation des acides par ruptures successives de la chaîne carbonée.

Cette scission s'effectue entre les carbones alpha et bêta de la fonction carboxylique de l'acide gras. Les deux carbones sont libérés sous forme d'acétyl-coenzyme A et donc d'énergie.

Le nom de β - oxydation est donné à cette séquence de réactions, car l'oxygène se fixe en position β .

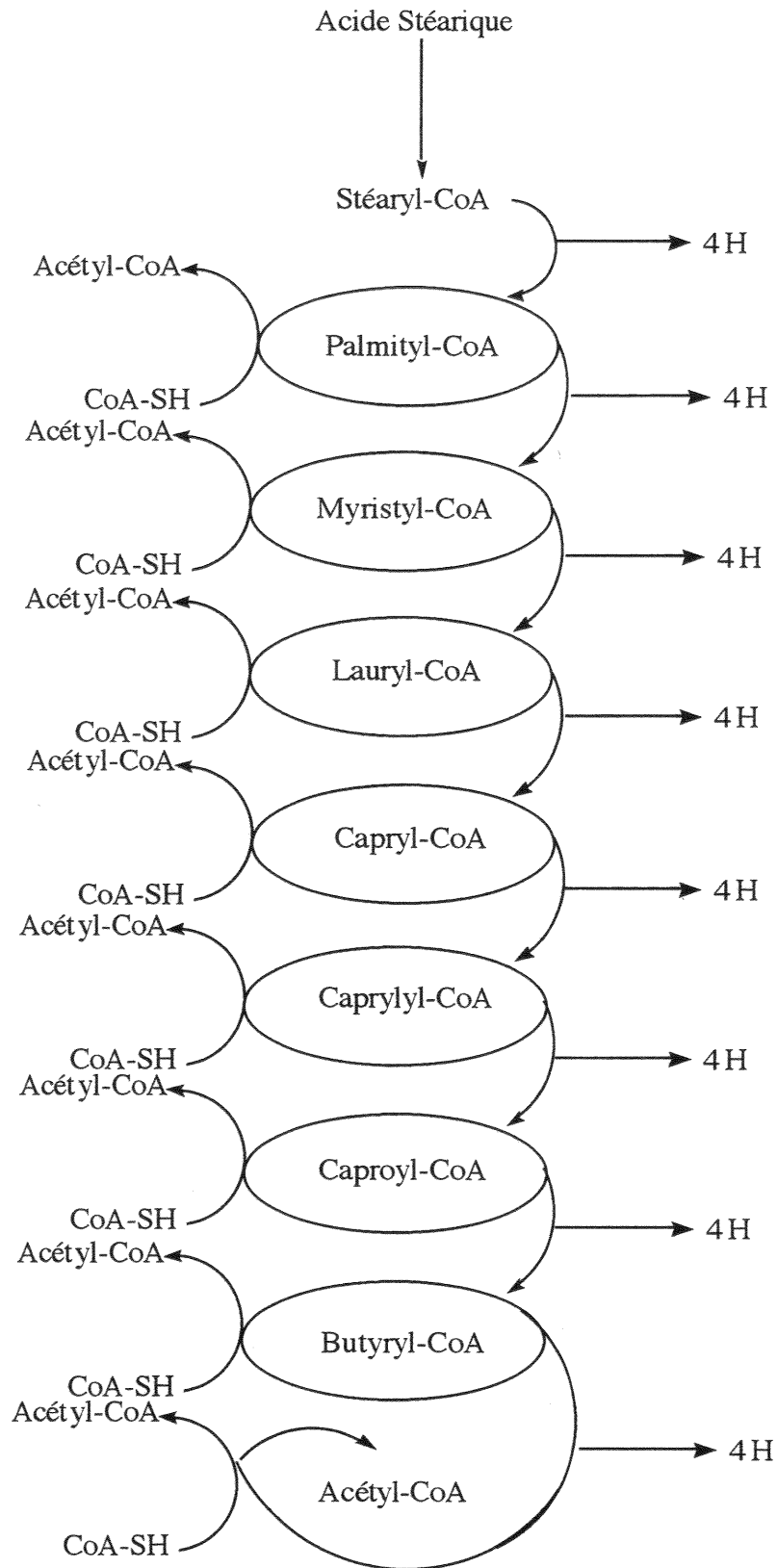


Figure 40 : β - oxydation de l'acide stéarique (hélice de LYNEN)
(d'après Weil 1983)

III.1. Détection de la dégradation des acides gras

Les milieux de culture permettant la détection de la dégradation des acides gras sont souvent des milieux gélosés où la seule source de carbone est représentée par l'acide gras (Vuillemin 1980).

La mise en évidence de la biodégradation se fait par la révélation de la consommation du substrat, et donc d'un éclaircissement du milieu de culture.

Pour les acides gras à chaîne longue, la dégradation est facilement repérée par l'apparition d'auréole transparente (plage de lyse) autour du microorganisme. Cependant, pour les acides gras à chaîne courte, solubles et donnant des milieux translucides, la dégradation est révélée par la croissance ou la survie des microorganismes.

IV. Modifications chimiques de la structure du bois

Les modifications de la structure chimique du bois ont été effectuées en suivant le même protocole expérimental que celui déjà utilisé au laboratoire par Maurin 1996. Elles consistent à greffer des acides gras sur le matériau par liaison ester ou carbamate.

IV.1. Fixation d'acides gras sur la sciure d'Épicéa : par liaison ester

A/ Préparation de la sciure du bois

Des copeaux d'Épicéa commun sont broyés puis tamisés, le diamètre des particules est compris entre 0,1 et 0,2 mm.

La sciure obtenue est lavée au soxhlet (4 cycles par heures) dans un mélange Toluène/Ethanol (2v/1v) pendant une nuit, et dans l'acétone pendant huit heures.

Les spectres infrarouge (IR) ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Infra Rouge à Transformée de Fourier (FTIR). Perkin-Elmer VP 1750.

B/ Préparation des acides gras à partir des graisses animales

La graisse animale utilisée est fournie par la société Saint Hubert. Elle contient des mono-, di-, et triglycérides constitués principalement de chaînes grasses saturées C_{18} , environ 40 % et C_{16} , environ 30 %.

a. Saponification

120 g de graisse sont dissouts dans 120 g d'éthanol. 60 g d'hydroxyde de potassium, solubilisés dans 90 g d'eau, sont ajoutés goutte à goutte.

Le mélange est chauffé, 4 heures à 80°C. L'éthanol est éliminé sous vide et une solution HCl (3N) est ajoutée jusqu'à pH de 2 - 3. Le produit est extrait deux fois avec 300 ml de CH_2Cl_2 .

Les deux phases organiques sont mélangées, séchées sur du $MgSO_4$, et filtrées. Le solvant est évaporé sous pression réduite.

b. Transformation de la graisse en chlorures d'acides

2,4 gramme de chlorure de thionyls est ajouté goutte à goutte à 10 g de la graisse saponifiée. Le mélange est chauffé à 80°C une nuit. L'excès de $SOCl_2$ est éliminé sous vide.

IR : $\nu(C=O) = 1800\text{ cm}^{-1}$ (Figure 41).

c. Réaction des chlorures d'acides gras avec la sciure d'Épicéa :
synthèse de Bois-O-C(O)-R

12 gramme de mélange de chlorure d'acide gras, 60 ml de pyridine et 10 g de sciure d'Épicéa sont successivement introduits dans un réacteur. La réaction est effectuée pendant 4 heures à 110°C.

La sciure est récupérée par filtration, rincée avec 300 ml d'acétone et 300 ml d'eau.

d. Lavage au soxhlet

La sciure estérifiée est lavée au soxhlet (4 cycles d'extraction par heure), dans un mélange Toluène/Ethanol (2v/1v) pendant une nuit, puis dans l'acétone 8 heures. La sciure est séchée et pesée. Le résultat est présenté dans le tableau 22.

Tableau 22 : Gain de masse en (%) de la sciure d'Épicéa modifiée avec un mélange de chlorure d'acide gras

Masse initiale (g)	Masse finale (g)	Gain de masse (%)
10	13,51	35,1

IR : ν (C = O) = 1740 cm^{-1} , ν (C - H) = 2920 cm^{-1} et 2850 cm^{-1} (Figure 42).

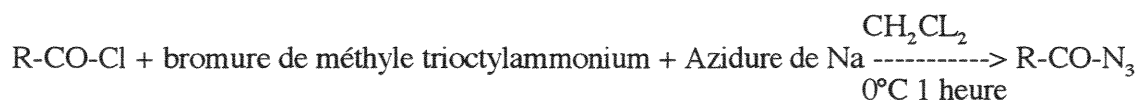
IV.2. Résultats

Nous constatons que la masse de la sciure d'Épicéa commun a augmenté de 35,1 %. L'analyse du spectre infrarouge (Figure 42) montre que l'intensité d'absorption des bandes de vibration (C-H) et (C=O) augmente.

IV.3. Greffage de motifs par fonction uréthane

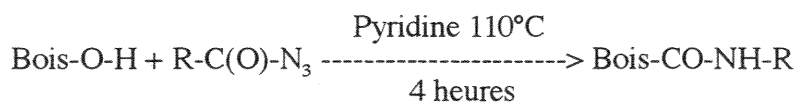
Nous n'avons pas effectué nous même le greffage par fonction uréthane, la sciure modifiée nous a été fournie par Maurin. La préparation se fait en deux étapes à partir des chlorures d'acides gras préparés comme nous l'avons vu précédemment.

1^{ère} étape synthèse des azidures d'acyl : R-CO-N₃.



IR : ν (C = O) = 1710 cm^{-1} , ν (N₃) = 2140 cm^{-1} , ν (C-H) = 2920 et 2950 cm^{-1} (Figure 43)

2^{ème} étape : réaction avec la sciure d'Épicéa : synthèse du Bois-CO-NH-R



Gain de masse de 34 %.

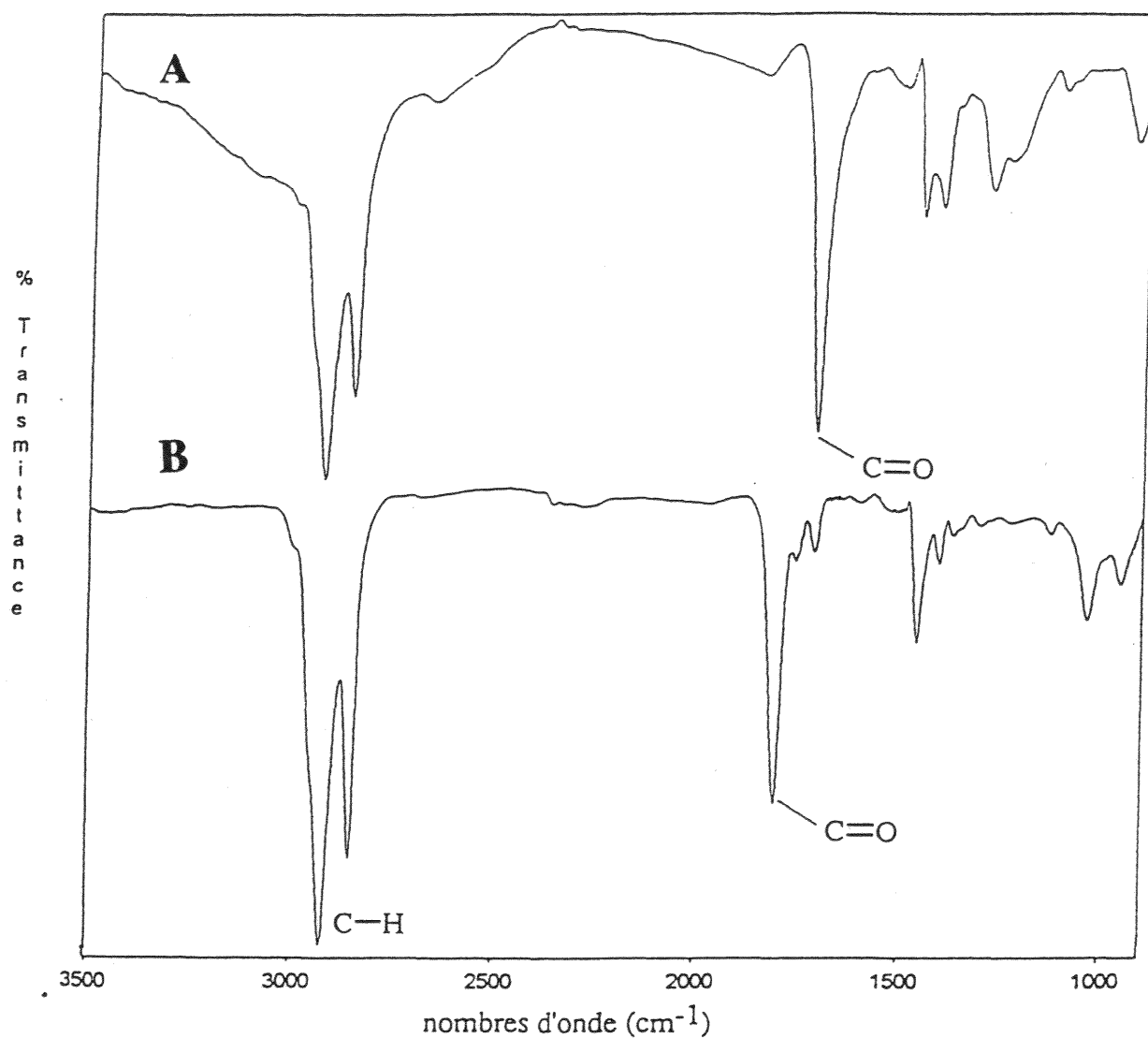


Figure 41 : Spectre infrarouge des produits intermédiaires de la synthèse du mélange :
Acides (A) et Chlorures d'acide (B)

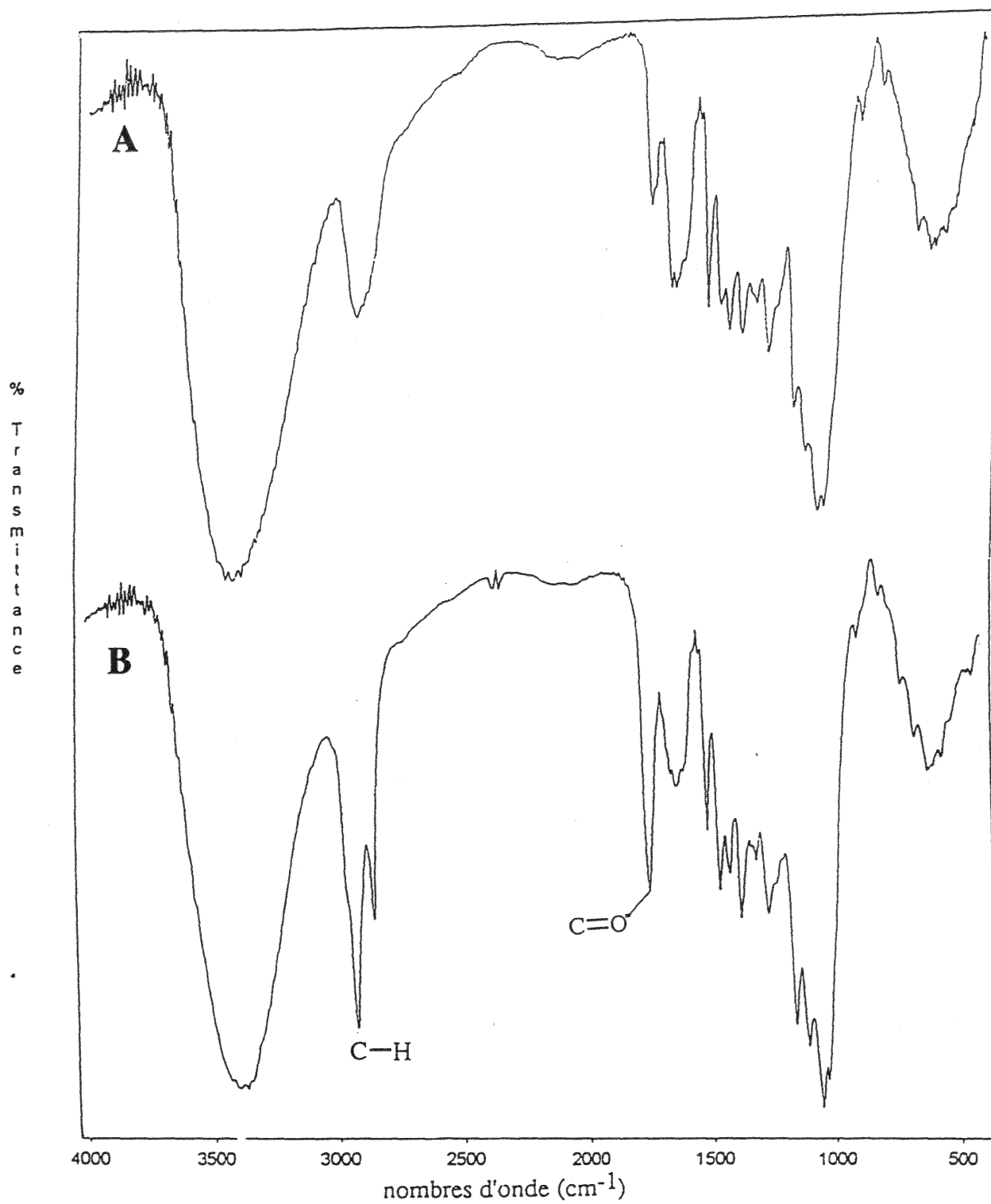


Figure 42 : Spectres infrarouges de la sciure d'Épicéa : témoin (A) et modifiée par un mélange de chlorures d'acide gras (B)

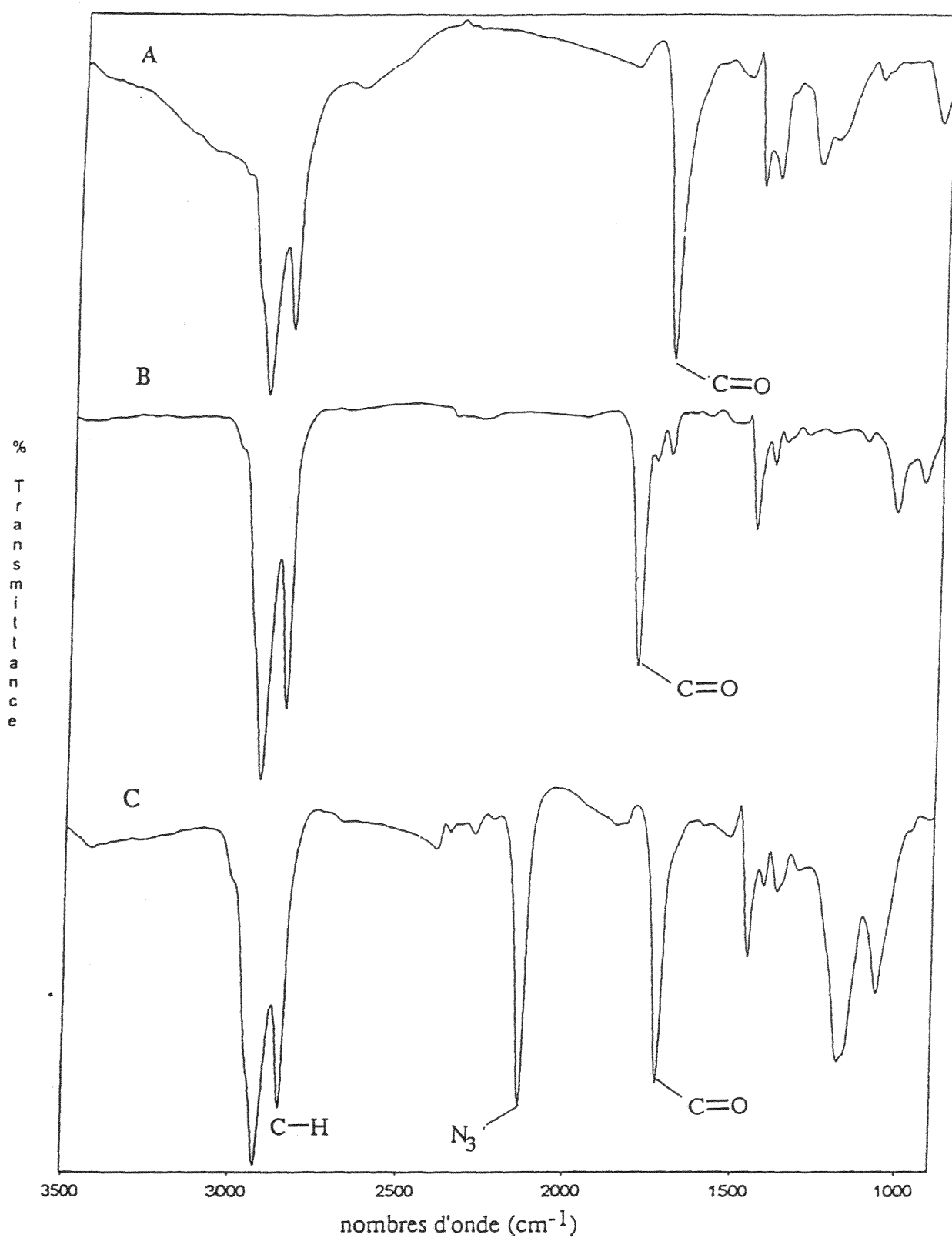


Figure 43 : Spectres infrarouges des produits de la synthèse du mélange d'azidures d'acyle gras
A. Acides, B. Chlorures d'acide, et C. Azidures d'acyle.

Afin de confirmer la réaction de greffage, le bois traité est analysé par spectrophotométrie infrarouge. Les modifications des spectres infrarouges du bois traité après réaction avec les azidures d'acyle gras sont :

IR : $\nu(\text{C}=\text{O}) = 1730 \text{ cm}^{-1}$, $\nu(\text{C}-\text{N}) = 1260 \text{ cm}^{-1}$, et $\nu(\text{C}-\text{H}) = 2900$ (Figure 44).

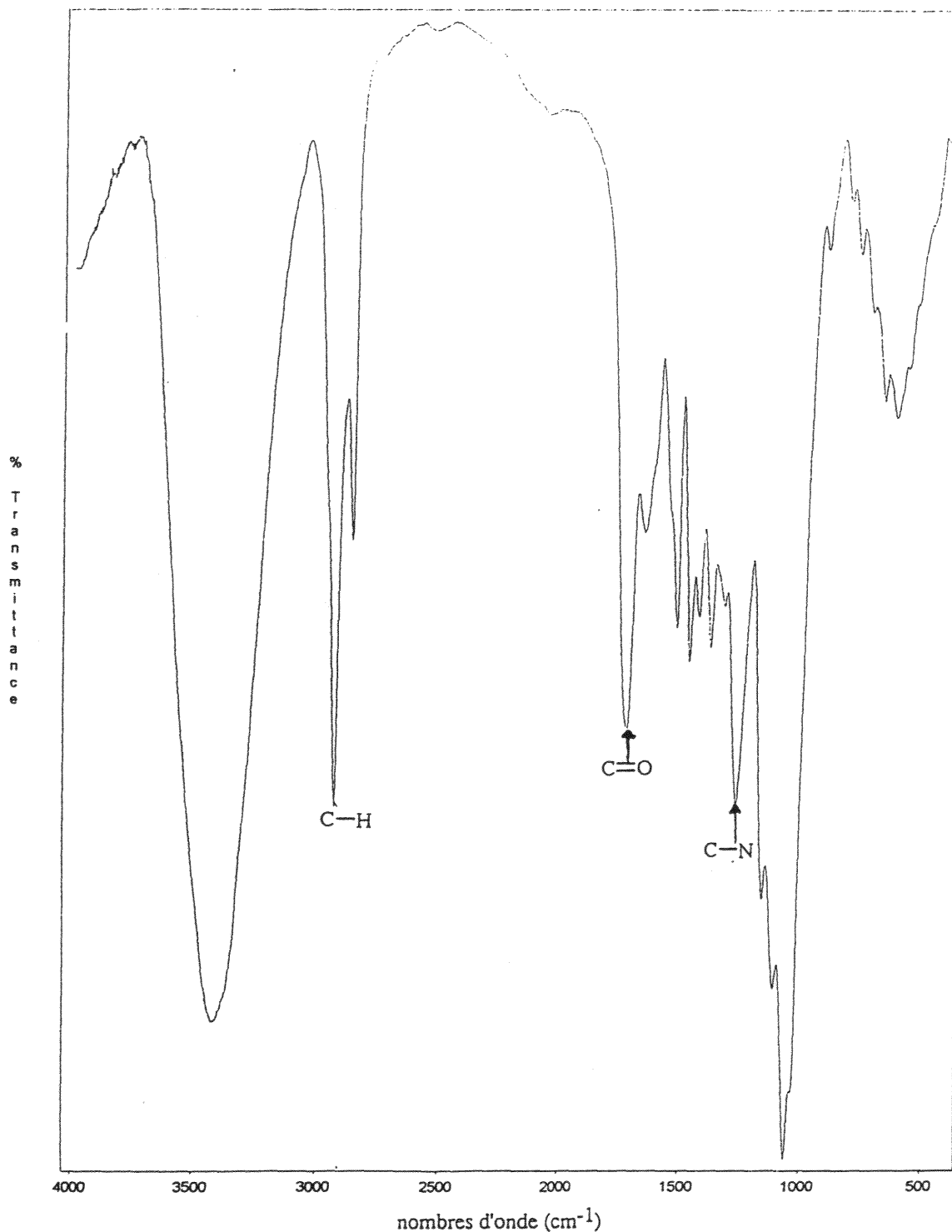


Figure 44 : Spectre infrarouge de la sciure d'Épicéa après réaction avec le mélange d'azidures d'acyle gras

VI. Détermination de l'activité lipolytique et dégradation d'acide gras

Avant d'exposer la sciure d'Épicéa modifiée par les deux méthodes décrites précédemment, une étude préliminaire est effectuée pour détecter :

- d'une part l'activité lipolytique de *Poria placenta* responsable de la pourriture cubique du bois.
- D'autre part, l'aptitude de cette souche à se développer sur un milieu où la seule source de carbone est l'acide gras.

VI.1 Milieu de mise en évidence de l'activité lipolytique

Généralement, ces milieux sont utilisés dans le domaine de l'agro-alimentaire. Ils sont souvent gélosés, doivent être dépourvus de substances inhibitrices et supporter la croissance de tous les microorganismes.

L'activité lipolytique peut être alors détectée par la mise en évidence de la disparition du substrat, ou par la révélation des acides gras libérés lors de l'hydrolyse.

Dans cette étude, on s'est intéressé à la disparition du substrat, qui est révélé par l'apparition de zones claires, ou plages de lyses autour du microorganisme.

Un milieu BYPTA (Annexe III : milieu de culture N° 2) est préparé, est coulé dans des boîtes de Pétri. Nous prélevons à partir d'une culture pure de *Poria placenta* cultivé sur un milieu malt-gélose (MG) (Annexe III : milieu de culture N° 1), une rondelle à l'aide d'un tube et d'une spatule. Celle-ci est déposée au milieu de la boîte de pétri contenant le milieu BYPTA. L'âge du champignon est de 24 heures.

Après 10 jours d'incubation à 25°C, le temps nécessaire pour que le champignon envahisse toute la surface de la boîte témoin, l'activité lipolytique est repérée sur le milieu BYPTA par la présence de plages de lyses (auréole translucide autour de la souche).

Nous mesurons le diamètre de plage de lyse, le résultat obtenu est présenté dans le tableau 23.

Tableau 23 : Mise en évidence de l'activité lipolytique de *Poria placenta* incubé 10 jours à 25°C sur le milieu BYPTA

Diamètre envahi par le mycélium en mm	diamètre de plage de lyse en mm
0	8

Le champignon ne montre pas de croissance sur ce milieu. Cependant, une auréole translucide de 8 mm de diamètre se forme autour de ce dernier.

L'absence de croissance de *Poria placenta* sur ce milieu nous a emmené à émettre quelques hypothèses :

L'auréole translucide peut être due :

- soit à la lyse des parois par le milieu et au déversement du contenu cellulaire dans ce dernier, ce qui peut expliquer l'arrêt total de la croissance du champignon,
- soit à une sécrétion enzymatique qui dégrade la tributyrine du milieu en libérant l'acide butyrique. Ceci entraînerait l'inhibition de la souche.

Pour vérifier l'effet létal du milieu, nous avons repiqué la souche cultivée sur le milieu BYPTA pendant 10 jours à 25°C, sur un milieu MG dépourvu de toute substance toxique ou inhibitrice.

Après 10 jours d'incubation à 25°C, le champignon a envahi toute la surface de la boîte de Pétri. Cette expérience nous prouve que le *Poria placenta* agit sur le substrat en sécrétant une/ou plusieurs enzymes extracellulaires capables d'hydrolyser la liaison ester de la tributyrine en libérant ainsi l'acide butyrique, qui peut inhiber la croissance de cette souche.

VI.2. Milieu de mise en évidence de la dégradation de l'acide gras

Pour détecter la dégradation des acides gras nous avons utilisé le milieu Vuillemin 1980, qui est un milieu où la seule source de carbone, indispensable au développement des microorganismes, est l'acide gras.

L'acide gras que nous avons étudié, est l'acide stéarique (C₁₈ saturé). Nous avons choisi ce dernier car le mélange d'acide gras utilisé pour la modification de la sciure d'Épicéa est en majorité formé d'acide stéarique (40 %).

Les milieux gélosés avec l'acide gras (Annexe III : milieu N°3) sont préparés et coulés en boîte de Pétri. L'acide gras a été introduit à raison de 5 mg par ml de milieu de culture.

L'acide stéarique se présentant sous forme solide est préalablement solubilisé dans l'acétone (0,5 g d'acide par 1 ml d'acétone) puis introduit rapidement dans le milieu porté à 70°C. Le milieu est agité jusqu'à complet refroidissement afin de répartir d'une façon homogène l'acide dans le milieu de culture. Lors du coulage, les boîtes sont laissées entrouvertes (sous la hotte et autour du bec), pour laisser s'évaporer l'acétone résiduel.

Nous prélevons à l'aide d'un emporte pièce un cylindre de 1 cm de diamètre, à partir d'une culture pure de *Poria placenta* âgée de 24 heures. Nous le déposons au centre des boîtes de Pétri contenant le milieu avec l'acide gras.

La lecture des plages de lyse est faite après 10 jours d'incubation à 25°C. Le résultat figure dans le tableau 24.

Tableau 24 : Mise en évidence de la dégradation de l'acide stéarique par le *Poria placenta* incubé 10 jours à 25°C sur le milieu Vuillemin

Diamètre envahi par le mycélium en mm	diamètre de plage de lyse en mm
36	0,1

Nous constatons que le *Poria placenta* cultivé sur un milieu minéral additionné d'acide stéarique comme seule source de carbone présente une plage de lyse très faible d'un dixième de millimètre. Cependant, le diamètre envahi par le champignon est de l'ordre de 36 mm.

Le développement de ce dernier, sur un milieu minimum additionné d'acide stéarique, met en évidence la capacité de cette souche à dégrader l'acide gras, à chaîne longue.

Conclusion

Cette étude préliminaire, nous permet de mettre en évidence deux points essentiels pour la suite de notre travail :

- d'une part la capacité du champignon à hydrolyser la liaison ester de la tributyrine.
- D'autre part, la dégradation de l'acide gras saturé à chaîne longue.

L'inhibition de la croissance de *Poria placenta* sur le milieu BYPTA peut être due à la sensibilité de cette souche pour les acides gras à chaîne courte, l'effet direct de ces derniers n'a pas été vérifié dans notre étude.

Cependant, ce phénomène a été observé dans plusieurs études réalisées, sur les effets d'acides gras sur les bactéries et sur les champignons.

Chappe 1990 a constaté que les acides gras à chaîne courte libérés lors de l'hydrolyse des liaisons esters ont des effets bactériostatiques ou bactéricides chez de nombreuses souches qui sont incapables de les dégrader. Certaines souches peuvent dégrader des acides gras à chaîne longue ou moyenne et être inhibées par des acides gras à chaîne courte.

Dalpe 1980, en étudiant l'action des lipides sur le développement de quelques espèces du genre *Ceratocystis*, a conclu que l'effet fongitoxique des acides gras saturés à nombre pair de carbone (C12, C20) diminue avec la longueur de leur chaîne carbonée.

VII. Exposition de la sciure modifiée au *Poria placenta*

Comme nous avons vu précédemment, cette souche est capable d'hydrolyser la liaison ester de la tributyrine par sécrétion enzymatique. C'est ce qui nous a guidé à choisir le protocole expérimental décrit ci-dessous.

Nous avons mis au point un protocole expérimental, qui nous permet d'une part d'exposer la sciure au champignon et d'autre part de récupérer facilement la sciure à la fin de l'expérience sans qu'elle soit mélangée avec les filaments mycéliens.

En effet, la présence de ces filaments peut nous induire en erreur lors d'analyse de la sciure au Spectrophotomètre Infrarouge (IR).

Le protocole consiste à mettre la sciure dans des pièges (Tubes en PVC de diamètre 1,7 cm et de longueur 3 cm) dont les deux extrémités sont fermées avec une membrane poreuse (diamètre des pores 0,2 μm). Voir schéma ci-dessous.

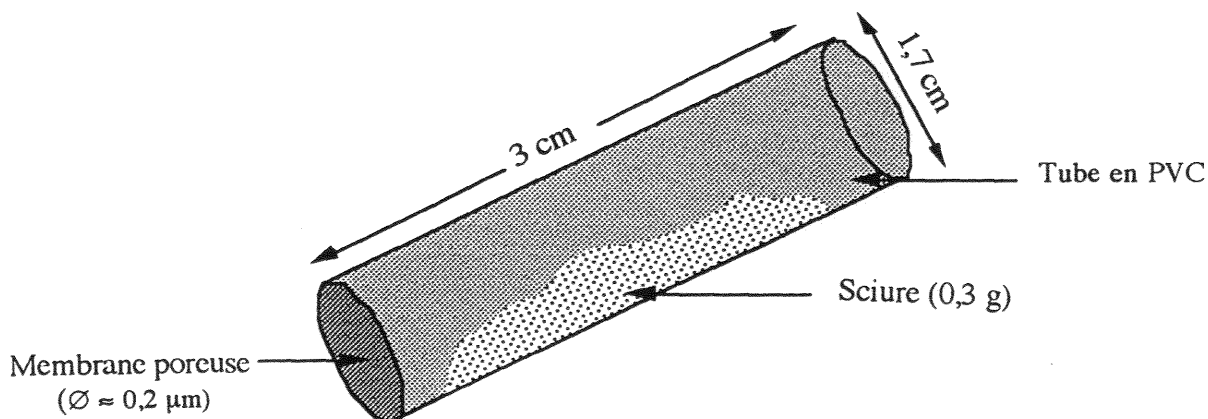


Schéma du piège utilisé pour tester l'action du champignon sur la sciure

Comme nous l'avons précisé précédemment ce dispositif, nous permet d'empêcher le champignon de rentrer en contact direct avec la sciure.

VII.1. Milieu de culture

Nous avons utilisé un milieu de culture minéral additionné ou non d'une source de carbone, facilement assimilable par le champignon tel que le glucose. La composition du milieu de culture est donnée en annexe III : milieu N°4.

La sciure modifiée est mise dans des pièges en PVC, à raison de 0,3 g par tube. Après stérilisation à l'autoclave, nous introduisons aseptiquement ces pièges dans des erlens contenant chacun 150 ml de milieu de culture stérile. La solution de glucose stérile est ajoutée de telle façon à avoir une concentration de 1 %.

L'inoculation de ces milieux se fait avec des rondelles provenant d'une culture pure de *Poria placenta*, âgée de 24 heures.

Des pièges avec sciure sont mis dans des milieux de culture additionnés ou non de glucose afin d'estimer l'influence de ces derniers sur la sciure. Les erlens sont incubés à 25°C, sous agitation pendant 7, 14 et 21 jours.

A la fin de chaque expérience, la sciure est récupérée, lavée à l'eau distillée, séchée à l'étuve à 80°C et analysée au spectromètre infrarouge.

VII.2. Résultats et discussions

Les spectres infrarouge des sciures d'Épicéa, exposées ou non au *Poria placenta* pendant 7 et 14 jours, en absence ou en présence de glucose, ne présentent aucune différence par rapport aux spectres des sciures exposées ou non au *Poria placenta* pendant 21 jours, en absence ou en présence de glucose.

Pour cette raison, nous ne présentons dans les résultats qui suivent, que les spectres infrarouges d'Épicéa exposées ou non pendant 21 jours.

Les sciures modifiées par un mélange de chlorures d'acides gras, et mises dans le milieu de culture pendant 21 jours sans champignon, en absence de glucose (figure 45.A), ou en présence de glucose (figure 45.B), ne montrent aucune différence entre les deux spectres.

La présence de glucose dans le milieu de culture n'altère pas la liaison ester. De même, nous constatons que le milieu de culture n'influence pas la sciure d'Épicéa modifiée par un mélange d'azidures d'acyle gras. Cette sciure est mise dans le milieu de culture sans champignon pendant 21 jours, en absence de glucose (figure 46.A) et en présence de glucose (figure 46.B).

Ces expériences, nous montrent que le milieu de culture n'a aucune influence sur les sciures d'Épicéa modifiées soit par un mélange de chlorures d'acides gras, soit par le mélange d'azidures d'acyle gras.

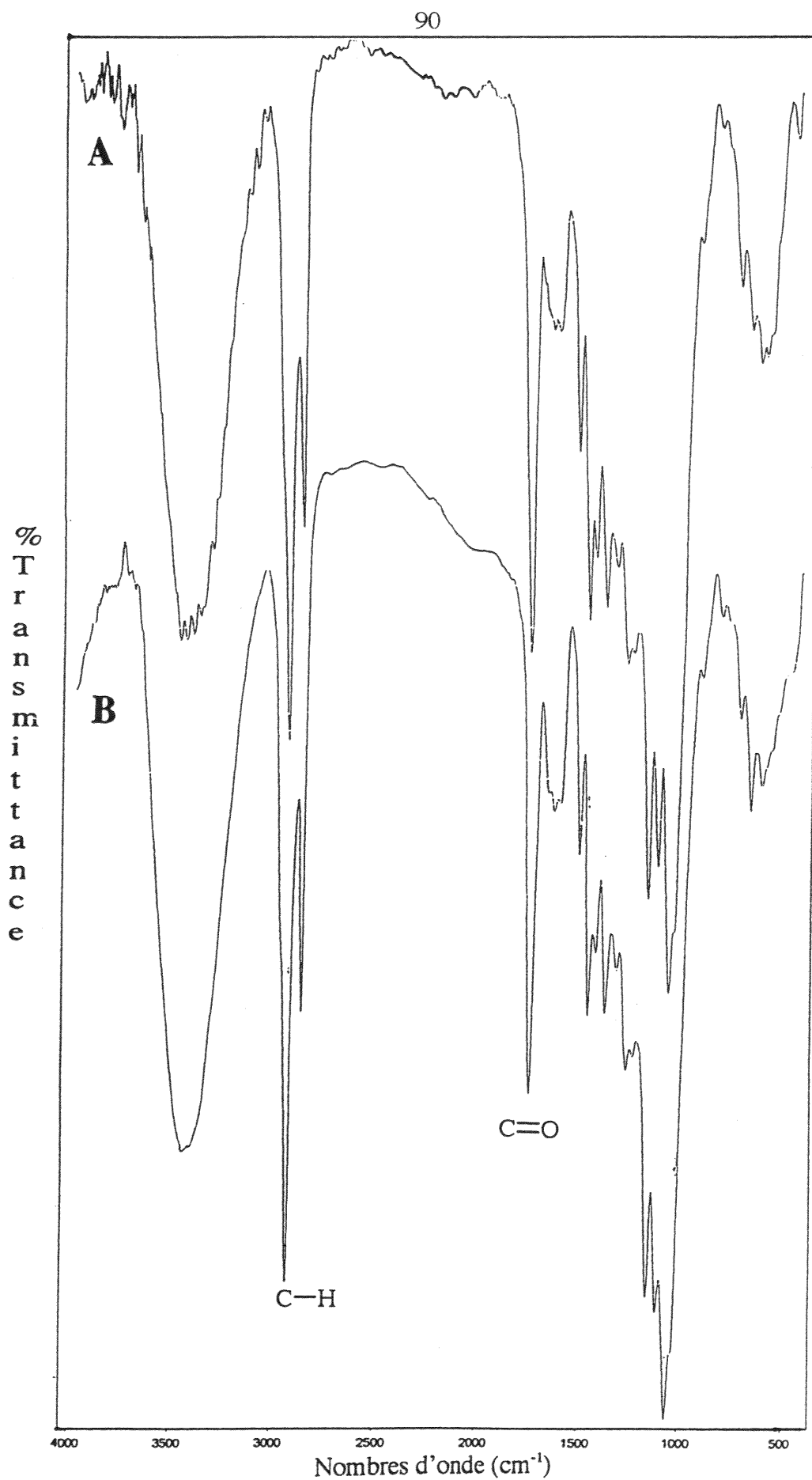


Figure 45 : Spectres infrarouge de la sciure d'Épicéa modifiée par un mélange de chlorures d'acide gras et mise dans le milieu de culture sans champignon pendant 21 jours. **A** : en absence de glucose et **B** : en présence de glucose

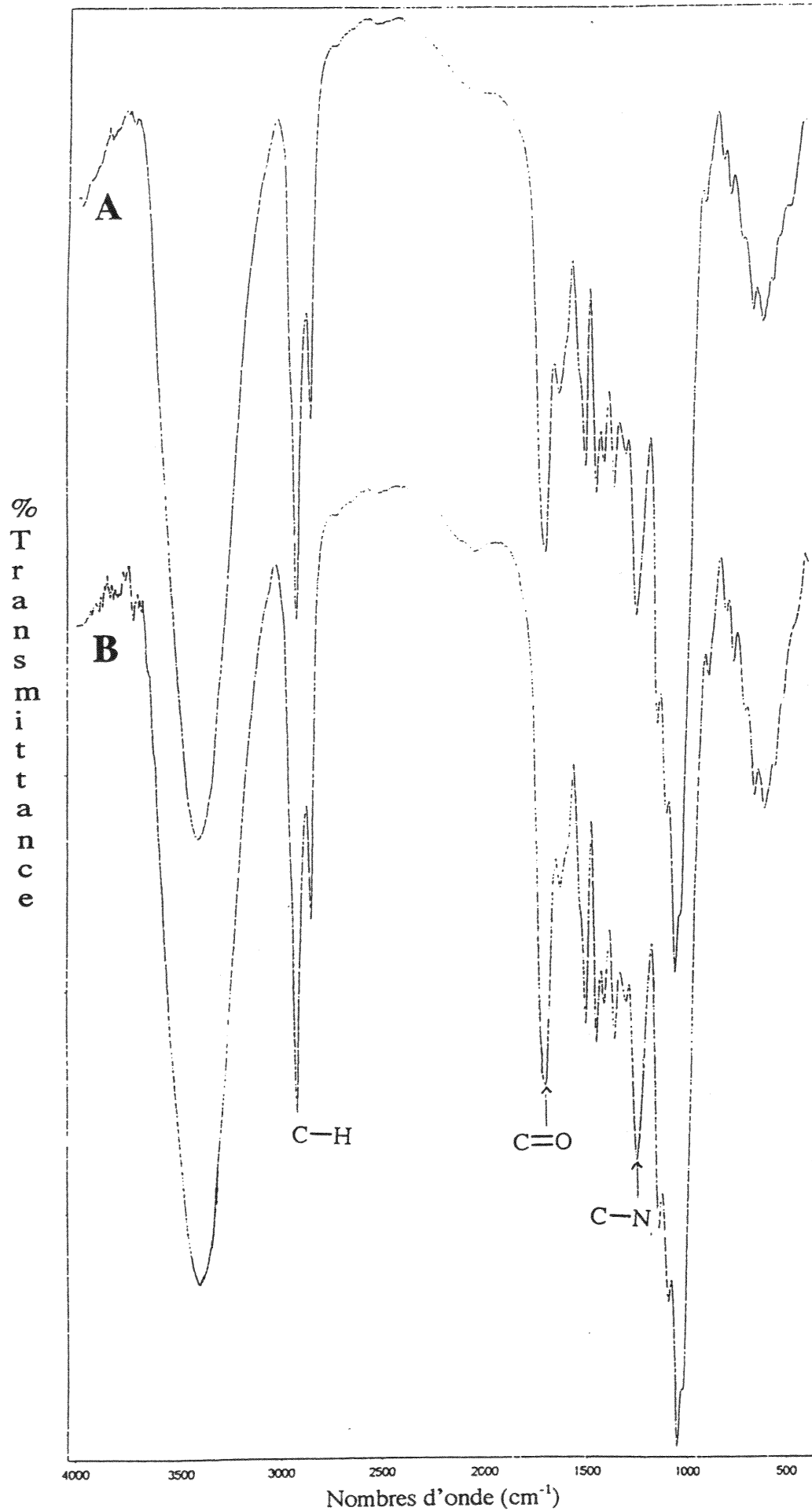


Figure 46 : Spectres infrarouge de la sciure d'Épicéa modifiée par le mélange d'azidures d'acyle gras et mise dans le milieu de culture sans champignon pendant 21 jours. **A** : en absence de glucose et **B** : en présence de glucose

Les figures 47 et 48 représentent respectivement les sciures d'Épicéa modifiées par un mélange de chlorures d'acides gras et par le mélange d'azidures d'acyle gras, et exposées au champignon pendant 21 jours.

Dans l'étude préliminaire (cf VI), nous avons mis en évidence que le *Poria placenta* en présence de tributyrine secrète une ou plusieurs enzymes capables d'hydrolyser la liaison ester.

La présence de glucose comme source de carbone dans le milieu de culture nutritif favorise d'une part la production lipasique (Nadkarni, 1971.a), et d'autre part, la synthèse des petits catalyseurs non protéiniques (H_2O_2) (Koenigs, 1972. a, b) capables de pénétrer, de gonfler et d'ouvrir le complexe cellulosique ainsi permettant aux cellulases extracellulaires de dégrader la cellulose (Highley, 1980).

Les spectres infrarouge de la sciure modifiée par le mélange de chlorures d'acide gras (figure 47), et exposée au *Poria placenta* pendant 21 jours, en absence de glucose (figure 47.A) et en présence de glucose (figure 47.B), ne montrent aucune modification des spectres (IR).

En effet, la bande de vibration $\nu(C=O)$ caractéristique de la liaison ester, qui apparaît sur le spectre à 1740 cm^{-1} , et les bandes de vibrations $\nu(C-H)$ qui apparaissent à 2920 et 2850 cm^{-1} , restent intactes après exposition au *Poria placenta* pendant 21 jours.

Ceci montre que, *Poria placenta* cultivé sur un milieu favorable à sa croissance, et à sa production enzymatique est incapable de dégrader les liaisons esters. De même aucune modification des spectres infrarouges n'est constatée pour la sciure d'Épicéa modifiée par un mélange d'azidures d'acyle gras (figure 48), après exposition au *Poria placenta* pendant 21 jours, en absence de glucose (figure 48.A) et en présence de glucose (figure 48.B).

Les bandes caractéristiques du bois modifié avec les azidures d'acyle gras : $\nu(C=O)$ à 1700 cm^{-1} , $\nu(C-N)$ à 1260 cm^{-1} et $\nu(C-H)$ à 2900 cm^{-1} , n'ont subi aucune modification après exposition au *Poria placenta* pendant 21 jours.

L'étude de la sciure d'Épicéa modifiée par une liaison ester ou uréthane et exposée au *Poria placenta* pendant 21 jours, dans un milieu de culture favorable à la croissance et à la production enzymatique de ce dernier, montre une résistance à l'attaque de ce champignon.

Cette modification de la structure chimique du bois peut donc apporter une réponse aux problèmes de la préservation du bois d'une part et à sa stabilité dimensionnelle d'autre part.

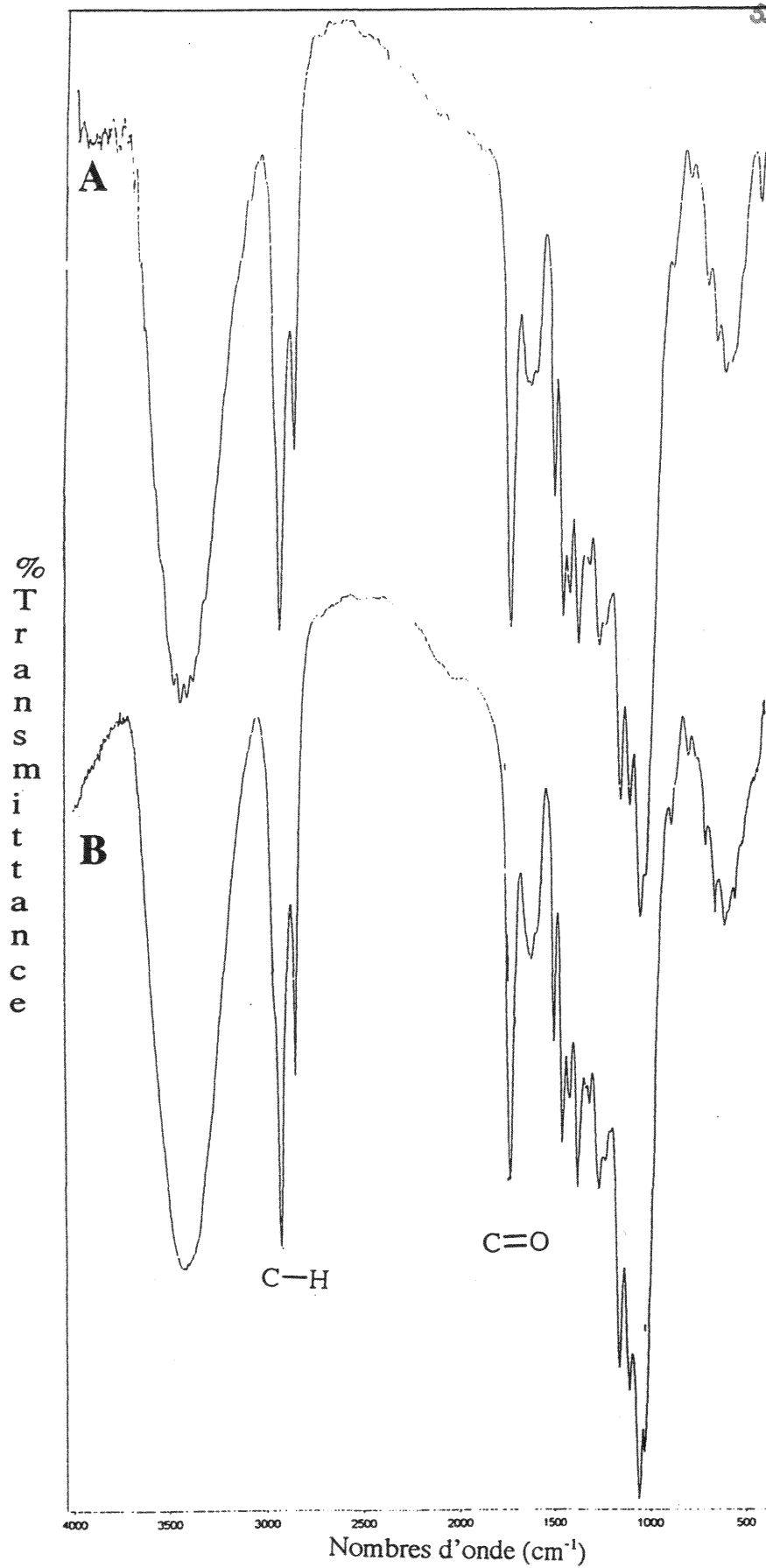


Figure 47 : Spectres infrarouge de la sciure d'Épicéa modifiée par le mélange de chlorures d'acide gras et exposée au *Poria placenta* pendant 21 jours. **A** : en absence de glucose et **B** : en présence de glucose

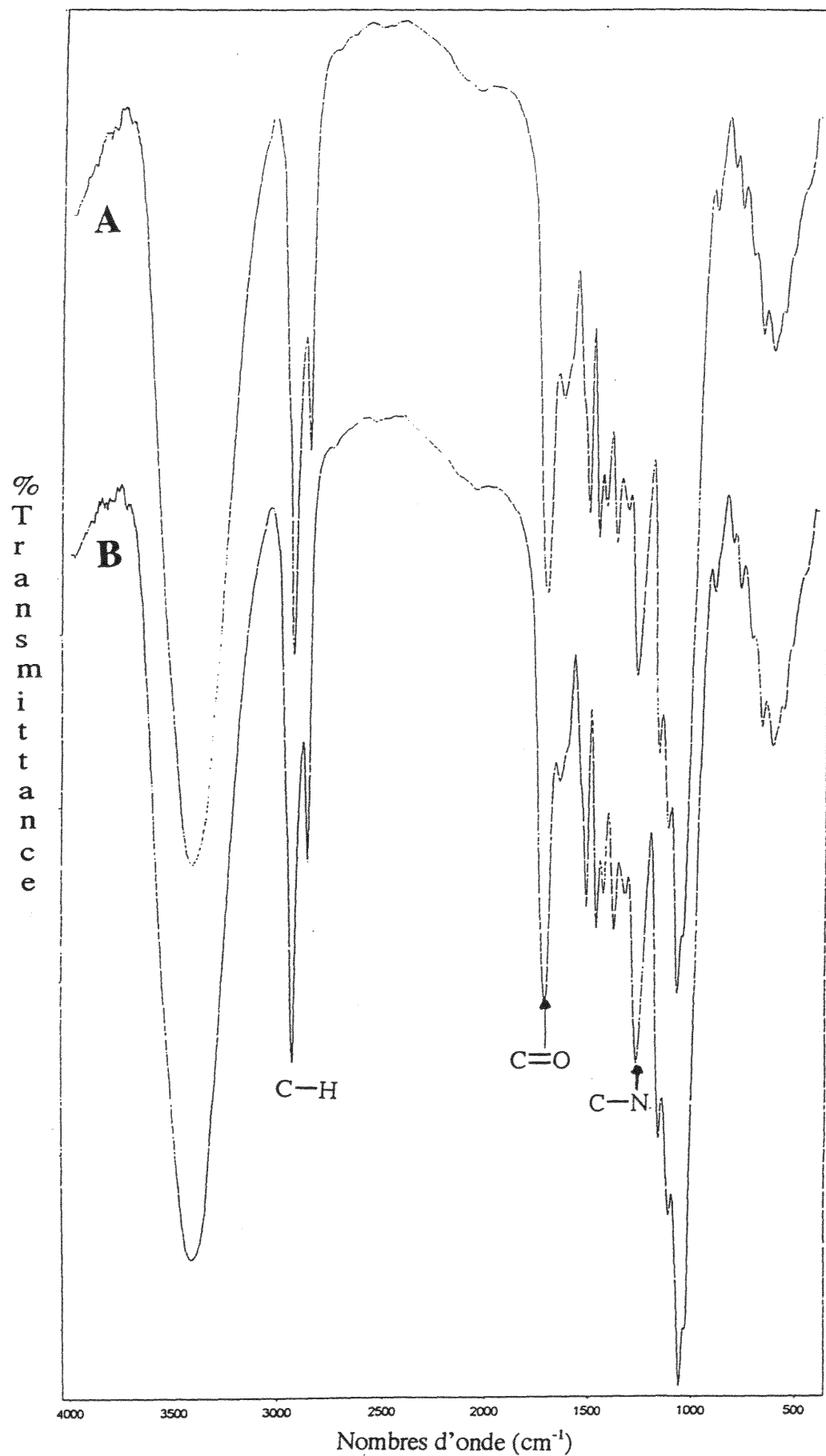


Figure 48 : Spectres infrarouge de la sciure d'Épicéa modifiée par le mélange d'azidures d'acyle gras et exposée au *Poria placenta* pendant 21 jours. A : en absence de glucose et B : en présence de glucose

CONCLUSION GENERALE

Les différents objectifs que nous nous étions fixés, ont été atteints.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'utilisation de tétrafluoroborates et d'hexafluorophosphates d'ammonium quaternaire à chaînes grasses comme agents de préservation du matériau bois.

Des expériences réalisées sur milieu artificiel (Malt-Gélose) ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices de ces produits vis-à-vis de différents champignons, deux pourritures blanches (*Poria placenta* et *Phanerochaeta chrysosporium*) et deux pourritures brunes (*Coriolus versicolor* et *Gloeophyllum trabeum*). Les résultats montrent que les sels d'ammonium modifiés possèdent des activités fongicides comparables à celle des sels d'ammonium de départ.

Nous avons ensuite étudié l'imprégnation des éprouvettes de Pin sylvestre et de Hêtre par ces différents produits. Les sels d'ammonium modifiés étant insolubles dans l'eau, le traitement du bois a été effectué de deux façons : soit en utilisant des microémulsions des produits, soit en préparant ceux-ci au sein du bois, à l'aide de deux traitements successifs. Les lessivages réalisés sur des éprouvettes traitées montrent que la rétention des sels modifiés est fortement améliorée comparée à leurs analogues de départ (Gains de masse de 7,5% en moyenne pour les microémulsions, 9,1% pour les traitements en deux temps alors que ce gain de masse n'est que de 4,4% pour les sels d'ammonium non modifiés).

Des analyses au Microscope Electronique à Transmission nous ont permis de confirmer ces résultats par dosage de la quantité d'azote dans le bois. La modification de la structure chimique du sel permet d'augmenter sa résistance au lessivage et conduit à des taux d'azote plus élevés pour les éprouvettes traitées avec les sels modifiés.

L'analyse au Microscope Electronique à Balayage des éprouvettes traitées puis lessivées montre que les sels d'ammonium modifiés se situent au niveau des cavités cellulaires, alors que le sel d'ammonium non modifié est difficilement visible.

Des éprouvettes traitées puis lessivées ont finalement été soumises à l'action de *Poria placenta* et *Coriolus versicolor* pendant quatre mois. Dans ces conditions, les éprouvettes traitées par les sels d'ammonium modifiés ou non sont protégées, alors que les éprouvettes témoins sont dégradées. Il serait intéressant de mener des essais de champs sur une plus longue durée afin de mieux cerner la différence entre ces deux types de produits.

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à l'étude du comportement biologique de sciure d'Épicéa modifiée par des motifs acyles à longue chaîne carbonée face à *Poria placenta*. Après avoir montré en boîte de Pétri que *Poria placenta* était capable

d'hydrolyser la fonction ester de la tributyrine, nous avons montré qu'il était sans effet sur les fonctions esters des motifs acyles greffées sur le bois.

Les mêmes résultats ont été obtenus avec des sciures modifiées à l'aide de fonction carbamate à longue chaîne carbonée.

Ces résultats Très intéressants montrent que le bois modifié chimiquement peut apporter des réponses aux problèmes de stabilité dimensionnelle tout en préservant de l'attaque des champignons.

BIBLIOGRAPHIES

AFNOR (1980) - Produits de préservation des bois détermination du seuil d'efficacité contre les champignons Basidiomycètes lignivores cultivés sur milieu gélosé. Norme Européenne EN 113.

AFNOR (1976) - Préservation du bois dans la construction. NF x 40-500. pp.35.

AMUSANT N. (1996) - Détermination de l'efficacité du mélange complexe cuivre/tanin vis-à-vis des champignons de la pourriture molle et d'autres micro-organismes du sol. D.E.A. Sciences du bois, Université Henri Poincaré, Nancy I.

ANDER P., and ERIKSSON K. E. (1985) - Methanol formation during lignin degradation by *Phanerochaete chrysosporium*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 21., 96-102.

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.

BEZERT G. (1994) - Détermination du mode d'action de bactéries du genre bacillus et d'actinomycètes ayant un pouvoir antagoniste in vitro sur les champignons responsables du bleuissement du bois. D.E.A. Sciences du bois, Université Henri Poincaré, Nancy I.

BUTCHER J.A., PRESTON A.F., and DRYSDALE J. (1979) - Potentiel of unmodified and copper modified alkyl ammonium compounds as ground line preservatives. N.Z.J.For.Sci, 9 (3), 348-358.

CHAPPE P. (1990) - Etude de micro-organismes lipolytiques de boues activées de stations d'épuration. Thèse de l'Université de Nancy I.

COOMBS R.W., and TRUST T.J. (1973) - The effect of light on the antibacterial activity of β -thujaplicin. Can. J. Microbiol., 19, 1177-1180.

CORE H.A., COTE W.A. and DAY A.C. (1979) - Wood. Structure and identification. 2 nd edition, Syracuse University Press, pp. 182.

COUTROT D. (1997) - Le bois et ses industries. Que sais-je ? Presses Universitaires de France pp 127.

COWLING E.B. (1961) - Comparative biochemistry of the decay of sweetgum sapwood by white-rot and brown-rot fungi. US. Dep. Agric. Tech. Bull. N°. 1258, pp 1-75.

CTBA. (1991) - EN 335-2 Bois ouvrages en bois. Analyses des risques biologiques. Définitions des classes. Spécifications minimales de préservation à titre préventif et bois : mode d'emploi et préservation, NF B 50-100.

DALPE Y., et MONTANT CH. (1980) - L'effet d'acides gras saturés et insaturés sur la croissance et la fructification de quelques espèces du genre *Ceratocystis*. Can. J. Bot., 58, 2543-2548.

DEWAYNE C. T. (1967) - Fungicides an advanced treatise. Volume I. Agricultural and Industriel Applications Environmental Interactions. Academic Press New York and London.

EFRANSJAH M. (1988) - Contribution à l'étude de la préservation du bois : amélioration de l'imprégnabilité de l'épicéa (*Picea sp.*) par un pré-traitement bactérien et caractérisation du comportement du bois par l'utilisation des ultrasons. Thèse de l'Université de Nancy I.

ERIKSEN J., and GOKSYR J. (1977) - Cellulases from *Chaetium thermophilum* var. *dissitum*. European Journal of Biochemistry, 77, 445-450.

ERIKSSON K. E., PETTERSON B., VOIC J., and MUSILEK. (1986) - Formation and partial charaterization of glucose-2-oxidase, a H_2O_2 producing enzym in *Phanerochaete chrysosporium*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 23, 257-262.

ERIKSSON K.E. (1978) - Enzyme mechanisms involved in cellulose hydrolysis by the rot fungus *Sporotrichum pulverulentum*. Biotechnology and Bioengineering, 20, 317-332.

ERIKSSON K.E., and PETTERSSON B. (1973) - Extracellular enzyme system utilised by the rot fungus *Sporotrichum pulverulentum* (*Chrysosporium lignorum*) for the breakdown of cellulose. 1. Separation, purification and physico-chemical characterisation of five endo-1,β-glucanases. European Journal of Biochemistry, 51, 193-206

FAISON B. D., and KIRK T. K. (1983) - Relationship between lignin degradation and production of reduced oxygen species by *Phanerochaete chrysosporium*. Appl. and Environ. Microbiol., 46 (5)., 1140-1145.

FAIX O., MOZUCH M. D., and KIRK T. K. (1985) - Degradation of gymnosperme (Guaiacyl) VS. Angiosperme (Syringyl/Guaiacyl) lignins by *Phanerochaete chrysosporium*. Holzforschung., 39, 203-208.

FORNEY L. J., REDDY C. A., TIEM M., and AUST S. D. (1982 b) - The involvement of hydroxyl radical derived from hydrogen peroxide in lignin degradation by the white-rot fungus : *Phanerochaete chrysosporium* J. Biol. Chem., 257 (19), 1455-1462.

FREUDENBERG K., and NEISH A. C. (1968) - The constitution and biosynthesis of lignin. Molecular. Biochemistry and Biophysics, 2, Springer-verlag, Berlin-heidelberg., 113.

GADAT F. (1983) - Etude des techniques permettant d'estimer l'action de fongicides dans le cadre de la préservation du bois. D.E.A., de Nancy I, 97 pp.

GADAT F. (1986) - Contribution à l'étude de la préservation des bois de hêtre et de pin. Influence des fongicides classiques et nouvellement synthétisés sur des germes lignivores. Thèse Sciences du bois, Université de Nancy I.

GERARDIN P., MAURIN E., and LOUBINOUX B. (1995) - Reaction of wood with isocyanates generated in situ from acyl azides. Holzforschung., 49 (4), 379-381.

GOLD M. H., KUWAHARA., CHIU A. A., and GLENN J. K. (1984) - Purification and characterization of extracellular H_2O_2 requiring diacylpropane oxygenase from the white-rot basidiomycetes *Phanerochaete chrysosporium*. Arch. Biochem. And Biophysica., 234 (2), 353-362.

Grand Larousse Medical (1984) - pp. 54-55.

HENSLEY J.R., and HANSON J.B. (1975) - The action of valinomycin in uncoupling corn mitochondria. Plant Physiol., 56, 13-18

HIGHELY T.L. (1973) - Influence of carbon source on cellulase activity of white-rot and brown-rot fungi. Wood and Fiber., 5 (1), 50-58.

HIGHLEY T. L. (1976) - Hemicellulases of white and brown-rot fungi in relation to host preferences. Mat. U. Org., 11 (1), 25-36.

HIGHELY T.L. (1978) - Degradation of cellulose by culture filtrate of *Poria placenta*. Material und Organismen, 12, 161-174.

HIGHLEY T. L. (1982 a) - Influence of type and amount of lignin on decay by *Coriolus versicolor*. Can. J. Forest. Research., 12, 435-438.

HIGHLEY T. L., MURMANIS L. L., and PALMER J.G. (1984) - Ultrastructural aspect of cellulose decomposition by white rot fungi. Holzforschung, 38, 73-78.

I-R-A-Bois. (1988) - La préservation du bois. Institut de recherches appliquées au bois, N° 14.

ISOMAA B. (1984) - Membrane-perturbing and lytic properties of surface-active alkyl-trimethylammonium salts., Ecol. Bull. Stockholm., 36, 26-30.

KARLSON I., SVALBE K., NEIMANIS E., OZOLINA I., and STERNIS S. (1974) - "Modified wood"., URSS (CA, 86, 18650 x), 525-532.

KEYSER P., KIRK T. K., and ZEIKUS J. G. (1978) - Ligninolytic enzyme system of *Phanerochaete chrysosporium* synthesized in the absence of lignin in response to nitrogen starvation. Journal of Bacteriology, 135, 790-797.

KIRK T. K., SCHULTZ E., CONNORS W. J., LORENZ L. F., and ZEIKUS J. G. (1978) - Influence of culture parameters on lignin metabolism by *Phanerochaete chrysosporium*. Archives of Microbiology, 117, 277-285.

KIRK T. K., and SHIMADA M. (1985) - Lignin biodegradation : The micro-organisms involved and the physiology and biochemistry of degradation by white-rot fungi. Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components, pp, 579-605.

KOENIGS J.W. (1972-a) - Effects of hydrogen peroxide on cellulose and its susceptibility to cellulase. Material und Organismen, 7, 133-147.

KOENIGS J.W. (1972-b) - Production of extracellular hydrogen peroxide and peroxidase by wood-rotting fungi. Phytopathology, 62, 100-110.

KOENIGS J.W. (1974-b) - Production of hydrogen peroxide by wood-decaying fungi in wood and its correlation with weight loss, depolymerisation and pH changes. Archives Microbiology, 99, 129-145.

KONISHI K., and INOUE Y. (1971) - Decomposition of lignin by *Coriolus versicolor*. I, II and III, Mokuzaï Gakkaishi, 17, 209, 214 and 255.

LAWRENCE R.C. (1967) - Microbial lipases and related esterases. I - Detection, distribution and production of microbial lipases. Dairy. Sci. Abstr., 29 (1), 1-8.

LEIGHTLEY L. E. (1984) - The use of ^{13}C CP/MAS NMR in the chemical identification of decayed and undecayed tropical timber Species. The Inter. Res. Group on Wood Preserv.

LOUBINOUX B., MALEK H., JOLY J.P., and KILBERTUS G. (1992) - Interaction of quaternary ammonium salts with wood : Influence of cation and anion structure on fixation and leaching. Forest Products journal **42**. 10. 55-58.

LYNEN F., and OCHOA S. (1953) - Enzymes of fatty acids metabolism. Biochem. Biophys. Acta., 12, 299-314.

MALEK H. (1991) - Essais de modification de la structure chimique de matériaux lignocellulosiques naturels. Etude des interactions sels d'ammonium-Bois. Thèse de L'Université de Nancy I.

MATSUDA H. (1993) - Preparation and properties of oligoesterified wood blocks based on anhydride and epoxide. Wood Science Technology., 27, 23-34.

MATSUDA H., and UEDA M. (1985 a) - Preparation and utilisation of esterified woods bearing carboxyl groups VII. Plasticity of epoxide adducted woods and oligoesterified woods derived from esterified woods. Mokuzaï Gakkaishi., 31(7), 579-586.

MAURIN E. (1996) - Modification de la structure chimique du bois. Méthodologie de synthèse et recherche de nouvelles propriétés biologiques ou physico-chimiques. Thèse de L'Université Henri Poincaré, Nancy I.

MORELAND D.E., and HUBER S.C. (1978) - Fluidity and permeability changes induced in the inner membrane by herbicides. in : Plant mitochondria, Biomedical press, 191-198.

MORET D. (1996) - Utilisation de biomolécules d'origine végétale à activité biocide élevée comme agents de substitution des produits chimiques toxiques de préservation du bois. Application aux tropolones. D.E.A. Sciences du bois, Université Henri Poincaré, Nancy I.

MOUREY A. (1989) - La lipolyse en milieux naturels et manipulés. Thèse d'état de l'Université de Nancy I. 211 pages.

MOUREY A., and KILBERTUS G. (1976) - Simple media containing stabilized tributyrin for demonstrating lipolytic bacteria in foods and soils. *J. Appl. Bacteriol.*, 40, 47-51.

MURMARIS L., HIGHLEY T.L., MADISON W.I., and PALMER J.G. (1987) - Cytochemical localization of cellulases in decayed and nondecayed wood. *Wood. Sci. Technol.* 21 : 101-109.

NADKARNI S. R. (1971 a) - Studies on bacterial mlipase. I. Nutritional requirements of *Pseudomonas aeruginosa* for production of lipase. *Enzymologia*, 40, 286-301.

NILSSON T., and DANIEL G. (1987) - Influence of variable lignin content on brown-rot decay of wood. Doc. IRG/WP/1320.

OERTEL J. (1965) - Novel wood preservatives of good leaching resistance, based on water soluble organic compounds, and their potentiel uses. *Holztechnikol.*, 6 (4), 243-247.

PETERSON M. D., and THOMAS R. J. (1979) - Protection of wood from decay fungi by acetylation -an ultrastructural- and chemical study. *Journal of wood and fiber.*, 10 (3), 149-163.

PRESTON A. F., and LEHONG J. (1991) - Wood research on alkyl ammonium and their effect on preservative performance. *The chemistry of wood preservation.* pp. 93-95.

REID J. D., and SEIFFERT K. A. (1982) - Effect of an atmosphere of oxygen on growth, respiration and lignin degradation by white-rot fungi. *Can. J. Bot.*, 60, 252-260.

RICHARDSON B. A. (1972) - Sapstain control. *Paperi. Ja. Puu.*, 10, 610-624.

ROUSSEL C. (1997) - Etude des propriétés mécaniques de bois chimiquement et biologiquement modifiés. D.E.A. Sciences du bois, Université Henri Poincaré, Nancy I.

RUDDICK J.N.R. (1981) - Testing of alkyl ammonium compounds. IRG/ WP/ 2152.

RUDDICK J.N.R. (1983) - Field testing of alkyl ammonium wood preservatives. IRG/ WP/ 3248.

RUDDICK J.N.R. (1987) - A field evaluation of modified and unmodified alkylammonium compounds. IRG/ WP/ 3436.

SALTON M. R. J. (1951) - The adsorption of Cetyltrimethylammonium bromide by bacteria, its action in releasing cellular constituents and its bactericidal effect. *J. Gen. Microbiol.*, 5,-391-404.

STEFFANN S. (1987) - Effets de sels d'alkylammonium sur les propriétés de mitochondries isolées d'*Agaricus bisporus*. D.E.A. Sciences du bois. Université de Nancy I.

THIEBAUT S., and BORREDON M.E. (1995) - Solvent-free wood esterification with fatty acid chlorides. *Bioresource technology.*, 52 (2), 163-173.

TILLOT R. J., and COGGINGS C. N. (1981) - Non -arsenical water - borne preservatives, a review of performance and properties. B.W.P.A. Annual convention.

VUILLEMIN N. (1980) - Contribution à l'étude des micro-organismes sur les matières grasses. Thèse d'état de l'Université René Descartes de Paris., 121 pages.

WEIL J. H. (1983) - Biochimie générale. Ed. Masson. 470 pages.

YAMANE T. (1987) - Enzyme technology for the lipids industry : An Engineering Overview. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 64 (12), 1657-1662.

YANG H. H., EFELAND M. J., and KIRK T. K. (1980) - Factors influencing fungal degradation of lignin in a representative lignocellulosic thermochemical pulp. *Biotechnol. and Bioengineering*, XXII., 65-77.

ANNEXE I :

***IMPREGNATION DU BOIS DE PIN
SYLVESTRE ET DU HÊTRE***

m_0 : Masse anhydre initiale.

m_1 : Masse anhydre après traitements.

Δm : Quantité de produits retenus sur le bois avant lessivage.

m_2 : Masse anhydre après traitements et lessivage.

$\Delta' m$: Quantité de produits retenus sur le bois après lessivage.

Tableau 1 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Pin sylvestre après imprégnation sous vide avec des solutions à concentration croissante de T₈₀.

Concentrations (% massique)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
0,12	8,851 (± 0,873)	8,869 (± 0,869)	0,018 (± 0,004)	8,818 (± 0,871)	- 0,034 (± 0,003)
0,25	8,529 (± 0,654)	8,543 (± 0,651)	0,014 (± 0,004)	8,491 (± 0,646)	- 0,038 (± 0,01)
0,5	7,836 (± 0,183)	7,937 (± 0,183)	0,101 (± 0,001)	7,864 (± 0,187)	0,028 (± 0,007)
1	9,405 (± 0,262)	9,580 (± 0,260)	0,175 (± 0,005)	9,501 (± 0,266)	0,096 (± 0,004)

Tableau 2 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Pin sylvestre après imprégnation sous vide avec des solutions de T₈₀ suivie par un traitement avec une solution à 1 équivalent molaire de NaBF₄.

Concentrations (% massique)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
0,12	8,772 (± 0,882)	8,796 (± 0,878)	0,025 (± 0,004)	8,725 (± 0,879)	- 0,047 (± 0,01)
0,25	8,789 (± 0,992)	8,787 (± 0,981)	- 0,002 (± 0,01)	8,721 (± 0,979)	- 0,068 (± 0,01)
0,5	8,727 (± 0,865)	8,829 (± 0,861)	0,102 (± 0,005)	8,758 (± 0,864)	0,031 (± 0,007)
1	9,781 (± 0,343)	9,994 (± 0,350)	0,213 (± 0,009)	9,908 (± 0,343)	0,127 (± 0,007)

Tableau 3 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Pin sylvestre après imprégnation sous vide avec des solutions de T₈₀ suivie par un traitement avec une solution à 1 équivalent molaire de KPF₆.

Concentrations (% massique)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
0,12	9,144 (± 0,749)	9,161 (± 0,740)	0,017 (± 0,009)	9,101 (± 0,739)	- 0,043 (± 0,01)
0,25	9,249 (± 0,706)	9,271 (± 0,694)	0,021 (± 0,01)	9,222 (± 0,691)	- 0,028 (± 0,015)
0,5	8,002 (± 0,159)	8,114 (± 0,163)	0,112 (± 0,004)	8,044 (± 0,168)	0,042 (± 0,01)
1	9,507 (± 0,898)	9,718 (± 0,882)	0,211 (± 0,02)	9,642 (± 0,988)	0,135 (± 0,01)

Tableau 4 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Pin sylvestre après imprégnation sous vide avec des solutions à concentration croissante de B₈₀.

Concentrations (% massique)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
0,12	10,814 (± 0,518)	10,798 (± 0,514)	- 0,016 (± 0,005)	10,730 (± 0,514)	- 0,084 (± 0,005)
0,25	8,733 (± 0,895)	8,758 (± 0,887)	0,025 (± 0,01)	8,688 (± 0,884)	- 0,045 (± 0,02)
0,5	8,654 (± 0,921)	8,784 (± 0,919)	0,130 (± 0,003)	8,660 (± 0,912)	0,006 (± 0,01)
1	8,711 (± 0,577)	8,818 (± 0,572)	0,107 (± 0,006)	8,734 (± 0,566)	0,024 (± 0,01)

Tableau 5 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Pin sylvestre après imprégnation sous vide avec des solutions de B₈₀ suivie par un traitement avec une solution à 1 équivalent.molaire de NaBF₄.

Concentrations (% massique)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
0,12	9,107 (± 0,677)	9,093 (± 0,667)	- 0,014 (± 0,01)	9,030 (± 0,667)	- 0,077 (± 0,016)
0,25	9,013 (± 0,984)	9,009 (± 0,971)	- 0,004 (± 0,014)	8,932 (± 0,967)	- 0,081 (± 0,02)
0,5	8,828 (± 0,958)	8,939 (± 0,952)	0,111 (± 0,01)	8,808 (± 0,943)	- 0,021 (± 0,017)
1	8,771 (± 0,646)	8,931 (± 0,639)	0,160 (± 0,006)	8,825 (± 0,630)	0,054 (± 0,02)

Tableau 6 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Pin sylvestre après imprégnation sous vide avec des solutions de T₈₀ suivie par un traitement avec une solution à 1 équivalent molaire de KPF₆.

Concentrations (% massique)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
0,12	10,193 (± 0,267)	10,189 (± 0,270)	- 0,004 (± 0,003)	10,126 (± 0,277)	- 0,067 (± 0,011)
0,25	8,865 (± 0,995)	8,886 (± 0,987)	0,021 (± 0,011)	8,800 (± 0,985)	- 0,065 (± 0,01)
0,5	8,672 (± 1,047)	8,836 (± 1,041)	0,164 (± 0,007)	8,721 (± 1,032)	0,049 (± 0,012)
1	9,116 (± 0,830)	9,286 (± 0,818)	0,170 (± 0,01)	9,192 (± 0,813)	0,076 (± 0,02)

Tableau 7 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Hêtre après imprégnation sous vide avec des solutions à concentration croissante de T₈₀.

Concentrations (% massique)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
0,12	10,747 (± 0,729)	10,740 (± 0,727)	- 0,007 (± 0,004)	10,680 (± 0,722)	- 0,067 (± 0,008)
0,25	10,571 (± 0,248)	10,590 (± 0,256)	0,019 (± 0,008)	10,557 (± 0,249)	- 0,014 (± 0,001)
0,5	10,938 (± 0,281)	11,033 (± 0,276)	0,095 (± 0,005)	10,976 (± 0,285)	0,038 (± 0,004)
1	10,726 (± 0,354)	10,880 (± 0,359)	0,154 (± 0,01)	10,859 (± 0,352)	0,133 (± 0,007)

Tableau 8 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Hêtre après imprégnation sous vide avec des solutions de T₈₀ suivie par un traitement avec une solution à 1 équivalent molaire de NaBF₄.

Concentrations (% massique)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
0,12	10,596 (± 0,341)	10,568 (± 0,351)	- 0,028 (± 0,028)	10,503 (± 0,348)	- 0,093 (± 0,024)
0,25	10,798 (± 0,731)	10,763 (± 0,726)	- 0,035 (± 0,006)	10,722 (± 0,726)	- 0,076 (± 0,005)
0,5	10,249 (± 0,981)	10,280 (± 0,976)	0,036 (± 0,01)	10,230 (± 0,973)	- 0,019 (± 0,01)
1	11,048 (± 0,356)	11,253 (± 0,361)	0,205 (± 0,008)	11,192 (± 0,364)	0,144 (± 0,01)

Tableau 9 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Hêtre après imprégnation sous vide avec des solutions de T₈₀ suivie par un traitement avec une solution à 1 équivalent molaire de KPF₆.

Concentrations (% massique)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
0,12	10,617 (± 0,756)	10,666 (± 0,751)	0,049 (± 0,007)	10,544 (± 0,744)	- 0,073 (± 0,015)
0,25	10,438 (± 0,925)	10,400 (± 0,896)	- 0,038 (± 0,02)	10,370 (± 0,915)	- 0,068 (± 0,01)
0,5	10,038 (± 0,151)	10,153 (± 0,148)	0,115 (± 0,007)	10,100 (± 0,151)	0,062 (± 0,005)
1	10,003 (± 0,726)	10,266 (± 0,712)	0,263 (± 0,02)	10,208 (± 0,720)	0,205 (± 0,02)

Tableau 10 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Hêtre après imprégnation sous vide avec des solutions à concentration croissante de B₈₀.

Concentrations (% massique)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
0,12	13,437 (± 0,406)	13,459 (± 0,401)	0,002 (± 0,006)	13,433 (± 0,401)	- 0,004 (± 0,006)
0,25	13,534 (± 0,097)	13,512 (± 0,090)	- 0,023 (± 0,007)	13,423 (± 0,077)	- 0,111 (± 0,026)
0,5	13,610 (± 0,369)	13,530 (± 0,361)	- 0,080 (± 0,03)	13,462 (± 0,369)	- 0,149 (± 0,002)
1	13,344 (± 0,581)	13,515 (± 0,574)	0,171 (± 0,002)	13,357 (± 0,563)	0,013 (± 0,019)

Tableau 11 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Hêtre après imprégnation sous vide avec des solutions de B₈₀ suivie par un traitement avec une solution à 1 équivalent molaire de NaBF₄.

Concentrations (% massique)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
0,12	13,297 (± 0,430)	13,265 (± 0,426)	- 0,032 (± 0,016)	13,191 (± 0,421)	- 0,106 (± 0,038)
0,25	13,679 (± 0,229)	13,637 (± 0,225)	- 0,043 (± 0,172)	13,499 (± 0,230)	- 0,180 (± 0,168)
0,5	13,358 (± 0,404)	13,391 (± 0,393)	0,033 (± 0,029)	13,234 (± 0,388)	- 0,125 (± 0,039)
1	13,525 (± 0,162)	13,675 (± 0,152)	0,150 (± 0,011)	13,536 (± 0,135)	0,011 (± 0,027)

Tableau 12 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Hêtre après imprégnation sous vide avec des solutions de B₈₀ suivie par un traitement avec une solution à 1 équivalent molaire de KPF₆.

Concentrations (% massique)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
0,12	13,033 (± 0,458)	13,006 (± 0,448)	- 0,027 (± 0,011)	12,937 (± 0,437)	- 0,096 (± 0,025)
0,25	13,428 (± 0,423)	13,434 (± 0,417)	0,006 (± 0,014)	13,314 (± 0,407)	- 0,115 (± 0,029)
0,5	13,808 (± 0,054)	13,870 (± 0,050)	0,062 (± 0,004)	13,710 (± 0,051)	- 0,097 (± 0,007)
1	13,573 (± 0,361)	13,773 (± 0,353)	0,200 (± 0,011)	13,706 (± 0,345)	0,073 (± 0,018)

Tableau 13 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Pin sylvestre après imprégnation sous vide avec des émulsions à 4 % de matière active.

Emulsions (mM)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
BF₁₄ (9,7)	8,623 (± 0,954)	9,519 (± 1,039)	0,895 (± 0,113)	9,243 (± 1,006)	0,620 (± 0,073)
BF₁₅ (8,5)	7,154 (± 0,347)	7,934 (± 0,460)	0,780 (± 0,231)	7,662 (± 0,217)	0,509 (± 0,217)
BF₁₆ (10,9)	7,850 (± 0,897)	8,416 (± 1,116)	0,566 (± 0,230)	8,243 (± 1,046)	0,393 (± 0,163)
BF₁₇ (9,4)	7,022 (± 0,532)	8,048 (± 0,611)	1,026 (± 0,106)	7,774 (± 0,592)	0,752 (± 0,090)

Tableau 14 : Masses moyennes (en gramme) des éprouvettes de Pin sylvestre après imprégnation sous vide avec les sels d'ammonium seuls et associés aux anions BF₄ et PF₆.

Produits (mM)	Avant lessivage			Après lessivage	
	m ₀ (g)	m ₁ (g)	$\Delta m = m_1 - m_0$ (g)	m ₂ (g)	$\Delta' m = m_2 - m_1$ (g)
B₈₀ (9,7)	8,243 (± 0,983)	8,894 (± 0,897)	0,652 (± 0,123)	8,616 (± 0,974)	0,374 (± 0,042)
B₈₀,BF₄ (9,7)	7,591 (± 0,196)	8,237 (± 0,233)	0,646 (± 0,171)	8,163 (± 0,325)	0,572 (± 0,169)
B₈₀,PF₆ (8,5)	8,015 (± 0,836)	9,005 (± 0,778)	0,990 (± 0,086)	8,881 (± 0,781)	0,886 (± 0,076)
T₈₀ (10,9)	7,985 (± 0,647)	8,667 (± 0,660)	0,682 (± 0,049)	8,318 (± 0,978)	0,333 (± 0,041)
T₈₀,BF₄ (10,9)	7,247 (± 0,485)	8,121 (± 0,444)	0,874 (± 0,184)	8,013 (± 0,445)	0,776 (± 0,168)
T₈₀,PF₆ (9,4)	8,825 (± 1,204)	9,566 (± 1,313)	0,741 (± 0,138)	9,474 (± 1,298)	0,649 (± 0,122)

ANNEXE II :
TABLEAUX DE PERTES
DE MASSE

Tableau 1 : Pertes de masses des éprouvettes du bois traitées avec le sel d'ammonium non modifié T_{80} et exposées au *Poria placenta* pendant 16 semaines

Type d'essence: Aubier de Pin sylvestre

(*Pinus sylvestris.L*)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigées	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
% en masse		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	P ₁	0,00	0,00	27,6	0,2	27,4	24,2 (± 2,4)	51,9
	P ₂	0,00		22,9		22,7		97,6
	P ₃	0,00		21,4		21,2		106,6
	P ₄	0,00		25,5		25,3		97,4
0,12	D ₁₇	-0,038	-0,034 (± 0,003)	1,4	0,6	0,8	1,5 (± 0,9)	30,1
	D ₁₈	-0,033		3,6		3,0		32,1
	D ₁₉	-0,033		2,1		1,5		30,7
	D ₂₀	-0,031		1,2		0,6		30,2
0,25	C ₂₀	-0,036	-0,038 (± 0,009)	0,1	0,1	0,0	0,5 (± 0,9)	30,0
	C ₂₁	-0,05		2,3		2,2		30,1
	C ₂₂	-0,024		-0,1		-0,2		30,0
	C ₂₃	-0,042		0,3		0,2		28,0
0,5	A ₁₇	0,031	0,028 (± 0,007)	-0,9	-1,5	0,6	0,6 (± 0,2)	31,5
	A ₁₈	0,034		-0,8		0,7		27,6
	A ₂₂	0,027		-1,1		0,4		37,0
	A ₂₃	0,019		-0,7		0,8		28,4
1	B ₁₉	0,102	0,096 (± 0,004)	-1,1	-1,4	0,3	0,3 (± 0,0)	27,9
	B ₂₀	0,097		-1,1		0,3		28,6
	B ₂₂	0,090		-1,1		0,3		28,2
	B ₂₃	0,095		-1,1		0,3		28,5

NB: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 2 : Pertes de masses des éprouvettes du bois traitées avec le tétrafluoroborate d'ammonium T_{80}, BF_4 et exposées au Poria placenta pendant 16 semaines

Type d'essence: Aubier de Pin sylvestre

(*Pinus sylvestris.L*)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigées	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
% en masse		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	P ₁	0,00	0,00	27,6	0,2	27,4	24,2 (± 2,4)	51,9
	P ₂	0,00		22,9		22,7		97,6
	P ₃	0,00		21,4		21,2		106,6
	P ₄	0,00		25,5		25,3		97,4
0,12	D ₁	-0,053	-0,047 (± 0,01)	1,0	-2,0	3,0	2,7 (± 0,2)	30,4
	D ₂	-0,034		0,6		2,6		29,6
	D ₃	-0,059		0,8		2,8		29,2
	D ₄	-0,042		0,5		2,5		28,4
0,25	C ₁	-0,046	-0,068 (± 0,01)	0,6	0,6	0,0	0,03 (± 0,3)	28,8
	C ₂	-0,078		0,8		0,2		28,8
	C ₃	-0,083		1,0		0,4		29,5
	C ₄	-0,066		0,1		-0,5		29,1
0,5	A ₁	0,038	0,031 (± 0,007)	-0,8	-0,5	-0,3	-0,3 (± 0,1)	28,8
	A ₂	0,038		-0,7		-0,2		28,8
	A ₄	0,025		-0,6		-0,1		37,8
	A ₆	0,022		-0,9		-0,4		32,9
1	B ₃	0,126	0,127 (± 0,007)	-1,4	-1,8	0,4	0,3 (± 0,1)	27,7
	B ₄	0,115		-1,6		0,2		36,5
	B ₆	0,133		-1,5		0,3		30,6
	B ₈	0,133		-1,5		0,3		27,9

N B: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 3 : Pertes de masses des éprouvettes du bois traitées avec l'hexafluorophosphate d'ammonium T_{80}, PF_6 et exposées au *Poria placenta* pendant 16 semaines

Type d'essence: Aubier de Pin sylvestre

(*Pinus sylvestris.L*)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigées	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
% en masse		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	P ₁	0,00	0,00	27,6	0,2	27,4	24,2 (± 2,4)	51,9
	P ₂	0,00		22,9		22,7		97,6
	P ₃	0,00		21,4		21,2		106,6
	P ₄	0,00		25,5		25,3		97,4
0,12	D ₉	-0,027	-0,043 (± 0,01)	0,8	-2,4	3,2	3,4 (± 0,3)	29,5
	D ₁₀	-0,049		0,8		3,2		29,2
	D ₁₁	-0,039		0,7		3,1		28,5
	D ₁₂	-0,058		1,5		3,9		29,2
0,25	C ₁₂	-0,044	-0,028 (± 0,015)	6,9	0,5	6,4	0,8 (± 3,5)	28,9
	C ₁₃	-0,047		1,5		1,0		29,0
	C ₁₄	-0,003		-1,5		-2,0		30,2
	C ₁₆	-0,031		-1,6		-2,1		29,8
0,5	A ₉	0,056	0,042 (± 0,01)	-2,3	-0,4	-1,9	-0,9 (± 0,6)	113,0
	A ₁₁	0,047		-0,9		-0,5		28,2
	A ₁₃	0,036		-1,0		-0,6		32,0
	A ₁₆	0,030		-1,0		-0,6		42,1
1	B ₉	0,142	0,135 (± 0,01)	-1,5	-1,9	0,4	-0,03 (± 0,9)	27,9
	B ₁₁	0,122		-1,3		0,6		28,9
	B ₁₂	0,125		-1,5		0,4		33,5
	B ₁₆	0,151		-3,4		-1,5		74,7

N B: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 4 : Pertes de masses des éprouvettes du bois traitées avec le sel d'ammonium non modifié **B₈₀** et exposées au *Poria placenta* pendant 16 semaines

Type d'essence: Aubier de Pin sylvestre

(*Pinus sylvestris.L*)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigées	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprouv.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
% en masse		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	P ₁	0,00	0,00	27,6	0,2	27,4	24,2 (± 2,4)	51,9
	P ₂	0,00		22,9		22,7		97,6
	P ₃	0,00		21,4		21,2		106,6
	P ₄	0,00		25,5		25,3		97,4
0,12	A ₁₇	-0,081	-0,084 (± 0,005)	1,2	-0,3	1,5	1,5 (± 0,0)	28,5
	A ₁₈	-0,077		1,2		1,5		28,9
	A ₁₉	-0,091		1,2		1,5		29,9
	A ₂₀	-0,087		1,2		1,5		29,7
0,25	B ₁₇	-0,069	-0,045 (± 0,02)	1,2	-0,9	2,1	0,75 (± 1,07)	28,2
	B ₁₈	-0,046		0,6		1,5		28,9
	B ₁₉	-0,039		-1,1		-0,2		53,5
	B ₂₀	-0,024		-1,3		-0,4		149,2
0,5	C ₁₇	0,016	0,006 (± 0,01)	-0,4	-1,2	0,8	0,35 (± 0,27)	60,3
	C ₁₈	-0,01		-1,1		0,1		122,5
	C ₁₉	0,005		-0,9		0,3		122,0
	C ₂₄	0,014		-1,0		0,2		102,8
1	D ₁₇	0,022	0,024 (± 0,01)	0,1	0,1	0,0	0,0 (± 0,2)	27,8
	D ₁₈	0,004		0,3		0,2		28,3
	D ₁₉	0,025		0,2		0,1		28,9
	D ₂₀	0,043		-0,2		-0,3		28,5

N B: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 5 : Pertes de masses des éprouvettes du bois traitées avec le tétrafluoroborate d'ammonium B_{80} , BF_4 et exposées au Poria placenta pendant 16 semaines

Type d'essence: Aubier de Pin sylvestre

(*Pinus sylvestris.L*)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigées	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
% en masse		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	P ₁	0,00	0,00	27,6	0,2	27,4	24,2 (± 2,4)	51,9
	P ₂	0,00		22,9		22,7		97,6
	P ₃	0,00		21,4		21,2		106,6
	P ₄	0,00		25,5		25,3		97,4
0,12	A ₁	-0,102	-0,077 (± 0,016)	9,8	1,2	8,6	6,2 (± 1,6)	48,2
	A ₂	-0,073		5,4		4,2		35,4
	A ₃	-0,059		7,4		6,2		36,5
	A ₄	-0,075		6,9		5,7		36,7
0,25	B ₁	-0,069	-0,081 (± 0,02)	1,6	0,5	1,1	0,97 (± 0,1)	29,0
	B ₂	-0,090		1,3		0,8		30,0
	B ₃	-0,107		1,6		1,1		29,8
	B ₄	-0,058		1,4		0,9		29,8
0,5	C ₁	-0,010	-0,021 (± 0,017)	0,5	0,5	0,0	-0,07 (± 0,4)	26,9
	C ₂	-0,044		0,8		0,3		27,6
	C ₄	-0,027		0,6		0,1		28,5
	C ₆	-0,001		-0,2		-0,7		38,3
1	D ₁	0,079	0,054 (± 0,02)	-1,1	-2,3	1,2	1,57 (± 0,5)	49,7
	D ₂	0,055		-0,4		1,9		32,6
	D ₃	0,035		-1,3		1,0		100,5
	D ₄	0,046		-0,1		2,2		32,9

N B: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 6 : Pertes de masses des éprouvettes du bois traitées avec l'hexafluorophosphate d'ammonium

B_{80}, PF_6 et exposées au Poria placenta pendant 16 semaines

Type d'essence: Aubier de Pin sylvestre

(*Pinus sylvestris.L*)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigées	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
% en masse		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	P ₁	0,00	0,00	27,6	0,2	27,4	24,2 (± 2,4)	51,9
	P ₂	0,00		22,9		22,7		97,6
	P ₃	0,00		21,4		21,2		106,6
	P ₄	0,00		25,5		25,3		97,4
0,12	A ₉	-0,058	-0,067 (± 0,011)	0,6	1,4	-0,8	5,7 (± 7,5)	29,5
	A ₁₀	-0,065		8,8		7,4		29,2
	A ₁₁	-0,039		0,5		-0,9		28,5
	A ₁₂	-0,065		18,7		17,3		29,2
0,25	B ₉	-0,045	-0,065 (± 0,01)	1,7	0,9	0,8	-0,8 (± 1,0)	33,7
	B ₁₀	-0,055		-0,2		-1,1		126,0
	B ₁₁	-0,039		-0,9		-1,8		132,7
	B ₁₂	-0,065		-0,2		-1,1		119,4
0,5	C ₉	0,023	0,049 (± 0,012)	-1,0	-1,6	0,6	-0,17 (± 0,5)	90,1
	C ₁₀	0,065		-1,9		-0,3		84,5
	C ₁₁	0,048		-2,0		-0,4		103,9
	C ₁₂	0,052		-2,2		-0,6		107,9
1	D ₉	0,102	0,076 (± 0,02)	-0,5	-1,2	0,7	0,92 (± 0,5)	27,8
	D ₁₀	0,083		-0,2		1,0		28,6
	D ₁₁	0,062		-0,5		1,7		29,1
	D ₁₂	0,055		-0,9		0,3		134,0

NB: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 7 : Pertes de masses des éprouvettes du bois traitées avec le sel d'ammonium non modifié T₈₀ et exposées au *Coriolus versicolor* pendant 16 semaines

Type d'essence: Aubier de Hêtre

(*Fagus sylvatica.L*)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrige es	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
% en masse		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	T ₁	0,00	0,00	33,1	-0,07	33,2	27,7 (± 3,9)	40,1
	T ₂	0,00		28,2		28,3		35,1
	T ₃	0,00		27,0		27,1		32,8
	T ₄	0,00		22,2		22,3		36,0
0,12	B ₄₅	-0,057	-0,067 (± 0,008)	9,3	0,5	8,8	8,7 (± 1,7)	33,4
	B ₄₆	-0,077		7,0		6,5		30,0
	B ₄₇	-0,072		8,8		8,3		35,1
	B ₄₈	-0,060		11,8		11,3		33,4
0,25	C ₃₈	-0,015	-0,014 (± 0,001)	22,2	-0,05	22,3	19,0 (± 7,1)	85,6
	C ₃₉	-0,014		15,3		15,4		37,8
	C ₄₀	-0,014		28,4		28,5		101,6
	C ₄₈	-0,012		9,5		9,6		31,2
0,5	D ₃₆	0,040	0,038 (± 0,004)	11,6	-0,3	11,9	10,2 (± 3,0)	39,5
	D ₃₈	0,038		4,8		5,1		32,0
	D ₄₀	0,043		10,8		11,1		41,3
	D ₄₆	0,031		12,5		12,8		35,5
1	C ₁₇	0,132	0,133 (± 0,007)	1,0	-1,2	2,2	1,3 (± 1,0)	39,9
	C ₁₈	0,145		-0,9		0,3		28,3
	C ₁₉	0,126		-1,0		0,2		26,7
	C ₂₀	0,129		1,1		2,3		28,8

NB: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 8 : Pertes de masses des éprouvettes du bois traitées avec le tétrafluoroborate d'ammonium T_{80}, BF_4 et exposées au *Coriolus versicolor* pendant 16 semaines

Type d'essence: Aubier de Hêtre

(*Fagus sylvatica.L*)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigée s	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
% en masse		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	T ₁	0,00	0,00	33,1	-0,07	33,2	27,7 (± 3,9)	40,1
	T ₂	0,00		28,2		28,3		35,1
	T ₃	0,00		27,0		27,1		32,8
	T ₄	0,00		22,2		22,3		36,0
0,12	B ₁	-0,105	-0,093 (± 0,02)	6,6	0,7	5,9	8,3 (± 4,8)	31,1
	B ₃	-0,112		8,5		7,8		31,1
	B ₇	-0,102		16,8		16,1		40,8
	B ₁₄	-0,051		4,0		3,3		27,3
0,25	C ₁	-0,076	-0,076 (± 0,005)	12,3	0,8	11,5	6,2 (± 4,0)	32,4
	C ₂	-0,068		8,6		7,8		29,8
	C ₃	-0,079		1,5		0,7		25,9
	C ₄	-0,080		5,6		4,8		28,5
0,5	D ₅	-0,019	-0,019 (± 0,01)	0,2	0,2	0,0	0,0 (± 0,07)	28,3
	D ₆	-0,005		0,1		-0,1		30,4
	D ₇	-0,019		0,2		0,0		30,5
	D ₉	-0,033		0,3		0,1		29,7
1	E ₅	0,127	0,144 (± 0,01)	-1,2	-1,2	0,0	-0,05 (± 0,09)	29,5
	E ₆	0,141		-1,2		0,0		28,0
	E ₇	0,145		-1,2		0,0		28,4
	E ₈	0,163		-1,4		-0,2		26,4

N B: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 9 : Pertes de masses des éprouvettes du bois traitées avec l'hexafluorophosphate d'ammonium T_{80}, PF_6 et exposées au *Coriolus versicolor* pendant 16 semaines

Type d'essence: Aubier de Hêtre

(*Fagus sylvatica.L*)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrige es	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprouv.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
% en masse		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	T ₁	0,00	0,00	33,1	-0,07	33,2	27,7 (± 3,9)	40,1
	T ₂	0,00		28,2		28,3		35,1
	T ₃	0,00		27,0		27,1		32,8
	T ₄	0,00		22,2		22,3		36,0
0,12	B ₁₉	-0,053	-0,073 (± 0,015)	29,8	0,6	29,2	15,5 (± 9,2)	159,6
	B ₂₀	-0,064		14,8		14,2		33,8
	B ₂₁	-0,086		14,1		13,5		33,1
	B ₂₄	-0,088		3,9		3,3		26,5
0,25	C ₂₁	-0,054	-0,068 (± 0,01)	5,0	-0,15	5,2	10,8 (± 4,4)	28,8
	C ₂₂	-0,085		17,3		17,5		34,7
	C ₂₃	-0,071		9,9		10,1		35,9
	C ₂₄	-0,062		10,1		10,3		26,7
0,5	D ₂₁	0,067	0,062 (± 0,01)	24,6	-0,9	25,5	15,7 (± 6,7)	113,4
	D ₂₂	0,054		12,9		15,4		33,5
	D ₂₄	0,062		12,9		15,4		32,9
	D ₂₅	0,066		5,6		6,5		28,7
1	E ₁₃	0,199	0,205 (± 0,02)	16,8	-0,9	17,7	11 (± 6,3)	55,0
	E ₁₄	0,216		15,3		16,2		76,1
	E ₁₅	0,173		7,1		8,0		32,1
	E ₁₆	0,232		1,2		2,1		27,4

NB: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 10 : Pertes de masses des éprouvettes du bois traitées avec le sel d'ammonium non modifié B_{80} et exposées au *Coriolus versicolor* pendant 16 semaines

Type d'essence: Aubier de Hêtre

(*Fagus sylvatica.L*)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigée s	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
% en masse		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	T ₁	0,00	0,00	33,1	-0,07	33,2	27,7 (± 3,9)	40,1
	T ₂	0,00		28,2		28,3		35,1
	T ₃	0,00		27,0		27,1		32,8
	T ₄	0,00		22,2		22,3		36,0
0,12	A ₁	-0,003	-0,004 (± 0,006)	1,09	1,54	-0,45	3,7 (± 2,6)	30,0
	A ₂	-0,014		7,89		6,35		47,8
	A ₃	0,002		5,47		3,93		39,8
	A ₄	0,000		6,59		5,05		47,0
0,25	B ₁	-0,085	-0,111 (± 0,026)	2,16	1,09	1,07	0,72 (± 0,30)	38,4
	B ₂	-0,135		1,41		0,32		29,1
	B ₃	-0,145		2,02		0,93		36,8
	B ₄	-0,139		1,63		0,54		30,1
0,5	C ₁	-0,150	0,149 (± 0,002)	0,75	-0,07	0,82	1,70 (± 1,28)	28,3
	C ₂	0,151		0,30		0,37		28,6
	C ₃	0,145		1,87		1,94		33,1
	C ₄	0,148		3,61		3,68		36,9
1	D ₁₇	0,010	0,013 (± 0,019)	0,8	-1,1	1,9	1,60 (± 0,4)	33,2
	D ₁₈	-0,004		0,2		1,3		29,0
	D ₁₉	0,044		0,1		1,2		31,7
	D ₂₀	0,001		0,9		2,0		32,6

NB: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 11 : Pertes de masses des éprouvettes du bois traitées avec le tétrafluoroborate d'ammonium B_{80}, BF_4 et exposées au *Coriolus versicolor* pendant 16 semaines

Type d'essence: Aubier de Hêtre

(*Fagus sylvatica.L*)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigée s	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
% en masse		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	T ₁	0,00	0,00	33,1	-0,07	33,2	27,7 (± 3,9)	40,1
	T ₂	0,00		28,2		28,3		35,1
	T ₃	0,00		27,0		27,1		32,8
	T ₄	0,00		22,2		22,3		36,0
0,12	A ₉	-0,081	-0,106 (± 0,038)	10,21	1,03	9,18	6,79 (± 2,08)	29,3
	A ₁₀	-0,097		8,03		7,00		29,0
	A ₁₁	-0,077		8,54		7,51		29,6
	A ₁₂	-0,170		4,50		3,47		28,6
0,25	B ₉	0,066	-0,180 (± 0,168)	3,38	1,15	2,23	3,42 (± 0,81)	53,4
	B ₁₀	-0,198		4,71		3,56		47,4
	B ₁₁	-0,181		4,53		3,38		49,9
	B ₁₂	-0,408		5,66		4,51		48,0
0,5	C ₉	-0,188	-0,125 (± 0,039)	2,9	0,7	2,2	1,0 (± 0,8)	37,7
	C ₁₀	-0,104		1,0		0,3		28,9
	C ₁₁	-0,083		1,1		0,4		33,4
	C ₁₂	-0,124		1,8		1,1		37,7
1	D ₉	0,006	0,011 (± 0,027)	0,0	0,0	0,0	0,0 (± 0,2)	31,6
	D ₁₀	0,015		-0,1		-0,1		32,8
	D ₁₁	0,049		-0,3		-0,3		30,4
	D ₁₂	-0,028		0,3		0,3		29,4

NB: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 12 : Pertes de masses des éprouvettes du bois traitées avec l'hexafluorophosphate d'ammonium B_{80},PF_6 et exposées au *Coriolus versicolor* pendant 16 semaines

Type d'essence: Aubier de Hêtre

(*Fagus sylvatica.L*)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigée s	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
% en masse		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	T ₁	0,00	0,00	33,1	-0,07	33,2	27,7 (± 3,9)	40,1
	T ₂	0,00		28,2		28,3		35,1
	T ₃	0,00		27,0		27,1		32,8
	T ₄	0,00		22,2		22,3		36,0
0,12	A ₁₇	-0,083	-0,096 (± 0,025)	3,56	0,91	2,65	5,11 (± 1,90)	33,4
	A ₁₈	-0,062		5,02		4,11		42,0
	A ₁₉	-0,123		8,58		7,67		52,4
	A ₂₀	-0,115		6,91		6,00		49,8
0,25	B ₁₇	-0,098	-0,115 (± 0,029)	1,82	0,94	0,88	1,75 (± 2,32)	29,9
	B ₁₈	-0,165		6,67		5,73		34,0
	B ₁₉	-0,092		1,34		0,40		29,8
	B ₂₀	-0,104		0,93		-0,01		29,4
0,5	C ₁₇	-0,098	-0,097 (± 0,007)	4,1	0,5	3,6	3,2 (± 1,1)	41,8
	C ₁₈	-0,089		3,9		3,4		38,7
	C ₁₉	(-)		2,0		1,5		45,8
	C ₂₀	-0,105		4,9		4,4		44,1
1	D ₁₇	0,098	0,073 (± 0,018)	-0,04	-0,5	0,1	0,2 (± 0,3)	27,3
	D ₁₈	0,050		-0,2		0,3		28,7
	D ₁₉	(-)		-0,7		-0,2		28,7
	D ₂₀	0,075		0,2		-0,5		32,9

N B: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 13 : éprouvettes de bois traitées avec B_{80} et ses dérivés puis exposées au *Poria placenta*

Essence: Aubier de pin sylvestre

(*Pinus sylvestris* L.)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigée s	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprouv.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
(mM)		(g)	(g)	‰	‰	‰	‰	‰
0,00	T37	0,00	0,00	20,5	-1,2	21,7	26,0 (± 4,6)	150,7
	T38	0,00		21,7		22,9		76,0
	T39	0,00		32,4		33,6		62,6
	T40	0,00		24,6		25,8		65,7
9,7 ⁽¹⁾	B17	0,406	0,374 (± 0,04)	-0,1	-0,03	-0,07	-0,08 (± 0,06)	27,8
	B18	0,411		-0,2		-0,17		27,6
	B19	0,372		-0,1		-0,07		26,7
	B20	0,306		-0,03		0,00		28,3
9,7 ⁽²⁾	B1	0,408	0,572 (± 0,17)	-0,2	0,11	-0,31	-0,11 (± 0,12)	41,7
	B2	0,504		0,06		-0,05		19,2
	B3	0,804		0,1		-0,01		29,3
	B4	(-)		0,03		-0,08		27,6
8,5 ⁽³⁾	B9	0,875	0,866 (± 0,08)	-0,1	-0,03	-0,07	-0,17 (± 0,12)	26,7
	B10	0,750		-0,1		-0,07		29,3
	B11	0,875		-0,2		-0,17		42,2
	B12	0,962		-0,4		-0,37		46,3

(1): Epreuves traitées avec une Solution de B_{80} à 9,7 mM.

(2): Epreuves traitées avec une Solution de B_{80} à 9,7 mM, puis 1 équivalent molaire de $NaBF_4$.

(3): Epreuves traitées avec une Solution de B_{80} à 8,5 mM, puis 1 équivalent molaire de KPF_6 .

NB: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 14 : éprouvettes de bois traitées avec T_{80} et ses dérivés puis exposées au *Poria placenta*

Essence: Aubier de pin sylvestre

(*Pinus sylvestris* L.)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigée s	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
(mM)		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	T37	0,00	0,00	20,5	-1,2	21,7	26,0 (± 4,6)	150,7
	T38	0,00		21,7		22,9		76,0
	T39	0,00		32,4		33,6		62,6
	T40	0,00		24,6		25,8		65,7
10,9 ⁽¹⁾	T17	0,402	0,333 (± 0,04)	-0,1	-0,4	0,3	0,27 (± 0,04)	26,5
	T18	0,320		-0,2		0,2		25,9
	T19	0,304		-0,1		0,3		25,5
	T20	0,305		-0,06		0,3		24,7
10,9 ⁽²⁾	T1	0,899	0,766 (± 0,17)	0,04	-0,2	0,24	-0,005 (± 0,25)	31,2
	T2	0,701		0,04		0,24		29,9
	T3	0,943		-0,4		-0,2		37,0
	T4	0,521		-0,5		-0,3		46,3
9,4 ⁽³⁾	T9	0,467	0,649 (± 0,12)	-0,2	-0,09	-0,11	-0,04 (± 0,08)	28,5
	T10	0,629		-0,02		0,07		32,0
	T11	0,801		-0,1		-0,01		32,0
	T12	0,698		-0,2		-0,11		31,1

(1): Epreuves traitées avec une Solution de T_{80} à 10,9 mM.

(2): Epreuves traitées avec une Solution de T_{80} à 10,9 mM, puis 1 équivalent molaire de $NaBF_4$.

(3): Epreuves traitées avec une Solution de T_{80} à 9,4 mM, puis 1 équivalent molaire de KPF_6 .

NB: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 15 : éprouvettes de bois traitées avec l'émulsion BF_{14} puis exposées au *Poria placenta*

Essence: Aubier de pin sylvestre

(*Pinus sylvestris* L.)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigée s	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
(mM)		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	C1	0,00	0,00	27,6	-1,2	28,8	25,6 (± 2,4)	51,9
	C2	0,00		22,9		24,1		97,6
	C3	0,00		21,4		22,6		106,0
	C4	0,00		25,5		26,7		97,4
Solvants(*)	C26	0,200	0,156 (± 0,06)	26,5	-0,5	27,0	31,2 (± 5,4)	48,5
	C37	0,187		25,7		26,2		52,4
	C38	0,057		31,5		32,0		54,4
	C41	0,179		39,2		39,7		173,6
9,7 ⁽¹⁾	S29	0,521	0,620 (± 0,07)	0,4	-0,9	1,3	2,2 (± 1,0)	27,9
	S31	0,581		2,9		3,8		28,3
	S32	0,702		1,2		2,1		32,2
	S33	0,675		0,5		1,4		29,4

(1): Epreuves traitées avec l'émulsion BF_{14} à 9,7 mM. (soit 4 % en masse de matière active)

{ $\text{BF}_{14} = \text{B}_{80}, \text{BF}_4$. M = 410,9 g/mole}

(*): Epreuves traitées avec le mélange de:

- **Tox.X.7356-B** {M = ?} : 2,4 g. (Tensio-actif).
- **Alcool hexylique** {M = 102,18 g/mole} : 4,8 g. (soit une concentration de 470 mM).
- **Cyclohexanone** {M = 98,15 g/mole} : 4,8 g. (soit une concentration de 489 mM).

NB: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

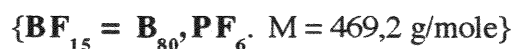
Tableau 16 : éprouvettes de bois traitées avec l'émulsion BF_{15} puis exposées au *Poria placenta*

Essence: Aubier de pin sylvestre

(*Pinus sylvestris* L.)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigée s	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprouv.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
(mM)		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	C1	0,00	0,00	27,6	-1,2	28,8	25,6 (± 2,4)	51,9
	C2	0,00		22,9		24,1		97,6
	C3	0,00		21,4		22,6		106,0
	C4	0,00		25,5		26,7		97,4
Solvants(*)	C26	0,200	0,156 (± 0,06)	26,5	-0,5	27,0	31,2 (± 5,4)	48,5
	C37	0,187		25,7		26,2		52,4
	C38	0,057		31,5		32,0		54,4
	C41	0,179		39,2		39,7		173,6
8,5 ⁽¹⁾	S37	0,380	0,509 (± 0,22)	-8,6	2,6	-11,2	-6,0 (± 3,2)	35,7
	S40	0,544		-3,6		-6,2		31,7
	S42	0,843		-0,7		-3,3		32,8
	S43	0,267		-0,8		-3,4		35,7

(1): Eprouvettes traitées avec l'émulsion BF_{15} à 8,5 mM. (soit 4 % en masse de matière active)



(*): Eprouvettes traitées avec le mélange de:

- **Tox.X.7356-B** {M = ?} : 2,4 g. (Tensio-actif).
- **Alcool hexylique** {M = 102,18 g/mole} : 4,8 g. (soit une concentration de 470 mM).
- **Cyclohexanone** {M = 98,15 g/mole} : 4,8 g. (soit une concentration de 489 mM).

NB: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 17 : éprouvettes de bois traitées avec l'émulsion BF_{16} puis exposées au *Poria placenta*

Essence: Aubier de pin sylvestre

(*Pinus sylvestris* L.)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrige es	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
(mM)		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	C1	0,00	0,00	27,6	-1,2	28,8	25,6 (± 2,4)	51,9
	C2	0,00		22,9		24,1		97,6
	C3	0,00		21,4		22,6		106,0
	C4	0,00		25,5		26,7		97,4
Solvants(*)	C26	0,200	0,156 (± 0,06)	26,5	-0,5	27,0	31,2 (± 5,4)	48,5
	C37	0,187		25,7		26,2		52,4
	C38	0,057		31,5		32,0		54,4
	C41	0,179		39,2		39,7		173,6
10,9 ⁽¹⁾	S10	0,260	0,393 (± 0,2)	2,4	-0,4	2,8	1,1 (± 2,2)	31,8
	S14	0,263		2,3		2,7		28,7
	S13	0,388		-3,1		-2,7		53,1
	S15	0,661		1,2		1,6		33,7

(1): Epreuves traitées avec l'émulsion BF_{16} à 10,9 mM. (soit 4 % en masse de matière active)

{ $\text{BF}_{16} = \text{T}_{80}, \text{BF}_4$. M = 366,4 g/mole}

(*): Epreuves traitées avec le mélange de:

- **Tox.X.7356-B** {M = ?} : 2,4 g. (Tensio-actif).
- **Alcool hexylique** {M = 102,18 g/mole} : 4,8 g. (soit une concentration de 470 mM).
- **Cyclohexanone** {M = 98,15 g/mole} : 4,8 g. (soit une concentration de 489 mM).

NB: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

Tableau 18 : éprouvettes de bois traitées avec l'émulsion BF_{17} puis exposées au *Poria placenta*

Essence: Aubier de pin sylvestre

(*Pinus sylvestris* L.)

Concentrat. utilisées	N°	Rétention en produit après lessivage		Pertes de masse non corrigée s	Coefficient de correction (moyenne)	Pertes de masse corrigées par éprou.	Perte moyenne dans la série	Humidités finales des éprouvettes
		par éprouv.	moyenne					
(mM)		(g)	(g)	%	%	%	%	%
0,00	C1	0,00	0,00	27,6	-1,2	28,8	25,6 (± 2,4)	51,9
	C2	0,00		22,9		24,1		97,6
	C3	0,00		21,4		22,6		106,0
	C4	0,00		25,5		26,7		97,4
Solvants(*)	C26	0,200	0,156 (± 0,06)	26,5	-0,5	27,0	31,2 (± 5,4)	48,5
	C37	0,187		25,7		26,2		52,4
	C38	0,057		31,5		32,0		54,4
	C41	0,179		39,2		39,7		173,6
9,4 ⁽¹⁾	S1	0,797	0,752 (± 0,09)	6,6	0,45	7,05	1,5 (± 3,98)	35,97
	S2	0,607		2,5		2,95		37,63
	S3	0,754		-4,1		-3,65		32,66
	S4	0,850		-0,9		-0,45		33,45

(1): Eprouvettes traitées avec l'émulsion BF_{17} à 9,4 mM. (soit 4 % en masse de matière active)

{ $\text{BF}_{17} = \text{T}_{80}, \text{PF}_6$. $M=424,5$ g/mole}

(*): Eprouvettes traitées avec le mélange de:

- **Tox.X.7356-B** { $M = ?$ } : 2,4 g. (Tensio-actif).
- **Alcool hexylique** { $M = 102,18$ g/mole} : 4,8 g. (soit une concentration de 470 mM).
- **Cyclohexanone** { $M = 98,15$ g/mole} : 4,8 g. (soit une concentration de 489 mM).

NB: Le coefficient de correction est une moyenne calculée pour 4 éprouvettes.

ANNEXE III :
MILIEUX DE CULTURE

Composition des milieux de culture

1 - Milieu Malt gélosé : (MG)

- Malt.....15 g.
- Agar.....15 g.
- Eau distillée.....1000 ml.

(pH 4,8)

2 - Milieu BYPTA : (Mourey A., Kilbertus G., 1976)

- Peptone.....10 g.
- Extrait de viande.....3 g.
- Extrait de levure3 g.
- Chlorure de sodium.....5 g.
- Rhodoviol.....1 g.
- Tributyrine.....10 ml.
- Eau distillée.....1000 ml.

L'ensemble est mélangé avec un mixeur (15000 rpm) jusque l'obtention d'une émulsion "blanc laiteux".

- Agar.....15 g.

(pH 4,8)

Pour estimer l'activité enzymatique de la souche, nous mesurons les rayons de la souche et de sa plage de lyse.

3 - Milieu gélosé avec acide oléique : (milieu Vuillemin, 1980)

- Sulfate de magnésium.....0,1 g.
- Phosphate dipotassique.....7 g.
- Phosphate monopotassique.....3 g.
- Sulfate d'ammonium.....1 g.
- Extrait de levure.....0,1 g.
- Eau distillée.....1000 ml.

L'acide gras, qui représente la principale source de carbone, est introduit à raison de 5 mg/ml de milieu gélosé. L'acide gras étudié est l'acide Stéarique (C₁₈).

- Agar.....15 g.

(pH 4,8)

4 - Milieu de culture liquide + sciure du bois

- Nitrate d'ammonium.....1,33 g.
- Phosphate dipotassique.....0,5 g.
- Phosphate monopotassique.....0,25 g.
- Eau distillée.....1000 ml.

(pH 4,8)

La sciure est mise dans des tubes en PVC, à raison de 0,3 g pour 150 ml de milieu de culture. Le milieu est ensuite additionné ou non de glucose (concentration finale de milieu de culture est de 1 %).

Monsieur BOUSTA Faisl

DOCTORAT de l'UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY-1
en SCIENCES et TECHNOLOGIES INDUSTRIELLES

VU, APPROUVE ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 3 novembre 1998 n° 91

Le Président de l'Université



Résumé :

L'étude présentée comporte deux parties distinctes qui ont le même objectif. La première partie s'intéresse à la modification de la structure chimique des sels d'ammonium quaternaire à chaînes grasses.

Les essais en boîte de Pétri montrent que les sels modifiés ont une activité fongicide comparable à celle des sels de départ.

Les essais d'imprégnation montre que, la modification de la structure chimique des sels est très bénéfique. Nous constatons que la rétention des sels modifiés au sein du bois a doublé.

Les analyses au M.E.T. nous ont permis de confirmer les résultats obtenus aux essais d'imprégnations. La modification de la structure chimique du sel d'ammonium permet d'augmenter le taux d'azote dans le bois de 44,4 %, d'où une augmentation du sel d'ammonium retenu par le bois.

Les analyses au M.E.B. ont permis de localiser le sel d'ammonium modifié au niveau des cavités cellulaires, alors qu'il nous était difficile de visualiser le sel d'ammonium soluble.

Les résultats que nous avons obtenus dans les essais mycologiques sur bois, constituent un point très positif dans le cadre des objectifs que nous nous sommes fixés à savoir la minimisation de la proportion du sel lessivé tout en gardant intact l'activité fongicide de ces derniers.

La dernière partie a consisté à étudier le comportement biologique de la sciure d'*Epicéa commun* modifiée par des motifs acyles gras à longue chaîne carbonée face au *Poria placenta*. Nous avons démontré que le bois modifié et exposé au *Poria placenta* pendant 7, 14 et 21 jours en présence ou en absence de glucose, reste intacte, en particulier au niveau des greffages.

Ce résultat très intéressant, peut apporter une réponse aux problèmes posés par la stabilité du matériau bois, et en même temps pour le préserver contre l'attaque du *Poria placenta*.

Mots clés :

Bois, Préservation, Ammonium quaternaire, Emulsions, Fongicides, MET, MEB, Greffage, Acides gras.

The Improvement of the retention of the quaternary ammonium salts in wood and its Consequences on the decay wood.

The Study of modified wood with fatty acids and the Research of new biological properties.

Abstract :

This study involves two distinct parts. In the first part, we have studied the chemical modification of quaternary ammonium salts in wood and the preservation of wood against attack by fungi.

The modified and the unmodified quaternary ammonium salts show the same biological activity in an artificial medium.

The blocks of wood, impregnated with modified and unmodified salts, show that the modification is very beneficial. We have noted that the retention of modified ammonium in the wood is twice than in wood treated with unmodified ammonium.

The results obtained in the impregnation test of wood are confirmed by transmission electron microscopy (TEM) coupled with an Electron Energy Loss Spectrometry (EELS). The modification of the chemical structure of ammonium salts allows an increase of the azote rate in wood (44,4 %).

The modified ammonium in the cellular cavity level has been observed by the Scanning Electron Microscopy (SEM).

The results we found in the biological wood resistance are very interesting. We have also found, for example, that a 1 % concentration of a quaternary ammonium salts preserves wood from the attack of *Coriolus versicolor* and *Poria placenta*.

The last part is devoted to the study of the ability of modified sawdusts with fatty acids to protect wood. Interesting results are obtained in this area.

Key words :

Wood, Preservation, Quaternary Ammonium, Emulsions, Fongicides, TEM, SEM, Greffage, Fatty Acids.