

Table de matières

Introduction générale.....	1
Chapitre 1. L'utilisation des isolants bio-sourcés dans la construction et la rénovation thermique de bâtiments	
I.1. Introduction.....	9
I.2. Cadre réglementaire – « Le Bâtiment responsable »	10
I.2.1. Le Grenelle de l'Environnement (GE) et la Loi Relative à la Transition Energétique pour la Croissance Verte (LRTECV)	10
I.2.2 Plan National Sante Environnement (PNSE).....	11
I.3. Les matériaux bio-sourcés dans le bâtiment.....	12
I.3.1 Principaux matériaux bio-sourcés et principales applications	13
I.3.2 Les isolants bio-sourcés.....	14
I.3.2.1 Performances thermiques des isolants bio-sourcés.....	17
I. 3.2.2 Comportement hygrothermiques des isolants bio-sourcés.....	17
I.4. Isolants bio-sourcés, humidité et moisissures.....	18
I.4.1 Dégradation des performances thermiques.....	18
I.4.2 Développement des moisissures.....	18
I.4.2.1 Cycle de vie et paramètres environnementaux déterminant la croissance de moisissures	19
I.4.2.2 Moisissures sur les isolants bio-sourcés	22
I.4.2.3 Méthodes d'essai pour évaluer la résistance des isolants bio-sourcés au développement de moisissures	23
I.4.2.4. Evaluation de la résistance des produits isolants thermiques vis-à-vis des moisissures dans le cadre d'un Avis Technique (ATec).....	30
I.4.2.5 Norme NF EN 15101-1+A1 (avril 2019)	32
I.4.2.6 Biocides dans les isolants bio-sourcés	32
I.5. Qualité de l'air intérieur (QAI)	35
I.5.1 Composés organiques volatils (COV)	35
I.5.1.1 Emissions en COV des matériaux- méthodes de mesure	37
I.5.1.2. Emissions en COV des isolants bio-sourcés.....	42
I.5.1.3 Influence des paramètres environnementaux sur les émissions en COV.....	42
I.5.2. Composés organiques volatils microbiens (COVm) associés aux moisissures.....	46
I.5.2.1 Indice de développement fongique	47
I.5.2.2 Effets sur la santé humaine	50
I.6. Conclusion.....	59
I.7. Présentation du travail de thèse	59
I.8. Démarche scientifique	60

I.9. Références.....	61
----------------------	----

Chapitre 2. Matériels et méthodes

II.1. Introduction.....	75
II.2. Matériaux étudiés	75
II.2.1 Isolant bio-sourcé A : composé principalement de fibres de bois	75
II.2.2 Isolant bio-sourcé B : composé de fibres de bois et laine de verre	77
II.2.3 Isolant C : Laine de verre	77
II.2.4 Caractérisation des matériaux : surface spécifique BET.....	78
II .3. Evaluation de la résistance des matériaux au développement des moisissures.....	79
II.3.1. Préparation des échantillons	79
II.3.2 Sélection et culture de la souche fongique	79
II.3.3. Technique d'inoculation	81
II.3.4 Période d'incubation.....	81
II.3.5 Evaluation des échantillons.....	81
II.3.6 Mesure de la teneur en eau des matériaux	83
II.4. Caractérisation des COV émis par les matériaux.....	84
II.4.1 Chambre d'émission et préparation des échantillons	84
II.4.2. Choix des temps de prélèvement.....	85
II.4.3. Mesure des concentrations en chambre d'émission CLIMPAQ	86
II.4.3.1. Prélèvement et analyse de COV.....	86
II.4.3.2. Calcul de la limite de détection (LD)	88
II.4.3.3. Etalonnage des COV	89
II.4.3.4. Résultat des essais - calcul des concentrations dans la chambre d'essai et des taux d'émission	89
II.4.4 Suivi de la cinétique des émissions.....	91
II.5. Caractérisation des COV d'origine fongique	91
II. 6. Conclusion.....	94
II. 7. Références.....	95

Chapitre 3. Potentialité des matériaux bio-sourcés au développement de moisissures

III.1. Introduction.....	99
III.2. Evaluation de la résistance des isolants de l'étude à la croissance d' <i>Aspergillus niger</i> par la mise en œuvre de la méthode d'essai de Le Bayon et al. (2015).....	99
III.3. Développement d'une méthode d'essai pour évaluer la résistance de matériaux bio- sourcés au regard des moisissures	106
III.3.1. Description du système expérimental.....	106
III.3.2. Culture de la souche	107

III. 3.3. Technique d'inoculation.....	107
III.3.3.1 Aérosolisation des spores.....	107
III.3.3.2. Déposition des spores	108
III.4. Résistance des isolants de l'étude à la croissance d' <i>Aspergillus niger</i> évaluée par la « nouvelle » méthode	110
III.5. Conclusion.....	115
III.6. References.....	118

Chapitre 4. Caractérisation des émissions de COV des matériaux natifs en absence de moisissures

IV.1. Introduction	123
IV.2. Evaluation des émissions en COV des isolants de l'étude au regard de l'étiquetage des matériaux et produits de construction en France	125
IV.2.1. Comparaison des matériaux vis-à-vis des COVT	126
IV.2.2 Comparaison des matériaux vis-à-vis des 10 COV réglementaires.....	128
IV.2.3 Variabilité des essais.....	129
IV.3. Caractérisation des COV majoritaires et d'autres COV d'intérêt émis par les matériaux	130
IV.4. Effet de la variation d'HR sur les émissions en COV majoritaires	136
IV.4.1. Variation des taux d'émission des COV lors de l'évolution de l'humidité relative de 50% à 85 %	139
IV.4.2. Comportements des taux d'émission des COV durant 28 jours à 85 % d'HR.....	143
IV.4.3. Suivi des cinétiques d'émissions de 3 COV	148
IV.5. Conclusions	151
IV.6. Références.....	153

Chapitre 5. Identification des COV associés au développement de moisissures

V.1.Introduction	159
V.2. Développement d'une méthodologie d'identification des COV d'origine fongique	160
V.2.1. Système expérimental	160
V.2.2. Déroulement de l'essai	160
V.2.3. Démarche analytique.....	162
V.3. Identification des émissions en COV associées à la croissance d' <i>Aspergillus niger</i> sur les isolants bio-sourcés	163
V.3.1. Identification de 14 COV d'origine fongique à partir des temps de rétention et ions spécifiques.....	163
V.3.2. Identification des COV d'origine fongique par superposition de chromatogrammes	166
V.4. Comparaison des chambres d'émission	174

V.5. Conclusions	180
V.6. Références.....	181
Conclusions générales et perspectives.....	185
Annexes.....	191

Liste de Tableaux

Chapitre 1. L'utilisation des isolants bio-sourcés dans la construction et la rénovation thermique de bâtiments

Tableau 1-1. COV concernés par l'étiquetage des matériaux de construction. Les niveaux de concentrations sont reportés en $\mu\text{g}/\text{m}^3$.	12
Tableau 1- 2. Niveaux du label "Bâtiment Bio-sourcé"	14
Tableau 1-3. Classification des moisissures selon les gammes de l'Aw auxquelles elles se développent	20
Tableau 1-4. Catégories de moisissures selon la gamme de température favorable à leur développement	22
Tableau 1-5. Comparaison de quatre méthodes d'essai utilisées pour déterminer la résistance des matériaux de construction au développement de moisissures	27
Tableau 1-7. Cotation des éprouvettes selon l'intensité de la croissance fongique	31
Tableau 1-8. Exigences pour déterminer le comportement des matériaux vis-à-vis de moisissures	32
Tableau 1-9. Structures chimiques, noms, références CAS et masses molaires de quelques isothiazolinones utilisés dans les additifs des matériaux et/ou les produits à usage courant	34
Tableau 1-10. Polluants de l'air intérieur	36
Tableau 1-11. Conditions de mise en œuvre d'un essai en chambre d'émission selon la norme ISO 16000-9	40
Tableau 1-12. Conditions de mise en œuvre d'un essai en cellule d'émission FLEC selon la norme ISO 16000-10	41
Tableau 1-13. Etudes portant sur l'influence de l'HR sur les émissions en COV des matériaux de construction et de revêtement	44
Tableau 1-14. Indice de Contamination Fongique (ICF)	49
Tableau 1-15. Etudes expérimentales et de revue portant sur l'identification de COVm émis par les matériaux et/ou retrouvés dans des logements	51
Tableau 1-16. Mycotoxines produites par certaines espèces de moisissures	56
Tableau 1-17. Symptômes liés au syndrome de bâtiment malsain ou SBS	57
Tableau 1-18. Impact sanitaire de quelques COV	58

Chapitre 2. Matériels et méthodes

Tableau 2-1. Composition et caractéristiques thermiques et sanitaires des isolants de l'étude	76
Tableau 2-2. Surface spécifique des isolant étudiés et d'autres matériaux isolants	78
Tableau 2-3. Dimensions moyennes des échantillons et surfaces émissives	85
Tableau 2-4. Jours de prélèvements et HR dans la chambre CLIMPAQ	85
Tableau 2-5. Caractéristiques de la chaîne analytique TD-GC-MS	87
Tableau 2-6. Caractéristiques de la chaîne analytique UV-HPLC	88
Tableau 2-7. Limites de détection (LD) obtenues pour les composés évalués	89
Tableau 2-8. Surface du matériau selon la partie de la pièce	90
Tableau 2-9. Temps de rétention et ions spécifiques des 14 COVm suggérés dans la littérature à partir de leur identification lors de campagnes de terrain	92

Chapitre 3. Potentialité des matériaux bio-sourcés au développement de moisissures

Tableau 3- 1. Evaluation de la croissance fongique des isolants de l'étude par la méthode Le Bayon et al (2015) et valeurs moyennes de teneur à T ₄	100
Tableau 3-2. Evaluation de la résistance des isolants de l'étude par la nouvelle méthode d'essai et valeurs moyennes de teneur en eau à T ₄	112
Tableau 3-3. Résumé des résultats obtenus de la mise en place de deux méthodes d'essais pour évaluer la résistance des matériaux vis-à-vis de moisissures.....	117

Chapitre 4. Caractérisation des émissions de COV des matériaux natifs en absence de moisissures

Tableau 4-1. Détails des essais mis en place pour l'isolant A	124
Tableau 4-2. Détails des essais mis en place pour l'isolant B	124
Tableau 4-3. Détails des essais mis en place pour l'isolant C	124
Tableau 4-4. Taux d'émission associés aux rangs de l'étiquetage des matériaux de construction pour un mur en µg/m ² /h.....	126
Tableau 4-5. Taux d'émissions (µg/m ² /h) des 10 COV réglementaires	127
Tableau 4-7 Aldéhydes et cétones émis par les trois isolants.....	131
Tableau 4-8. Pyrazines, terpènes et acides carboxyliques émis par les isolant bio-sourcés	132
Tableau 4-9. Ester carboxylique émis par l'isolant A	132
Tableau 4-10. Propriétés physico-chimiques des COV étudiés	138
Tableau 4-11. Taux d'émission des COV majoritaires émis par l'isolant A à 50 % d'HR et à 85 % d'HR.....	139
Tableau 4-12. Taux d'émission des COV majoritaires émis par l'isolant B à 50 % d'HR et à 85 % d'HR.....	140
Tableau 4-13. Taux d'émission des COV majoritaires émis par l'isolant C) à 50 % d'HR et à 85 % d'HR.....	140
Tableau 4-13. Taux d'émission (µg/m ² /h) des COV à 85 % d'HR durant 28 jours – ISOLANT A	144
Tableau 4-14. Taux d'émission (µg/m ² /h) de COV présentant un comportement de diminution progressive à 85 % d'HR durant 28 jours – ISOLANT B	145
Tableau 14-15. Taux d'émission (µg/m ² /h) de COV à 85 % d'HR durant 28 jours – ISOLANT C	146

Chapitre 5. Identification des COV associés au développement de moisissures

Tableau 5-1. Concentrations (µg/m ³) des COVm caractérisés sur les essais des matériaux « natifs » dans la chambre d'émission CLIMPAQ	164
Tableau 5-2. Concentrations (µg/m ³) des COVm caractérisés sur les essais des matériaux « natifs » dans la chambre d'émission CLIMPAQ	164
Tableau 5-3. Concentrations (µg/m ³) de 14 COVm potentiellement microbiens identifiés dans la chambre COVm.....	167
Tableau 5-4. Comparaison des taux d'émission (µg/m ² /h) de 12 COV, obtenus sur la chambre d'émission CLIMPAQ et la chambre d'émission destinée à évaluer la résistance des matériaux au développement fongique – ISOLANT A.....	175

Tableau 5-5. Comparaison des taux d'émission ($\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) de 12 COV, obtenus sur la chambre d'émission CLIMPAQ et la chambre d'émission destinée à évaluer la résistance des matériaux au développement fongique – ISOLANT B	176
---	-----

Liste de Figures

Chapitre 1. L'utilisation des isolants bio-sourcés dans la construction et la rénovation thermique de bâtiments

Figure 1-1. Étiquette indiquant la classe des émissions d'un matériau	12
Figure 1-2. Recensement des produits bio-sourcés disponibles sur le marché français destinés à la construction et rénovation des bâtiments	15
Figure 1-3. Cycle de vie d'une moisissure	19
Figure 1-4. Étapes principales des méthodes d'essai pour tester la résistance des matériaux aux moisissures.....	24
Figure 1-5. Sources potentielles des polluants de l'air intérieur dans les logements	38
Figure 1-6. Description générale d'une chambre d'essai d'émission.....	39
Figure 1-7. Chambre d'émission CLIMPAQ.....	40
Figure 1-8. Cellule d'émission FLEC.....	41
Figure 1-9. Mécanismes élémentaires d'interaction entre l'humidité et les polluants gazeux au sein des matériaux poreux.....	45
Figure 1-10. Emissions associées aux différentes étapes du développement des moisissures	47
Figure 1-11. Principales voies métaboliques pour la production de certains COV _m	48
Figure 1-12. Structure moléculaire des aflatoxines	56

Chapitre 2. Matériels et méthodes

Figure 2-1. Échantillons Isolants bio-sourcés	77
Figure 2-2. Échantillon de l'isolant C.....	78
Figure 2-3. Eprouvette de l'isolant A.....	79
Figure 2-4. Souche d' <i>Aspergillus niger</i> sur gélose DRBC	80
Figure 2-5. Étapes pour le dénombrement des UFC à partir des échantillons contaminés du matériau	83
Figure 2-6. Tube Tenax TA.....	86
Figure 2-7. Chaîne analytique (TD-GC/FID-MS).....	86
Figure 2-8. Cartouche DNPH destinée au prélèvement des COV carbonylés.....	87
Figure 2-9. Elution des cartouches DNPH et chaîne analytique UV-HPLC	88
Figure 2-10. Superposition de deux chromatogrammes du lin hors contamination et contaminé par <i>Aspergillus sp.</i>	93

Chapitre 3. Potentialité des matériaux bio-sourcés au développement de moisissures

Figure 3-1. Colonies d' <i>Aspergillus niger</i> sur la surface d'une éprouvette de l'isolant B	101
Figure 3-2. Colonies d' <i>Aspergillus niger</i> sur milieu DRBC	103
Figure 3-3. Système expérimental pour l'aérosolisation de spores	106

Figure 3-4. Bouteille contenant la souche d' <i>Aspergillus niger</i> connectée au système expérimental.....	107
Figure 3-5. Spores d' <i>Aspergillus niger</i> observées au MEB sur la surface d'une fibre de bois provenant de l'isolant B	109
Figure 3-6. Emplacement aléatoire des 3 boîtes de Petri vides destinée au calcul des spores déposées lors de l'aérosolisation.....	110
Figure 3-7. Protocole d'évaluation de la résistance des isolants bio-sourcés à la croissance de moisissures (« nouvelle » méthode)	111
Figure 3-8. Colonies d' <i>Aspergillus niger</i> sur la surface d'une éprouvette de l'isolant A	114

Chapitre 4. Caractérisation des émissions de COV des matériaux natifs en absence de moisissures

Figure 4-1. Cinétique de l'émission de l'acide acétique, du furfural et du cymène – Isolant A	149
Figure 4-2 Cinétique de l'émission du furfural et du cymène – Isolant B	150

Chapitre 5. Identification des COV associés au développement de moisissures

Figure 5-1. « Chambre d'essai d'émission COVm »	161
Figure 5-2. Déroulement de l'essai (36 jours) pour évaluer les COV associés au développement de moisissures. Jours après l'ensemencement en parenthèse.....	161
Figure 5-3. COVm identifiés sur les chromatogrammes obtenus des essais de l'isolant A..	169
Figure 5-4. COVm identifiés sur les chromatogrammes obtenus des essais de l'isolant B..	170
Figure 5-5. COV identifiés sur les essais des isolants A et B.....	171
Figure 5-13. Etapes de l'expérience mise en place pour évaluer l'impact du cristalliseur d'eau dans la chambre d'exposition destinée à la caractérisation de COVm.....	178
Figure 5-14. Effet du cristalliseur d'eau dans la chambre d'essai d'émission CLIMPAQ sur les taux d'émission des COV	179

Liste des abréviations

AAE : Alvéolites Allergiques Extrinsèques

ABPA : Aspergillose Broncho-Pulmonaire Allergique

ACERMI : Association pour la CERTification des Matériaux Isolants

ACP : Analyse en Composantes Principales

ACV : Analyse de Cycle de Vie

ADEME : Agence de l'Environnement et la Maitrise de L'Energie

AFNOR : Association Française de Normalisation

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ATeC : Avis Technique

Aw : Activité de l'eau

BBC : Bâtiment à Basse Consommation

BEPAS : Bâtiment à Energie Passive

BEPOS : Bâtiment à Energie Positive

CCFAT : Commission Chargée de Formuler les Avis Techniques

CEREMA : Centre d'études et d'expertise sur les Risques, l'Environnement, la Mobilité et l'Aménagement

CLIMPAQ : Chamber for Laboratory Investigations of Materials, Pollution and Air Quality

CMIT : Méthylchloroisothiazolinone

COV : Composés organique volatils

COsV: Composés organiques semi-volatils

COVm : Composés Organiques Volatils microbiens

COVT : Composés Organiques Volatils Totaux

CSTB : Centre Scientifique et Technique du Bâtiment

DG : Dicloran-Glycérol

DHUP : Direction de l'Habitat, de l'Urbanisme et des Paysages

DNPH : Dinitrophénylhydrazine

DRBC : Dichloran Rose Bengale Chloramphénicol

ECIMA : European Cellulose Insulation Manufacturers Association

ECM : Extra Cellular Matrix

ECMS : Emission Cell for simultaneous Multi-Sampler

EPA : Environmental Protection Agency

FDES : Fiche de Déclaration Environnementale et Sanitaire
FDS : Fiche de Données de Sécurité
FID : Flame Ionization Detector
FLEC : Field and Laboratory Emission Cell
GC : Gas Chromatography
GE : Grenelle de l'Environnement
HPLC : High Performance Liquid Chromatography
HR : Humidité Relative
HRE : Humidité Relative d'Equilibre
ICF : Indice chimique de Contamination Fongique
Kp : Coefficient de Partition
LD : Limite de détection
LRTECV : Loi Relative à la Transition Energétique pour la Croissance Verte
MDF : Medium Density Fiberboard
MDF : Medium Density Fiberboard
MEA : Malt Extract Agar
MI : Méthylisothiazolinone
MS : Mass Spectrometry
NIST : National Institute of Standards and Technology
OIT : Octylisothiazolinone
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OQAI : Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur
OSB : Oriented Strand Boards
PECS : Passive Emission Colorimetric Sensor
PFS : Passive Flux Sampler
PNSE : Plan National Santé Environnement
PTFE : Polytétra- Fluoréthylène
PVC : Polyvinyl Chloride
QAI : Qualité de l'Air Intérieur
RFCP : Réseau Français de la Construction Paille
RT : Règlementation Thermique
SBS : Sick Building Syndrome
SPME : Solid Phase Micro-Extraction
TD : Thermodesorbeur

UF : Urée-Formol

UFC : Unités Formant Colonies

Introduction générale

Introduction générale

En France, le secteur du bâtiment est particulièrement concerné dans la transition énergétique et par conséquent impliqué dans la lutte contre le dérèglement climatique. Pour rendre le bâtiment plus économe en énergie, il est nécessaire de rénover massivement l'existant et de développer des normes plus strictes en termes de consommation d'énergie pour les bâtiments neufs (MTES 2018). Or, ces actions doivent s'inscrire dans une démarche durable et répondre aux attentes de la performance énergétique mais aussi de confort et de santé des occupants. Ainsi, une attention grandissante et portée à la question de la qualité de l'air intérieur dans les bâtiments depuis plusieurs années. En octobre 2013, les ministères chargés de l'écologie et de la santé ont lancé le Plan d'actions sur la qualité de l'air intérieur lors de deuxièmes assises nationales de la qualité de l'air. Ce plan prévoit des actions à court, moyen et long terme afin d'améliorer la qualité de l'air dans les espaces clos. Celles-ci ont été intégrées dans le troisième Plan National Sante-Environnement (PNSE 3) (ANSES 2016).

Afin d'atteindre les objectifs de performance énergétique et de la qualité de l'air intérieur, l'utilisation de matériaux bio-sourcés se positionne comme une alternative intéressante notamment en raison de leur rôle pour diminuer la consommation de matières premières d'origine fossile et limiter les émissions de gaz à effet de serre (FFB 2015). En 2016, 60 % des matériaux bio-sourcés utilisés dans la construction ou la rénovation de bâtiments ont été destinés à l'isolation (laines de bois, ouate de cellulose, laines de chanvre et lin, coton recycle etc) (DGE et al. 2016). Ces isolants sont très bien adaptés aux bâtiments anciens parce qu'ils respectent une de leurs caractéristiques fondamentales qui est l'hygrométrie. Ils contribuent ainsi à la régulation de l'humidité grâce à leur capacité à accumuler ou relâcher de la vapeur d'eau en relation avec les conditions environnementales. Cependant, il est important d'éviter que l'humidité s'accumule au sein des parois car cela peut modifier considérablement les caractéristiques physiques, mécaniques et thermiques des matériaux. Pour ce faire, des précautions doivent être prises en phase chantier où il s'avère important de protéger les matériaux de toute source d'humidité lors du stockage et de la mise en œuvre, et pendant la durée de vie du bâtiment où il est important d'être vigilant aux dégâts d'eau (DREAL Centre-Val de Loire 2017).

De plus, une humidité relative excessive et une forte teneur en eau des matériaux peuvent favoriser le développement de moisissures, ce qui induit la détérioration des supports en raison de la dégradation des constituants qui sont utilisés comme substrats nécessaires à la croissance microbienne (Joblin 2012). Les matériaux bio-sourcés peuvent être particulièrement sensibles au développement fongique en raison de leur comportement hygrométrique, de par la composition organique de la matière première et du fait qu'ils peuvent

présenter un apport initial potentiel de microorganismes. La colonisation fongique des matériaux peut entraîner une dégradation de la qualité de l'air intérieur puisque des mycotoxines et des Composés Organiques Volatils microbiens (COVm) sont émis durant toutes les phases de développement (Verdier 2015a). Les COVm sont produits à partir du métabolisme primaire et secondaire des moisissures et correspondent à un large nombre de molécules appartenant principalement aux familles chimiques des alcools, des cétones, des terpènes, des aldéhydes, des composés aromatiques et de esters (Korpi et al. 2009).

L'émission de ces composés dans l'air des environnements intérieurs peut représenter un risque pour la santé des occupants. L'exposition aux COVm est suspectée d'être à l'origine d'affections respiratoires. Certains de ces composés peuvent entraîner l'apparition d'odeurs dans les habitations (la géosmine, le 1-octen-3-ol, le 2-octen-1-ol, le 3-octanol et le 3-octanone) mais leurs effets potentiels sur la santé sont encore contestés. Cependant, des symptômes d'irritations des yeux, du nez et de la gorge ont été associés à la présence de fortes odeurs produites par une croissance abondante de moisissures mais le mécanisme causal n'est pas clair. Les COVm sont également suspectés de jouer un rôle dans le Syndrome des Bâtiments Malsains (Sick Building Syndrome SBS) (ANSES 2016a ; Burge 2002 ; Bush et al. 2006 ; Crook et Burton 2010 ; Rivier et al. 2014).

La caractérisation de ces molécules dans l'air des environnements intérieurs pourrait permettre la détection de contaminations fongiques cachées ou précoces, ce que les méthodes conventionnelles basées sur une inspection visuelle et un échantillonnage de spores et/ou fragments fongiques n'assurent pas. Ainsi, des nombreuses études portent sur l'identification des COV d'origine fongique et visent à établir une empreinte chimique qui pourrait être utilisée dans les habitations suspectées de contaminations fongiques. La plupart de ces études sont basées sur des prélèvements à l'aide de supports adsorbants à large spectre notamment des tubes TENAX et sur l'analyse par spectrométrie en phase gazeuse (Gas Chromatography GC) associé à la spectrométrie de masse (mass spectrometry, MS).

Plus de 200 composés ont été identifiés comme étant associés au métabolisme fongique à l'échelle laboratoire (Korpi et al. 2009). Or, l'identification de « traceurs » du métabolisme de moisissures peut être problématique puisque l'émission de ces composés dépend du type de support, du stade de développement, de l'espèce (et parfois de la souche), et des conditions environnementales de croissance. De même, lorsque la caractérisation de ces composés est réalisée à partir des prélèvements d'air des environnements intérieurs, les concentrations peuvent s'avérer très faibles au regard des émissions des matériaux et de celles liées à l'activité des occupants.

Pour répondre à ces problématiques une collaboration entre le laboratoire GEPEA (Génie des procédés pour les écotechnologies et les bio ressources, UMR CNRS 6144) de l'IMT Atlantique de Nantes et l'IMT Lille-Douai, département Science de l'Atmosphère et Génie de l'Environnement (SAGE), a été engagée au travers d'une thèse de doctorat qui a porté sur l'étude la potentialité des matériaux bio-sourcés au développement de moisissures et l'impact sur la qualité de l'air intérieur.

Le premier chapitre de ce manuscrit présente d'abord les principaux matériaux bio-sourcés utilisés dans la rénovation et la construction de bâtiments ainsi que leurs caractéristiques principales. Ensuite, les impacts de l'humidité sur isolants bio-sourcés ainsi que les méthodes pour évaluer la résistance de ces matériaux au développement fongique sont présentés. De plus, les polluants pouvant dégrader l'air intérieur sont présentés et plus particulièrement les COV et COVm. Enfin, les impacts potentiels des COVm sont également décrits. Ce chapitre termine par la présentation de ce travail de thèse et la démarche scientifique mise en place.

Le deuxième chapitre est dédié à la description des matériaux étudiés ainsi qu'à la présentation des méthodologies mises en place pour évaluer la résistance de ces matériaux au développement de moisissures et pour caractériser les émissions de COV (en absence et en présence de moisissures).

Le troisième chapitre concerne la description et l'analyse des résultats portant sur la potentialité des isolants étudiés à être le siège du développement d'*Aspergillus niger*. Dans un premier temps, les résultats de l'évaluation de la résistance des matériaux au développement fongique, évaluée par une méthode d'essai d'une étude de la bibliographie, sont présentés. Dans un deuxième temps, la méthode d'essai développée pendant cette thèse est décrite et les résultats obtenus à partir de la mise en place de cette « nouvelle » méthode sont présentés dans ce chapitre.

Le quatrième chapitre porte sur la caractérisation des émissions de COV des matériaux natifs en absence de moisissures. Tout d'abord, les résultats concernant l'évaluation de COV réglementaires, COV majoritairement émis par les matériaux et certains COV d'intérêt sont présentés. Ensuite, l'effet de l'humidité sur les émissions en COV est décrit.

Enfin, le chapitre 5 est dédié à l'identification des COV associés au développement de moisissures. Les descriptions du système expérimental, du déroulement de l'essai et de la démarche d'analyse font l'objet de la première partie de ce chapitre. La deuxième partie présente les résultats obtenus lors de la caractérisation de COV pouvant être associés au développement d'*Aspergillus niger*.

Chapitre 1. L'utilisation des isolants bio-sourcés dans la construction et la rénovation thermique de bâtiments

I.1. Introduction

Afin d'atteindre les objectifs de performance énergétique du secteur du bâtiment en France, la rénovation massive du parc ancien et l'établissement de nouvelles réglementations pour les bâtiments neufs s'avèrent décisifs. Or, un bâtiment « responsable » doit aussi répondre aux attentes de confort et de santé des occupants. Dans cette optique, les matériaux bio-sourcés pourraient représenter une option intéressante.

Ces matériaux sont issus de la biomasse d'origine végétale ou animale et trouvent des nombreux usages dans le secteur du bâtiment. 60% des matériaux bio-sourcés sur le marché de la construction en France sont destinés à l'isolation (DGE et al. 2016). Les isolants bio-sourcés présentent de bonnes performances thermiques et environnementales et fonctionnent comme des tampons hydriques régulant l'humidité des environnements intérieurs. Cette caractéristique est particulièrement intéressante lors de la rénovation de bâtiments anciens pour lesquels il est important de conserver les transferts entre l'extérieur et l'intérieur.

Or, le comportement hygrothermique des isolant bio-sourcés peut devenir une contrainte si les échanges de vapeur d'eau ne s'effectuent pas correctement parce qu'une accumulation d'humidité au sein de matériaux peut modifier ces caractéristiques thermiques et mécaniques ainsi que favoriser le développement de moisissures. La colonisation fongique peut entraîner la dégradation des matériaux mais aussi impacter la qualité de l'air intérieur puisque des COVm sont émis durant la croissance des moisissures. Certaines de ces molécules pourraient être utilisées comme marqueurs du développement fongique quand elles sont caractérisées dans des habitations, ce qui est particulièrement intéressant lorsqu'il s'agit d'une contamination cachée ou précoce. L'évaluation de contaminations fongiques dans les environnements intérieurs s'avère important afin de préserver la structure du bâtiment mais aussi parce que le développement fongique peut représenter des risques (allergiques, inflammatoires et infectieux) sur les occupants de bâtiments contaminés (ANSES 2016a).

Ce premier chapitre a pour but de présenter l'état des connaissances concernant l'utilisation des isolants bio-sourcés dans le bâtiment et est divisé en trois parties : le cadre réglementaire, les principaux isolants bio-sourcés utilisés en France et les impacts de leur usage sur la qualité de l'air intérieur et la santé humaine.

I.2. Cadre réglementaire – « Le Bâtiment responsable »

I.2.1. Le Grenelle de l'Environnement (GE) et la Loi Relative à la Transition Énergétique pour la Croissance Verte (LRTECV)

Le GE (2007) est un ensemble de rencontres politiques et des débats organisés visant à établir des décisions sur le long terme en matière d'environnement et de développement durable. Les objectifs principaux concernent : la lutte contre le dérèglement climatique notamment en diminuant les émissions de gaz à effet de serre, et en améliorant l'efficacité énergétique ; la création de modes de consommation durables pour les secteurs de l'alimentation, la pêche, l'agroalimentaire et la distribution ; et, l'instauration d'un environnement respectueux de la santé en ce qui concerne la qualité de l'alimentation, la pollution, la gestion des déchets et l'air (MEDDTL 2007 a ; b ; c ; d ; e ; f).

Le secteur du bâtiment (résidentiel et tertiaire) est le plus grand consommateur en énergie, responsable de 47 % de la consommation finale (corrigée des variations climatiques) en 2016 et de la génération de 123 millions de tonnes de CO₂ par an (23 % des émissions nationales) (MEEM 2016; ADEME 2018; MTES 2018). C'est pourquoi une des résolutions majeures du GE vise à favoriser un urbanisme économe en ressources foncières et énergétiques et à mettre en œuvre une rupture technologique dans la construction neuve et la rénovation thermique accélérée du parc ancien. L'Etat s'est fixé comme objectif la rénovation complète de 500 000 logements chaque année depuis 2013 (article 5- Grenelle 1, 2009) afin de réduire la consommation en énergie des immeubles anciens de 38 % en 2020 par rapport au niveau de 2008. Cette rénovation thermique massive doit être conforme aux exigences de la réglementation thermique (RT) 2007-2008 (MCDT 2016). Pour les bâtiments neufs, une consommation énergétique de moins de 50 kWh/m²/an est exigée (RT 2012) depuis le 1^{er} janvier 2013 (Bâtiment Basse Consommation, BBC). Ce seuil peut être modulé en fonction de la localisation géographique, des caractéristiques et de l'usage des bâtiments. Et sur le long terme, tout bâtiment neuf devra être à énergie passive (BEPAS) à l'horizon 2020, et à énergie positive (BEPOS) à partir de 2050 (article 4 - Grenelle 1, 2009).

Avec l'adoption de la LRTECV (publiée au Journal Officiel du 18 août 2015) d'autres engagements ont été établis. Tous les bâtiments privés résidentiels dont la consommation en énergie primaire est supérieure à 330 kWh/m²/an doivent avoir fait l'objet d'une rénovation énergétique (article 5) avant 2025 (MTES et MCT, 2018). Cette rénovation devra prendre en considération l'impact environnemental complet du bâtiment, de sa construction à sa démolition. Dans l'article 14 de la loi, les pouvoirs publics ont expressément invités à encourager l'utilisation de matériaux de construction bio-sourcés. L'utilisation de ce type de

matériaux permet de réduire les consommations de matières premières d'origine fossile ainsi que de limiter les émissions à effet de serre (Cerema 2016).

I.2.2 Plan National Sante Environnement (PNSE)

Les trois PNSE (2004-2008, 2009-2013, 2015-2019) ont pour but la définition d'actions - en France - concernant la prévention des risques pour la santé liée à l'environnement. Les différentes thématiques des PNSE ont été abordées selon plusieurs axes : les milieux, les polluants, les pathologies et les types de population. Pour le milieu « environnement intérieur », la qualité de l'air est devenue un sujet de préoccupation grandissante principalement pour le nombre important de polluants retrouvés ainsi que le pourcentage de temps que les personnes passent dans des espaces clos (85 %, en moyenne). Afin d'élargir l'état de connaissance sur ce thème et d'apporter les éléments nécessaires aux pouvoirs publics pour l'évaluation et gestion de risques, l'Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur (OQAI) a été créé en 2001 dans le cadre du PNSE 2. Une série d'études de terrain a par la suite, été mise en place dans des bâtiments à usages différents : logements, établissements scolaires, bureaux, lieux de loisirs et bâtiments performants en énergie (PNSE2).

Ainsi, une campagne nationale pour évaluer l'état de la qualité de l'air dans les logements français a été menée sur la période 2003-2005 avec la mesure d'une trentaine de paramètres chimiques, physiques et biologiques dans l'intérieur, les garages et l'extérieur de 567 résidences principales. A partir de ce premier bilan, une réglementation nationale est devenue nécessaire puisqu'il n'existait pas de normes pour la plupart des composés retrouvés. Pour ce faire, une dizaine de polluants d'intérêt pour l'air intérieur (formaldéhyde, monoxyde de carbone, benzène, naphtalène, trichloréthylène, tétrachloroéthylène, particules, acide cyanhydrique, dioxyde d'azote, acroléine, acétaldéhyde, ethylbenzène et toluène) ont fait l'objet d'une expertise de l'Anses pour établir des valeurs réglementaires de surveillance de la qualité de l'air intérieur (ANSES 2018).

Une autre des principales actions importantes issues du PNSE 2 concerne l'étiquetage obligatoire relatif aux émissions de composés organiques volatiles (COV) de tous les produits de construction et décoration. Cette étiquette présente un pictogramme et une lettre en grand format indiquant aux acheteurs le niveau des émissions qui va de A+ (très faibles émissions) à C (fortes émissions) (Figure 1-1).

Figure 1-1. Étiquette indiquant la classe des émissions d'un matériau (D'après le Journal officiel de la république française n°0111 du 13 mai 2011, texte 15 ; ADEME 2017a))

La classification est réalisée à partir des émissions associée à la quantification de 10 COV, choisis sur la base de deux principaux critères : leur forte présence dans les environnements intérieurs et leurs effets sur la santé humaine (Tableau 1-1) (MLHD 2013).

Tableau 1-1. COV concernés par l'étiquetage des matériaux de construction. Les niveaux de concentrations sont reportés en µg/m³. (Source : ADEME 2017a)

COV	Unité	A ⁺	A	B	C
Formaldéhyde	µg.m ⁻³	< 10	< 60	< 120	> 120
Acétaldéhyde	µg.m ⁻³	< 200	< 300	< 400	> 400
Toluène	µg.m ⁻³	< 300	< 450	< 600	> 600
Tetrachloroéthylène	µg.m ⁻³	< 250	< 350	< 500	> 500
Xylènes	µg.m ⁻³	< 200	< 300	< 400	> 400
1,2,4-Triméthylbenzène	µg.m ⁻³	< 1000	< 1500	< 2000	> 2000
1,4-Dichlorobenzène	µg.m ⁻³	< 60	< 90	< 120	> 120
Ethylbenzène	µg.m ⁻³	< 750	< 1000	< 1500	> 1500
2-Butoxyéthanol	µg.m ⁻³	< 1000	< 1500	< 2000	> 2000
Styrène	µg.m ⁻³	< 250	< 350	< 500	> 500
COV Totaux	µg.m ⁻³	< 1000	< 1500	< 2000	> 2000

Les objectifs du GE et de la LRTECV ainsi que les exigences concernant la qualité de l'air intérieur (QAI) définies dans le PNSE2 font qu'un bâtiment dit « responsable » nécessite de considérer l'ouvrage dans son ensemble, depuis sa conception jusqu'à sa destruction, et en prenant en compte la QAI qu'il procure durant son occupation. (FFB 2015).

I.3. Les matériaux bio-sourcés dans le bâtiment

Les matériaux bio-sourcés sont définis comme des matériaux dont la matière première est issue de la biomasse végétale ou animale (arrêté du 19 décembre 2013) (MEDM 2016). De ce fait, ils concourent significativement au stockage de carbone atmosphérique et à la préservation des ressources naturelles, ce qui les rend plus sobres en énergie et plus respectueux de l'environnement (Nomadéis 2012). Ces matériaux sont utilisés dans l'habitat depuis longtemps, mais leur usage a diminué significativement au 20^{ème} siècle en profit de

l'utilisation du béton, des polymères et des laines minérales. C'est vers les années 70, suite aux crises de l'énergie survenues au cours de cette décennie et à l'urgence d'une réduction des déchets issus de l'industrie du bâtiment, qu'ils commencent à réapparaître sur le marché notamment dans le secteur de l'isolation (Degrange 2012 ; CeseR 2017).

I.3.1 Principaux matériaux bio-sourcés et principales applications

Plusieurs filières de matériaux bio-sourcés destinés à la construction existent en France. Or elles ont connu divers freins à leur développement qui pourraient être associés à la méconnaissance de leurs caractéristiques spécifiques (thermiques, acoustiques, mécaniques etc) et des risques potentiels de leur usage (AQC, MEEM, et MLHD 2016). Cependant, la Direction de l'Habitat, de l'Urbanisme et des Paysages (DHUP) des Ministères de la Transition Ecologique et Solidaire et de la Cohésion des territoires travaille depuis 2009 auprès des organismes scientifiques et techniques afin de lever les obstacles pouvant limiter leur usage (animation des plans d'action matériaux de construction biosourcés I et II depuis 2010) (Nomadéis 2017).

En 2012, le législateur a souhaité donner un cadre de reconnaissance avec la parution d'un décret relatif à la création d'un label « Bâtiment Bio-sourcé » (Décret n° 2012-518 du 19 avril 2012). Celui-ci fait référence à toutes les nouvelles constructions (toutes typologies de bâtiments confondues) incluant une certaine quantité de matière biosourcée et est attribué dans le but de valoriser les performances environnementales des matériaux bio-sourcés, de développer le tissu économique local et d'encourager les maîtres d'ouvrage à les utiliser. L'obtention du label est basée sur deux critères : le type de matériaux utilisés et le taux d'incorporation de matières bio-sourcées (Tableau 1-2).

De plus, les matériaux éligibles doivent remplir les caractéristiques suivantes :

1. Posséder une Fiche de Déclaration Environnementale et Sanitaire (FDES).
2. Etre apte à l'usage : relever des règles professionnelles, d'avis techniques (ATeC), de certifications ou de normes.

Tableau 1- 2. Niveaux du label "Bâtiment Bio-sourcé" (Source : DRIEA-Ile de France, 2016)

Niveau du label	Type de matériau utilisé (Familles de matériaux utilisés et fonctions dans le bâtiment)	Taux d'incorporation (kg/m ² de surface de plancher)		
		MI*	I, S, ST**	AU***
1	Au moins deux produits de construction bio-sourcés appartenant ou non à la même famille	42	9	18
2	Au moins deux familles de produits de construction bio-sourcés	63	12	24
3		84	18	36

*Maison individuelle, ** Industrie, stockage, service de transport, *** Bâtiment collectif d'habitation, hébergement hôtelier, bureaux, commerce, enseignement, bâtiment agricole, etc

3. Etre étiqueté A ou A+ à pour les émissions de COV
4. Respecter les directives européennes concernant la mise sur le marché de produits biocides, si le matériau contient des biocides.
5. Disposer d'une preuve attestant la gestion durable des forêts, si le produit est composé de bois (DRIEA-Ile de France, 2016).

Les applications des matériaux bio-sourcés dans le bâtiment sont nombreuses. Ils peuvent être utilisés en structure porteuse, en isolation, en cloisonnement, en bétons, en mortiers et enduits, ou comme colles, adjuvants et peintures (FFB 2015) (ADEME 2015). Selon un recensement réalisé en 2016, 60 % de produits bio-sourcés disponibles sur le marché français ont été destinés à l'isolation (Figure 1- 2).

I.3.2 Les isolants bio-sourcés

Les isolants bio-sourcés se présentent sous forme de panneaux (rigides, semi-rigides), rouleaux, en vrac ou en granulats et, représentaient environ 5 % du marché de l'isolation en 2017 (les isolants en fibre de bois assurant la moitié de cette part) (ADEME 2017a). Depuis 2010, différentes filières se sont développées en France :

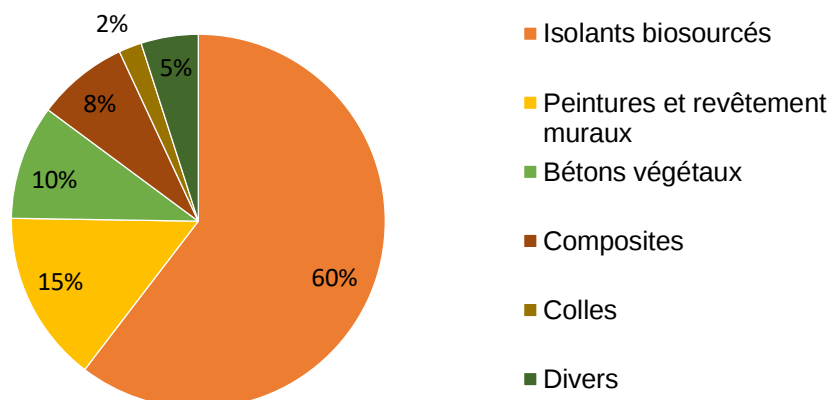


Figure 1-2. Recensement des produits bio-sourcés disponibles sur le marché français destinés à la construction et rénovation des bâtiments (DGE et al. 2016)

❖ **Le bois :**

Le bois est, depuis très longtemps, utilisé dans le secteur de la construction et trouve de nombreuses applications. A partir du défibrage des produits connexes du bois, des panneaux isolants rigides (densité comprise entre 110 et 280 kg/m³) et semi-rigides (densité comprise entre 35 et 55 kg/m³) peuvent être obtenus et s'utilisent en isolation de murs par l'intérieur et l'extérieur, combles perdus et toitures (Nomadéis 2012).

Outre le caractère renouvelable et la grande disponibilité du bois, les panneaux de fibre de bois sont appréciés sur le marché car ils présentent des bonnes performances thermiques et acoustiques. En 2012, l'ACERMI (certificateur des isolants thermiques en France) avait certifié 44 produits à base de fibres de bois, certains portant un avis technique délivré par le Centre Scientifique et Technique du Bâtiment (CSTB) (AQC et al. 2016b ; DREAL 2015 ; Poggi 2012).

❖ **Le chanvre**

Le chanvre est largement utilisé dans différents domaines car l'intégralité de la plante peut être valorisée. A l'exception du bois d'œuvre, le chanvre est le matériau bio-sourcé le plus utilisé en France. Pour l'isolation, deux grandes familles de produits sont obtenues à partir du chanvre : les produits d'isolation rapportée thermique et/ou acoustiques (laines et granulats) et les produits de remplissage (bétons, mortiers, enduits et blocs à façonner : granulats mélangés à des liants) (Nomadéis 2015).

❖ **La ouate de cellulose**

La ouate de cellulose est obtenue à partir des papiers recyclés (journaux, magazines, chutes etc.) qui sont conditionnés en panneaux semi-rigides ou utilisés en vrac après avoir été broyés et défibrés. Les isolants à base de ouate de cellulose s'utilisent principalement pour l'isolation de murs et combles perdus (Besse et al. 2014 ; Le Déaut et Deneux 2013).

❖ **Le textile recyclé**

Les isolants à base de textile recyclé sont produits à partir de fibres des textiles usagés majoritairement composés de coton qui proviennent de la chute de l'industrie textile, des emballages des entreprises, et des vêtements usagés des ménages. Ces fibres sont thermoliées à des fibres de polyester pour fabriquer des panneaux semi-rigides et des rouleaux (FFB 2015).

❖ **La paille**

La paille provient des tiges des certaines céréales récoltées à maturité et conditionnées en bottes, panneaux ou enduits (DREAL- Pays de la Loire 2013 ; FFB 2015). Le Réseau Français de la Construction Paille (RFCP) a recensé en 2016 près de 35000 bâtiments isolés en paille. La plupart correspond à des maisons individuelles mais, des immeubles de logements et des bureaux sont de plus en plus nombreux à être isolés en utilisant ce matériau (AQC et al. 2016a)

❖ **Le lin**

Le lin trouve différentes applications dans plusieurs domaines puisque la France est le premier producteur de lin au monde. Deux sous-produits du lin sont utilisés pour fabriquer des matériaux isolants : les fibres courtes et les anas, à partir desquels des panneaux et de rouleaux sont fabriqués. Dans le bâtiment, ils sont utilisés dans l'isolation de planchers, murs en ossature bois, toitures en rampants et combles (ARCENE et al. 2012 ; Nomadéis 2012).

❖ **Le liège**

Les matériaux isolants fabriqués à partir du liège proviennent de deux sources principales :

- 1) Ecorce du chêne-liège : des panneaux 100 % liège et de granulats sont produits à partir de cet arbre.
- 2) Bouchons recyclés : ces déchets sont broyés et agglomérés avec de la colle pour la fabrication de panneaux isolants. (FFB 2015 ; Nomadéis 2012).

❖ **La laine de mouton**

La laine de mouton lavée permet la fabrication de panneaux et de rouleaux qui sont utilisés dans l'isolation des combles perdus, des murs, et des rampants de toiture. Deux types d'isolants peuvent être produits :

- 1) Laines épaisses : composées à 80 voire 90 % de fibres de laine de mouton liées avec des fibres thermofusibles
- 2) Isolants minces : la laine est conditionnée dans des films en aluminium (FFB 2015 ; Nomadéis 2012).

1.3.2.1 Performances thermiques des isolants bio-sourcés

En complément de leurs vertus vis-à-vis de la construction durable, les isolants bio-sourcés sont devenus intéressants pour leurs caractéristiques techniques. La performance thermique des isolants est caractérisée par la résistance thermique (R , exprimée en m^2/KW) qui traduit la capacité des matériaux à résister au passage de la chaleur. Elle s'obtient du rapport de deux paramètres : la conductivité thermique ou λ (λ), qui fait référence à la propriété des matériaux à transmettre la chaleur par conduction, et l'épaisseur (e) du matériau ($R = e / \lambda$). La résistance thermique totale d'une paroi est égale à la somme des résistances thermiques de chacune des couches de matériau que la constitue (Energie Rhône-Alpes 2015).

La RT 2012 vise à accroître la résistance thermique de l'enveloppe des bâtiments pour permettre l'amélioration de la performance thermique et par conséquent la limitation de la consommation énergétique. Pour ce faire, les isolants choisis dans les nouvelles constructions doivent présenter une conductivité thermique basse ou une épaisseur plus élevée, ou bien les deux à la fois (Poggi 2012). Certains isolants bio-sourcés ont des conductivités thermiques similaires à celles des laines minérales et peuvent présenter des épaisseurs pouvant répondre aux attentes de la RT 2012 (ADEME 2016a).

1.3.2.2 Comportement hygrothermiques des isolants bio-sourcés

La majeure partie des isolants bio-sourcés présentent un comportement de régulateur hygrothermique, à savoir qu'ils fonctionnent comme de tampons hydriques modérant l'humidité excessive dans l'air intérieur puisqu'ils ont la capacité à accumuler de la vapeur d'eau et inversement dans le cas d'une ambiance trop sèche (Palumbo et al. 2016 ; Poggi 2012). La régulation des variations d'humidité relative à l'intérieur contribue considérablement à l'amélioration du confort hygrothermique (HR entre 40 % et 65 % pour une température de l'air autour de 22°C selon le diagramme de Fauconnier) (Palumbo et al. 2016 ; ASPA 2014).

I.4. Isolants bio-sourcés, humidité et moisissures

Des échanges importants de vapeur d'eau se présentent entre l'intérieur et l'extérieur des murs et dépendent des conditions comme l'environnement microclimatique, les cycles jour/nuit, les sollicitations hautes fréquences (vent, rayonnement solaire, pluie...), les changements d'état (fonte de neige, évaporation, condensation, ...) mais également des conditions intérieures des locaux comme les cycles de chauffage, la présence des occupants, et celles des pièces humides (salle de bains, cuisine, sanitaires). Un excès de vapeur d'eau ou un défaut du système de ventilation peuvent entraîner l'accumulation d'eau dans les isolants et altérer leurs propriétés thermiques ou bien favoriser le développement de moisissures (Berger et al. 2012).

I.4.1 Dégradation des performances thermiques

Dans le cas des matériaux qui fonctionnent comme des tampons hygrothermiques, la capacité d'adsorption/désorption de l'eau peut conduire à une augmentation temporaire de la conductivité thermique (capacité d'un matériau à transmettre ou à retenir la chaleur), qui peut éventuellement devenir permanente au fil des cycles d'humidification/séchage et en conséquence altérer le pouvoir isolant du matériau. Selon le rapport du Centre d'études et d'expertise sur les Risques, l'Environnement, la Mobilité et l'Aménagement, CEREMA (2016), la conductivité thermique des isolants bio-sourcés se dégrade considérablement lorsque l'humidité relative est augmentée à 100 %, ce qui n'est pas le cas pour les isolants conventionnels (hormis la laine de verre). Toutefois, cette situation peut être temporaire et la conductivité thermique du matériau peut revenir à des valeurs plus acceptables lorsqu'il sèche et que l'humidité relative ne dépasse pas le 80 %.

I.4.2 Développement des moisissures

L'accumulation d'humidité au sein des isolants pourrait également favoriser le développement de moisissures. Ceci dépend des caractéristiques du matériau, des conditions environnementales auxquelles il est exposé et des caractéristiques propres de l'espèce. Les moisissures se développent principalement sur les matériaux ligno-cellulosiques mais peuvent coloniser des substrats de natures et compositions différentes car elles présentent des réponses physiologiques variées aux paramètres environnementaux (ANSES 2016 ; Stefanowski et al. 2017).

1.4.2.1 Cycle de vie et paramètres environnementaux déterminant la croissance de moisissures

Les moisissures sont des champignons microscopiques à croissance filamenteuse et leur développement comporte trois étapes principales : germination, croissance et sporulation (Figure 1-3). Tout d'abord, la spore doit s'hydrater pour donner naissance au premier filament ou hyphe qui commencera à s'allonger et se ramifier. Les hyphes ramifiés croissent en puisant l'eau et les substances organiques dans le substrat colonisé pour former le mycélium, structure qui assure le maintien, la croissance et la multiplication de la moisissure. A partir du mycélium, des organes de fructification (conidiophores) se développent et produisent de nouvelles spores (conidies) (Joblin 2012 ; Méheust 2012).

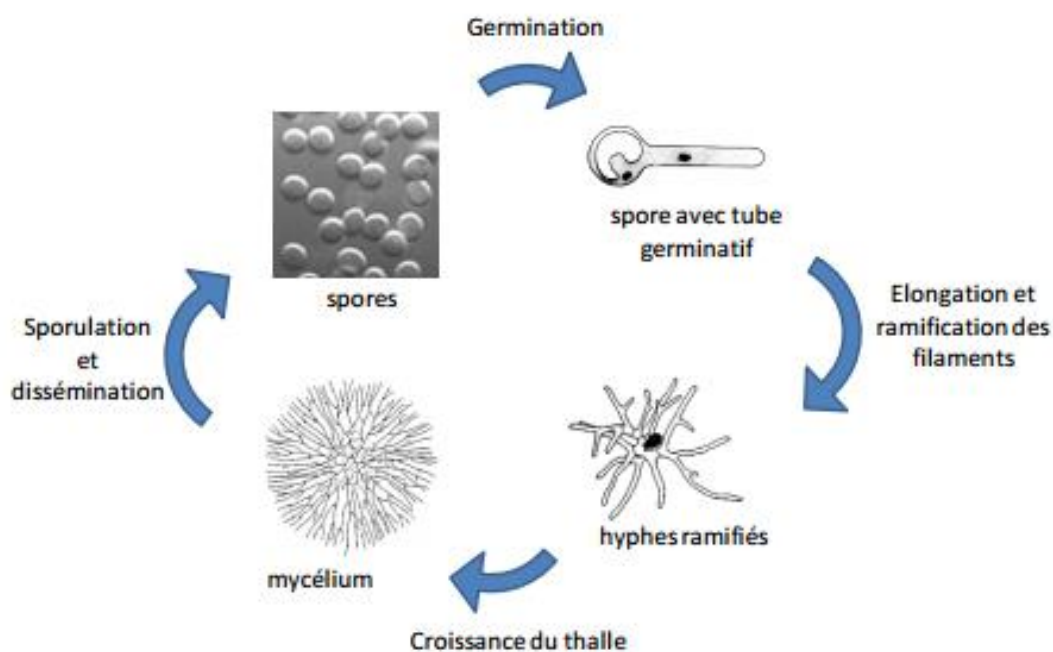


Figure 1-3. Cycle de vie d'une moisissure (Méheust 2011)

Les spores pénètrent dans les bâtiments via les systèmes de ventilations, les portes et fenêtres, les occupants ou bien les animaux (CSTB 2015). Lorsqu'elles rentrent en contact avec la surface d'un matériau, elles peuvent rester inertes sans l'endommager, mais si les conditions deviennent propices à la germination et l'expansion du mycélium, la dégradation du matériau aura lieu (Kuske et Nicolas 2004). Cette biodégradation résulte de deux types de mécanismes : une action physique produite par le développement des hyphes dans le matériau ; et une action biochimique liée à la production d'enzymes et/ou de métabolites qui agissent par assimilation ou dissimilation (Méheust 2012).

Le développement de moisissures sur les matériaux est déterminé par plusieurs paramètres environnementaux :

❖ **Activité de l'eau (Aw) et humidité relative (HR)**

L'eau, principalement à l'état liquide, est essentielle pour les échanges transmembranaires et certaines réactions métaboliques au sein des cellules des moisissures (Deacon 2006 ; Joblin 2012). La présence d'eau dans les matériaux est souvent définie par l'activité de l'eau (Aw), qui représente la quantité disponible pour les moisissures. L'Aw correspond au rapport de la pression partielle de l'eau dans un matériau sur la pression de vapeur saturée de l'eau pure à la même température (équation 1) (Boudih 2013 ; Haleem et al. 2012 ; Méheust 2012 ; Nielsen et al. 2004).

$$(1-1) \quad A_w = \frac{p}{p_0}$$

p= Pression de la vapeur d'eau présent dans le matériau

p₀= Pression de la vapeur d'eau pure

L'Aw s'exprime par un nombre sans dimension compris entre 0 et 1 et les besoins en eau varient selon l'espèce. Les moisissures peuvent être classées en trois catégories selon les gammes d'Aw favorables à leur développement (Tableau 1-3).

Tableau 1-3. Classification des moisissures selon les gammes de l'Aw auxquelles elles se développent (Adapté de Li et Yang 2004)

Gamme de l'Aw	Catégorie	Exemples
<0.80	Xérophiles	<i>A.fumigatus</i> , <i>A.niger</i> , <i>A.sidowii</i> , <i>A.ustus</i> , <i>Eurotium spp.</i> , <i>P.brevicompactum</i> , <i>P.commune</i> , <i>P.coryliphilum</i> , <i>P.palitans</i> , <i>Wallemia sebi</i>
0.80-0.90	Mésophiles	<i>Alternaria spp.</i> , <i>Cladosporium spp.</i> , <i>Epicoccum nigrum</i> , <i>Phoma spp.</i> , <i>Ulacladium spp.</i>
>0.90	Hydrophiles	<i>Chaetomium globosum</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Stachybotrys chartarum</i> , <i>Trichoderma spp.</i>

La phase de germination nécessite un apport d'eau plus important vis-à-vis de la phase de croissance (AGRAEP 2009). Lorsque l'activité de l'eau de l'extérieur de la spore est inférieure à celle de l'intérieur, elle est soumise à un stress osmotique et est incapable d'absorber l'eau nécessaire pour germiner. Au contraire, si l'Aw augmente à l'extérieur, le

transport d'eau vers la cellule a lieu et une série de réactions se déclenchent, permettant à la spore de s'hydrater (Boudih 2013 ; Haleem et al. 2012 ; Nielsen et al. 2004). Ce processus est également soumis à l'influence de la température, plus elle est basse, plus les spores nécessitent d'eau disponible pour s'hydrater. Une augmentation de la température peut conduire à une réduction du niveau de l' A_w requis par certaines moisissures pour croître. (Pernilla 2012 ; Verdier 2015).

L'humidité relative de l'air fait référence à la pression partielle de vapeur d'eau dans l'air $p(vap)$ vis-à-vis de la capacité de vapeur d'eau maximale que l'air peut contenir $p(sat)$. L'HR dépend de la température et de la pression (Zoz 2016) :

$$(1-2) \quad HR = \frac{p(vap)}{p(sat)}$$

Dans un système à l'équilibre, l' A_w et l'HR sont liées par l'équation suivante

$$(1-3) \quad HR = A_w \times 100$$

L' A_w représente la disponibilité de l'eau liquide dans un milieu liquide ou solide et l'HR représente la teneur en eau dans un milieu gazeux en équilibre (Zoz 2016).

Dans un système en équilibre hydrique, l'HR de l'air correspond à l'HR de la surface du matériau, nommée humidité relative d'équilibre (HRE). Les matériaux deviennent la cible de la prolifération fongique lorsque les valeurs d'HRE sont supérieures à 70 % pour les matériaux à base de bois, 85 % les matériaux gypse et autour de 90-95 % pour les matériaux cimentaires (Pernilla 2012 ; Johansson et al. 2014 ; Pasanen et al. 2000 ; Verdier 2015).

❖ Température

Les moisissures peuvent répondre à une large gamme de températures de croissance allant de 0 et 10°C pour les minimales et de 35 à 52°C pour les maximales (Tableau 1-4). Ce paramètre affecte principalement leur cinétique de croissance (Joblin 2012). Dans les environnements intérieurs, les moisissures sont principalement mésophiles : leur croissance est optimale à des températures proches de la température ambiante des locaux (Boudhin 2011 ; Méheust 2012).

Tableau 1-4. Catégories de moisissures selon la gamme de température favorable à leur développement (Boudih, 2011)

Type de moisissure	Gamme de température (°C)	Température optimale (°C)
Mésophiles	0 à 50	15 à 30
Thermophiles	20 à 50	35 à 40
Thermotolérants	0 à 50	15 à 40
Psychrophiles	0 à 20	0 à 17

Le temps d'exposition aux conditions optimales de température et humidité est aussi important. Dans les bâtiments, ces variables peuvent être très fluctuantes et le taux de croissance des moisissures peut diminuer lorsque les périodes favorables sont interrompus par des périodes moins favorables (Gradeci et al. 2017).

❖ **Composition chimique du substrat**

Les moisissures sont hétérotrophes et nécessitent de l'oxygène ainsi que de la matière organique disponible pour se développer. La plupart de moisissures sont saprophytes, elles tirent les substances qui leurs sont nécessaires des matières organiques en décomposition (CSHPF 2006 ; CSTB 2015 ; Méheust 2012). Les besoins nutritionnels de ces organismes peuvent être classés en deux catégories : les nutriments constitutifs comme le carbone, l'azote, l'hydrogène, le potassium, le soufre, le phosphore et le magnésium ; et les oligonutriments parmi lesquels figurent le fer, le cuivre, le manganèse, le zinc et le molybdène (Boissier 2003 ; Griffin 1996 ; Méheust 2012). Ces composés peuvent se retrouver dans les poussières qui s'accumulent sur les meubles et d'autres composants des environnements intérieurs et peuvent suffire pour déclencher la germination de spores (Pasanen et al. 2000).

Lors de leur croissance, les moisissures dégradent la matière organique complexe grâce à l'action d'enzymes hydrolytiques et d'acides. Les composants digérés, plus facilement assimilables, sont ensuite absorbés à travers la paroi cellulaire perméable. Certaines espèces ont la capacité de dégrader des polymères très complexes comme la lignine et la cellulose et d'autres, comme certaines espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium*, préfèrent les sucres plus simples et se développent très rapidement (Boissier 2003 ; Méheust 2012).

1.4.2.2 Moisissures sur les isolants bio-sourcés

Les isolants bio-sourcés sont particulièrement sensibles au développement fongique étant donnée leur forte capacité hygroscopique, leur composition chimique (cellulose, hémicellulose, lignine et protéines) et le fait que la plupart des espèces de moisissures

synthétisent des enzymes cellulosiques (Viel et al. 2019 ; Laborel-Préneron et al. 2018 ; Kallavus et al. 2017; Hoang et al. 2010). Dans l'étude de Sterflinger et al. (2013), la croissance des colonies de *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus niger* et *Penicillium chrysogenum* a été observée sur des panneaux en fibres de bois ainsi que sur de la ouate de cellulose en vrac après exposition à des conditions hygrométriques favorables à leur développement. Par ailleurs, Hyvärinen et al. (2002) ont constaté que le développement fongique était plus important sur les matériaux à base de bois et papier que sur les isolants minéraux, les peintures ou les colles.

Les matériaux peuvent se contaminer par des spores de moisissures pendant les phases de transport, de stockage et/ou de mise en œuvre. Dans l'étude menée par Kallavus et al. (2017), la résistance à développer de moisissures des différents panneaux de fibres de bois disponibles sur le marché a été testée. Les échantillons (non stérilisés ni séchés) ont été exposés à des conditions d'HR importantes. Au cours de trois semaines, tous les échantillons présentaient un développement naturel d'une ou plusieurs espèces des genres *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, et *Eurotium*. Par ailleurs, Viel et al. (2019) ont mis en évidence la croissance de trois espèces de moisissures (*Penicillium Brevicompactum*, *Eurotium Rubrum* et *Aspergillus ruber*) sur cinq types de matériaux composites à base des chènevottes et de paille de colza non contaminés artificiellement (à 30°C et 90 % HR).

Koivula et al. (2005) ont quantifié les microorganismes naturellement présents sur des fibres de chanvre et lin, montrant qu'ils pouvaient contenir jusqu'à 1.10^5 fois plus que les matériaux minéraux classiques. Dans les études de Simons et al. (2015) et Laborel-Préneron et al. (2018), des colonies de moisissures, principalement des genres *Aspergillus* et *Penicillium*, ont été isolées à partir des échantillons provenant des matériaux à base de terre-paille.

1.4.2.3 Méthodes d'essai pour évaluer la résistance des isolants bio-sourcés au développement de moisissures

La susceptibilité d'un matériau au développement des moisissures peut être définie comme sa résistance à leur croissance dans des conditions d'humidité favorables et, varie selon le type de matériau (Johansson 2014). Les méthodes d'essai définies dans des normes internationales, américaines et européennes sont basées sur des principes équivalents. En général, les échantillons sont contaminés avec les spores des moisissures, ils sont ensuite incubés à 90-95 % d'HR et 20°C minimum de température. Après quelques semaines, souvent quatre, la croissance est évaluée et, suivant des catégories établies préalablement dans la norme, le matériau est classé (Figure 1-4).

Ces méthodes peuvent différer suivant l'espèce de moisissure, le nombre de spores déposées, les conditions hygrothermiques, et les critères d'évaluation de la croissance (ANSES 2016a ; Johansson 2014). La durée des tests peut varier entre 2 et 12 semaines et les différences entre les protocoles portent surtout sur le type de matériau à évaluer, le choix des espèces et la méthode d'inoculation (Verdier 2015).

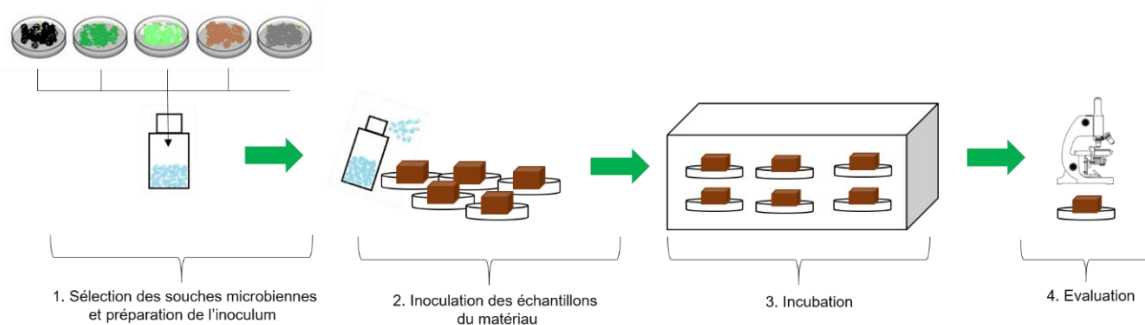


Figure 1-4. Etapes principales des méthodes d'essai pour tester la résistance des matériaux aux moisissures

1. Sélection et culture de la souche fongique

Les souches fongiques utilisées au cours d'un essai peuvent provenir d'une collection identifiée (souches de référence) ou des prélèvements *in situ* (souches sauvages). Les espèces fongiques cultivables et donc identifiées dans l'environnement intérieur sont principalement les moisissures du genre *Aspergillus* (*A.fumigatus*, *A. niger*, *A. versicolor*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. glaucus*), du genre *Penicillium* (*P. aurantiogriseum*, *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. glabrum*) et du genre *Cladosporium* (*Cladosporium cladosporioides* et *Cladosporium sphaerospermum*) (CSHPF 2006 ; ANSES 2016b ; Verdier 2015).

Une fois que les souches ont été sélectionnées, elles sont cultivées séparément sur de milieux de culture gélosés. Pour la culture de champignons, les milieux doivent répondre aux qualités suivantes :

- Inhibition de la croissance des bactéries,
- Présence de nutriments suffisants pour permettre la croissance de champignons à croissance difficile,
- Limiter ou supprimer la croissance d'espèces envahissantes

- Ralentissement de la croissance radiale des colonies pour éviter leur chevauchement (Moularat et al. 2013).

2. Méthode d'inoculation

L'inoculation naturelle a été suggérée par certains auteurs comme étant la façon de contamination la plus représentative des conditions réelles. Cependant, l'inoculation artificielle est la technique souvent utilisée puisque le temps de l'essai peut être réduit et les essais sont plus répétables (Laborel-Préneron et al. 2018).

Pour l'inoculation artificielle, une suspension de spores de moisissures est préparée en versant dans chaque subculture une solution stérile contenant un agent mouillant non toxique comme le monooléate de sorbitane (Tween 80), le dioctylsulfosuccinate de sodium ou le laurylsulfate de sodium, pour éviter l'agglutination de spores. Les charges des spores des subcultures sont ensuite récupérées et mélangées dans des volumes égaux. La suspension mélangée est par la suite soumise à agitation afin de libérer les spores des organes de fructification et de rompre les agglutinations de spores. La concentration de cellules par ml est calculée à l'aide d'une cellule à numération comme celle de Malassez. Finalement, elle est filtrée et centrifugée et la viabilité doit être vérifiée à la suite de la préparation ou bien durant la période d'incubation (Norme EN 15101).

Les techniques d'inoculation artificielle les plus utilisées sont le dépôt de goutte par pipette et la vaporisation. L'utilisation de la pipette permet de déposer une quantité précise de cellules en suspension à la surface des matériaux, alors que la vaporisation génère une répartition relativement homogène mais en quantité moins précise, sur une surface plus grande en limitant la phase aqueuse. (Verdier 2015 ; Laborel-Préneron et al. 2018).

3. Conditions d'incubation

L'incubation fait référence à la période de l'essai durant laquelle le matériau est en contact avec les microorganismes. Les essais sont menés le plus souvent à une température supérieure à 25°C, mais cette valeur peut varier selon l'espèce choisie ou l'objectif du test. Une HR élevée permet de réduire au minimum la durée du test, les normes recommandent une valeur entre 70 % et 97 %, conformément à l'objectif de l'essai. La technique pour maintenir cette valeur d'HR n'est pas précisée dans les normes et donc différents dispositifs peuvent être utilisés dans les enceintes climatiques selon le choix des chercheurs : solutions salines, vemiculite, récipients remplis d'eau, ou bien des systèmes spécifiques permettant le contrôle du flux d'air (Verdier 2015 ; Wiktor et al. 2011).

Afin d'accélérer la croissance microbienne, une source nutritive peut être rajoutée sur le substrat. Cependant, cette condition diffère des conditions de croissance naturelles. Le temps d'incubation peut varier selon l'essai, les différentes études dans la littérature montrent que cette période peut varier de 42 jours jusqu'à 30 semaines (Verdier 2015 ; Laborel-Préneron et al. 2018).

4. Evaluation du développement fongique sur les éprouvettes des matériaux

Evaluation qualitative : présence/absence de croissance fongique

La méthode la plus répandue pour évaluer la croissance fongique sur les matériaux porte sur l'inspection visuelle périodique au microscope. Cette observation est analysée par un classement de différentes étapes de la prolifération. Un matériau est considéré comme « non résistant » au développement de la moisissure si des organes de fructification sont observés sur les échantillons puisque ceci veut dire que la moisissure est en étape de sporulation. Cette dernière est une de phases la plus dangereuse pour la santé humaine car de spores et des fragments d'hyphes pouvant être aéroportés (Laborel-Préneron et al. 2018).

Evaluation quantitative

L'évaluation de la prolifération fongique sur les matériaux par inspection visuelle reste une technique subjective. Ainsi, certaines méthodes proposent aussi une évaluation quantitative en plus du classement par microscopie. La quantification de la croissance peut être réalisée par analyse d'images, mesure de variation de masse des échantillons, mesure de l'ergostérol, techniques moléculaires ou par dénombrement des Unités Formant Colonies (UFC).

5. Validation de l'essai

L'emploi d'un ou plusieurs éléments de comparaison permet de déterminer la croissance relative sur les échantillons soumis à l'essai. Le choix de ces éléments doit être justifié (NF EN 15101).

6. Etape supplémentaire : décontamination des échantillons au début du test

Une décontamination des échantillons au préalable du test pour retirer les spores déjà présentes sur les matériaux peut être proposée. Un traitement thermique ou l'exposition aux rayonnements gamma peuvent être employés à cet égard.

Le **Tableau 1-5** décrit six méthodes standardisées pour évaluer la résistance des matériaux aux moisissures : ASTM C1338, BS 1982, ASTM G21-96, ISO 846, EN 15101-1 et EPA 2014. Ce tableau permet de voir que le champ d'application de ces méthodes d'essai ne

Tableau 1-5. Comparaison de quatre méthodes d'essai utilisées pour déterminer la résistance des matériaux de construction au développement de moisissures.
(Adapté de Johansson 2014; Dean et Betancourt 2014; Verdier 2015 ; Adan et Samsom 2011)

Méthode		ASTM C1338-00	BS 1982 Part 3 : 1990	ASTM G 21-96	ISO 846 : 1997	EN 15101-1 Annexe F 2014	EPA 2014
Matériaux concernés		Matériaux d'isolation	Panneaux contenant de la matière organique	Polymères synthétiques	Plastiques	Cellulose en vrac	Dalles de plafond, revêtements de sol, plaques de plâtre
Echantillon	Taille	ND*	40x40 mm	50x50mm	ND	30 x 30 x 5 mm	4 x 4 cm
	Nombre	3	3 ou plus	3	5	ND	5
Inoculum	Espèces de moisissures	<i>A.niger</i> , <i>A.versicolor</i> , <i>P.funiculosum</i> , <i>C.globosum</i> , <i>A.flavus</i>	ND	<i>A.niger</i> , <i>P.pinophilum</i> , <i>C.globosum</i> , <i>G.virens</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>P. funiculosum</i> , <i>P. ochroloro</i> , <i>Paecilomyces variotii</i> , <i>Cliocladium virens</i> , <i>C.globolus</i> , <i>A.pollulans</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>A.niger</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>P. funiculosum</i> , <i>C.globosum</i> , <i>Paecilomyces variotii</i>	<i>A. versicolor</i> , <i>Stachybotrys chartarum</i>
	Concentration de la suspension de spores	10 ⁶ ± 200 000 spores/ml	ND	10 ⁶ ± 200 000 spores/ml	10 ⁶ spores/ml	10 ⁶ ± 200 000 spores/ ml.	10 ⁶ spores/ml
	Méthode d'inoculation	Spray	Spray	Spray	Spray ou pipette	Vaporisateur	Pipette
	Quantité de solution	0.5 ml	0.5 ml	Jusqu'à ce que la surface soit couverte	0.1 ml	ND	ND

	Nombre de spores/cm ²	(a)	(b)	(c)	(d)	10 ⁵ par éprouvette	ND
<i>Incubation</i>	Température	30 ± 2 °C	24 ± 1 °C	28-30 °C	24 ± 1°C , 29 ± 1 °C	28 ± 2°C	Ambiante
	HR	95 ± 4 %	ND	>95 %	> 95 %	95 ± 4 %	85 % et 100 %
	Temps	28 jours minimum	4 semaines	28 jours	4 semaines voire plus	28 jours ± 8 h minimum	12 semaines
	Stockage de la suspension	28 jours à 6± 4°C	Un jour	4 jours maximum à 3-10 °C	6h	7 jours à 6 ± 4°C	ND
<i>Evaluation</i>		Classement visuel	Classement visuel	Classement visuel	Classement visuel	Classement visuel	Classement visuel

* ND : Non déterminé, (a) ne peut pas être calculée, aire de l'échantillon inconnue ; (b) ne peut pas être calculée, concentration de spores inconnue ; (c) ne peut pas être calculée, volume de spores inconnu. ** UFC : Unités formant colonie

concerne pas spécifiquement les matériaux bio-sourcés sauf pour l'**EN 15101** (*Produits isolants thermiques destinés aux applications du bâtiment - Isolation thermique formée en place à base de cellulose (LFCI) - Partie 1 : spécification des produits en vrac avant la mise en œuvre, Annexe F*) qui évalue la cellulose en vrac (ANSES 2016b). Dans cette méthode, les matériaux sont généralement placés dans les conditions les plus défavorables notamment d'HR (95 % ou plus) (ANSES 2016b). Seule la méthode développée par l'agence américaine de protection de l'environnement (Environmental Protection Agency, EPA) (2014) propose de prendre en considération des humidités relatives d'équilibre (HRE, cf. 4.2.1) favorables à la croissance des espèces étudiées.

Ce tableau met également en évidence qu'au moins une espèce des genres *Aspergillus* et *Penicillium* est employée même si les matériaux concernés par la méthode restent très différents. En outre, la concentration de spores par ml d'inoculum est renseignée dans la plupart de méthodes mais le nombre de spores qui sont déposées par cm² de matériau est inconnu sauf pour la méthode EN 15101-1. En ce qui concerne la période d'incubation, dans la méthode de l'EPA (2014) une durée de 12 semaines est proposée, ce qui permettrait aux espèces à croissance plus lente de se développer. Cette méthode propose aussi une évaluation quantitative par comptage d'UFC au début du test, à 6 semaines et à la fin du test.

En France, la méthode d'essai définie par la norme EN 15101-1 a été éditée et diffusée par l'Association Française de Normalisation (AFNOR) en 2014 et s'utilise actuellement pour tester la durabilité des isolants bio-sourcés vis-à-vis des moisissures. Dans cette méthode, l'intensité de la croissance est évaluée après une période d'incubation de 28 jours $\pm$ 8 h. Pour ce faire, les éprouvettes ne présentant pas une croissance visible à l'œil nu sont observées au microscope et celles sur lesquelles les colonies sont visibles à la surface des échantillons sont comparées avec la surface d'un matériau de référence (éprouvettes de hêtre) qui a subi les mêmes procédures d'inoculation et incubation. Selon les résultats observés, les éprouvettes peuvent être classées en 4 catégories (Tableau 1-6).

L'évaluation par inspection visuelle peut devenir un inconvénient principalement parce que la matrice des isolants bio-sourcés peut être très hétérogène et peut présenter de multiples couleurs. Il serait préférable que cette analyse qualitative soit accompagnée d'une quantification afin d'obtenir des résultats plus précis. Pour répondre à ce besoin, une nouvelle méthode a été développée par Le Bayon et al. (2015). Le mode opératoire de la méthode est similaire à celui de la norme EN 15101-1 mais l'examen visuel abouti uniquement à deux cotations : 0 si aucune colonie visible est observée et 1 si les colonies s'avèrent visibles, et une dernière étape de détermination quantitative du développement fongique par

dénombrement des UFC a été ajoutée. Il s'agit d'évaluer 3 échantillons par comptage UFC immédiatement après l'inoculation. Pour cela, les spores sont récupérées des échantillons en utilisant une solution d'extraction (NaCl 0.9 % et Tween 80 0.05 %). Une série de dilutions est réalisée et inoculée en milieu malt agar et les unités formant colonies (UFC) sont comptés 3-5 jours après. La même évaluation est appliquée sur les 9 échantillons restants qui ont suivi une incubation pendant 4 semaines. Le nombre d'UFC obtenu pour les premiers échantillons (T_0) est comparé avec celui obtenu pour les échantillons mis en incubation (T_4). La différence permet de déterminer si le matériau est « résistant » ou « non résistant » à la croissance des moisissures. Ces différentes étapes seront présentées plus en détail dans le **Chapitre 2** (Matériel et méthodes).

Tableau 1-6. Critères de classification du développement de moisissures selon la norme EN 15101

Classe BA	Intensité de la croissance par rapport au matériau de comparaison
0	Aucune moisissure visible à la surface de l'éprouvette examinée au microscope à lumière réfléchie avec un grossissement de 50
1	Croissance de moisissures invisible ou à peine visible à l'œil nu, mais nettement visible avec un grossissement de 50
2	Moisissures clairement visibles à l'œil nu - croissance nettement inférieure au matériau de comparaison
3	Moisissures clairement visibles à l'œil nu - croissance égale ou plus intense que sur le matériau de comparaison

En plus de développer une nouvelle étape de type quantitatif dans leur méthode, Le Bayon et al. (2015) ont proposé de tester les matériaux avec des conditions hygrothermiques plus proches de celles mesurées dans les environnements intérieurs ($26 \pm 2^\circ\text{C}$ et $85 \pm 5\%$ d'HR).

1.4.2.4. Evaluation de la résistance des produits isolants thermiques vis-à-vis des moisissures dans le cadre d'un Avis Technique (ATec)

Les acteurs du bâtiment en France sont de plus en plus demandeurs d'Avis Technique et de certification en ce qui concerne les isolants à base de fibres végétales ou animales. Un Avis Technique (ATec) constitue un moyen reconnu par l'ensemble des acteurs du marché pour établir le niveau de confiance des innovations, indispensable au bon déroulement des différentes phases de la construction. Il exprime une opinion, formulée par un groupe d'experts (Groupe Spécialisé) désigné par une commission nommée par arrêté ministériel, sur l'aptitude à l'emploi d'un produit, composant ou système destiné à la construction (CCFAT 2019).

Le CSTB est membre de la Commission Chargée de Formuler les Avis Techniques (CCFAT) et intervient dans la procédure de celui-ci. En mars 2018, le Groupe Spécialisé « Produits et procédés spéciaux d'isolation » a publié un guide technique pour la constitution d'un dossier de demande d'ATec concernant les isolants à base de fibres végétales ou animales. L'annexe A3 de ce guide correspond au protocole d'évaluation de la résistance de ces produits vis-à-vis des moisissures dans le cadre d'un Avis Technique. Tout comme pour la méthode de Le Bayon et al. (2015), ce protocole propose une évaluation quantitative de la croissance fongique et l'utilisation de deux scénarios environnementaux :

- Classe d'emploi « sèche », scénario HR 85 : 28°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) de température et 85 (± 4 %) d'HR
- Classe d'emploi « humide », scénario HR 95 : 28°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) de température et 95 (± 4 %) d'HR

Le mode de contamination est laissé à l'appréciation du laboratoire à condition qu'il permette une inoculation reproductible. Pour l'examen visuel, trois cotations permettant d'évaluer la croissance fongique sont proposées :

Tableau 1-7. Cotation des éprouvettes selon l'intensité de la croissance fongique (ATec CSTB 2018)

Cotation moisissures	Intensité de la croissance fongique
0	Aucune moisissure visible (*) à la surface de l'éprouvette
1	Croissance de moisissures visible au microscope x 50 mais pas à l'œil nu
2	Croissance de moisissures visible à l'œil nu
(*) A l'œil nu et au microscope x 50.	

L'analyse quantitative menée sur les éprouvettes pour lesquelles l'évaluation visible a conclu à des cotations 0 et 1, conduit au dénombrement des UFC. Les résultats sont exprimés en Log_{10} UFC/cm³ d'isolant testé pour la série d'éprouvettes testée à T₀ et à T₂₈ jours. Les moyennes sont calculées pour chaque série ainsi que l'incertitude liée à la moyenne (intervalle de confiance à 95 %).

Les résultats sont exploités afin de déterminer la résistance aux moisissures comme explique le **Tableau 1-8**.

Tableau 1-8. Exigences pour déterminer le comportement des matériaux vis-à-vis de moisissures (ATEC CSTB 2018)

Comportement « Moisissures »	Exigences
Résistant au développement des moisissures	Aucune moisissure visible à l'œil nu (cotations = 0 ou 1 pour les 9 éprouvettes) à la surface de l'éprouvette ET Moyenne du nombre d'UFC en Log ₁₀ UFC/cm ³ d'isolant en fin d'essai inférieur ou égal à la moyenne du nombre d'UFC en Log ₁₀ UFC/cm ³ d'isolant en début d'essai (**)
Non résistant au développement des moisissures	Développement fongique observé sur les éprouvettes à l'issue de la phase de préconditionnement OU
	Croissance de moisissures visible à l'œil nu à l'issue de l'essai pour au moins une éprouvette (cotation = 2) OU
	Aucune moisissure visible à l'œil nu (cotations = 0 ou 1 pour les 9 éprouvettes) à l'issue de l'essai ET Moyenne du nombre d'UFC en Log ₁₀ UFC/cm ³ d'isolant en fin d'essai supérieur à la moyenne du nombre d'UFC en Log ₁₀ UFC/cm ³ d'isolant en début d'essai
(**) Au seuil de risque de à 0,05	

I.4.2.5 Norme NF EN 15101-1+A1 (avril 2019)

En avril de 2019, la norme NF EN 15101-1+A1 a remplacé la norme NF EN 15101-1 du 2014, présentée précédemment. Les modifications concernent plusieurs points de la norme parmi lesquels se trouve l'article F.7.1 qui porte sur l'évaluation de la croissance fongique à la fin de la période d'incubation basée sur 4 critères de classification (cf. Tableau 1-6). Ce fait montre que la normalisation pour l'évaluation de la résistance des matériaux bio-sourcés vis-à-vis de moisissures est en train d'évoluer grâce aux projets de recherche qui permettent d'alimenter la connaissance sur ce sujet.

I.4.2.6 Biocides dans les isolants bio-sourcés

En France, l'acide borique et le sel de bore sont ajoutés lors du processus de fabrication, notamment dans la ouate de cellulose, puisqu'ils ont la capacité de fonctionner à la fois comme biocides et retardateurs de flamme. De plus, ils représentent une alternative plus respectueuse de l'environnement que les fongicides à base de métaux, communément utilisés dans la préservation du bois. (ECHA 2010 ; Palumbo et al. 2017).

Cependant, l'usage de sel de bore dans les produits à base de ouate de cellulose en France a subi des controverses et a évolué de manière significative depuis 2010. Des avis

techniques étaient délivrés par la CCFAT (Commission chargée de formuler les avis technique) jusqu'en 2011 mais l'usage de ce produit a été interdit après avoir été classé comme reprotoxique catégorie 1B (substances présumées toxiques pour la reproduction humaine). Les fabricants d'ouate de cellulose ont alors remplacé les sels de bore par des sels d'ammonium, à partir de novembre 2011.

En 2012, la Direction de l'habitat, de l'urbanisme et des paysages (DHUP) a été informée par le Syndicat européen des fabricants d'ouate de cellulose (European Cellulose Insulation Manufacturers Association ou ECIMA) et le CSTB d'un nombre croissant de plaintes associées à des fortes odeurs ammoniacées dans des habitations suite à la pose d'isolant à base d'ouate de cellulose. A la suite de ces éléments, la France a interdit la mise sur le marché, l'importation, la vente ou la distribution et la fabrication d'isolants à base d'ouate de cellulose contenant des sels d'ammonium (arrêté du 21 juin 2013) (ANSES 2017).

La CCFAT a délivré de nouveaux avis techniques autorisant l'utilisation de sels de bore comme additifs de la ouate de cellulose à une concentration inférieure à 5.5 % et a prolongé la validité de ces avis jusqu'à l'identification d'alternatives moins dangereuses que les sels d'ammonium (OPECST 2013 ; AQC et al. 2016a ; ANSES 2017).

Outres le sel de bore, des fongicides à base d'isothiazolinones peuvent également être ajoutés dans les isolants bio-sourcés. Les isothiazolinones constituent une famille de composés hétérocycliques contenant des atomes de soufre et d'azote (Tableau 1-9). Le méthylchloroisothiazolinone (CMIT) et le méthylisothiazolinone (MI) sont les plus courants et sont utilisés dans les détergents et les produits cosmétiques (Garcia-Hidalgo et al. 2017). L'octylisothiazolinone (OIT) (aussi octhilinone) est un autre type d'isothiazolinone qui s'utilise comme agent de préservation dans les revêtements (peintures et teintures), les matériaux de construction, les colles et les pâtes pour papier peint, les émulsions aqueuses et les adhésifs, les tissus, le cuir ainsi que les composés polymères et vinyliques (ARLA 2017). En France, elle est utilisée comme principe actif dans les fongicides employés dans certaines laines de bois. Le CMIT, le MI et le OIT sont classés comme des allergènes cutanés selon la réglementation européenne EC 1272/2008, et pour certains usages leur concentration est réglementée (Garcia-Hidalgo et al. 2017).

Tableau 1-9. Structures chimiques, noms, références CAS et masses molaires de quelques isothiazolinones utilisés dans les additifs des matériaux et/ou les produits à usage courant

Structure chimique	Nom IUPAC	Abréviation	CAS n°	Masse molaire (g/mol)
C ₄ H ₅ NOS	2-Méthylisothiazol-3(2H)-one (2-Méthyl-3-isothiazolinone)	MI, MIT	2682-20-4	115,1
C ₄ H ₄ ClNOS	5-Chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one (5-Chloro-2-méthyl-3-isothiazolinone)	CMI, CMIT	26172-55-4	143,6
C ₁₁ H ₁₉ NOS	2-Octyl-3(2H)-isothiazolinone (2-Octyl-3-isothiazolinone)	OIT, OI	26530-20-1	213,3

I.5. Qualité de l'air intérieur (QAI)

L'ensemble de la population, notamment les personnes sensibles et fragiles (enfants, personnes âgées ou immunodéprimées, malades pulmonaires chroniques), et tous les lieux de vie clos ou semi clos sont concernés par la problématique de la QAI. En 2012, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a estimé 7 millions de décès prématurés attribuables à la pollution de l'air dont 4,3 millions assignables à la QAI (WHO 2014).

Dans un contexte de réduction de la consommation énergétique des bâtiments et du confort des occupants, l'étanchéité à l'air de l'enveloppe des bâtiments est de plus en plus favorisée et donc, le renouvellement de l'air intérieur repose principalement sur la ventilation. Cependant, si les débits pour évacuer tous les polluants accumulés ne sont pas suffisants, leur concentration peut augmenter en peu de temps puisque le volume d'air intérieur est faible (ADEME 2016b ; CeRCAD 2014; Joblin 2012). De plus, des nombreux éléments sont à l'origine de l'émission de polluants qui dégradent l'air dans l'habitat.

La campagne nationale de mesures menée par l'OQAI entre 2003 et 2005, a mis en évidence une spécificité de l'air intérieur des logements par rapport à l'air extérieur, marquée notamment par la présence de composés non observés dans l'air extérieur et par de niveaux de concentrations largement plus élevés à l'intérieur. Les polluants de l'air intérieur sont classés en trois groupes selon leur origine : physiques, chimiques ou biologiques (Tableau 1-10). Dans le cadre de ce projet de thèse, l'intérêt est porté uniquement sur les Composés Organiques Volatils (COV) et les composés organiques volatiles associés au développement de moisissures (COVm).

I.5.1 Composés organiques volatils (COV)

Les COV sont des composés gazeux, constitués de carbone et d'hydrogène et éventuellement d'atomes d'oxygène, de soufre, d'azote, de phosphore ou d'un halogène (Blondel 2010). Il existe actuellement plusieurs définitions pour un COV :

- Selon la directive européenne du 11 mars 1999 (1999/13/CE), un COV est « tout composé organique ayant une pression de vapeur de 0,01 kPa ou plus à une température de 293,15K ou ayant une volatilité correspondante dans les conditions d'utilisation particulières »

Tableau 1-10. Polluants de l'air intérieur (D'après ADEME, 2016b, 2017 ; ASPA 2008 ; CITEPA 2013 ; INRS 2014 ; IRSN 2010 ; Morisseau, 2016)

Polluants		Description	Catégories
Physiques	Particules	Des polluants très complexes, les particules peuvent présenter des compositions chimiques très différentes et se retrouvent dans l'air en état solide ou liquide.	Particules totales en Suspension : correspondent à tous types de particules quelle que soit leur taille (appelées TSP pour leur Total Suspended Particulates) Particules grossières PM₁₀ : la taille de ce type de particules est comprise entre 2.5 et 10 µm Particules fines : PM _{2.5} : particules de diamètre inférieur à 2.5 ; PM _{1.0} : particules de moins de 1.0 micromètres de diamètre. Particules ultrafines : particules de moins de 0.1 micromètres de diamètre.
	Fibres	Les fibres sont utilisées pour des diverses applications telles que l'isolation phonique et thermique, revêtements des murs ou de sol, industrie du textile et du papier, emballage etc...	Minérales naturelles : wollastonite, sépiolite Minérales artificielles : laine de verre, laine de roche, fibre céramique réfractaire, fibre d'alumine Organiques naturelles : cellulose, coton, lin, soie Organiques artificielles : viscose, acétate de cellulose Fibres synthétiques : aramides, polyester
Chimiques	Gaz radioactif	Provenant de la désintégration de l'uranium et du radium présents dans la croûte terrestre, le radon est un gaz incolore, inodore et chimiquement inerte. En ce désintégrant, le radon peut produire des descendants radioactifs se fixent sur les aérosols de l'air.	Le Radon
	Gazeux inorganiques	Issus des minéraux, les contaminants gazeux inorganiques ne contiennent pas de chaînes carbonées.	CO, CO ₂ , CH ₄ , les oxydes d'azote (NO _x), les oxydes de soufre (SO _x), O ₃ , NH ₃ , les hydrofluorocarbures (HFC), les perfluorocarbures (PFC) et l'hexafluorure de soufre (SF ₆).
	Gazeux organiques	Issus de matières organiques, les contaminants gazeux organiques comportent la plupart de temps des chaînes carbonée.	Composés organiques volatils (COV) Composés organiques semi volatils (COSV) Composés organiques volatiles d'origine microbien (COVm)
	Métaux lourds	Ils se présentent dans l'air seuls ou associés à des degrés d'oxydation variables ou sous forme organométallique.	Métaux lourds : Nickel, plomb, mercure, cuivre cadmium, etc. Metalloïdes : arsenic, sélénium, béryllium etc.
Biologiques	Agents infectieux	Proviennent des habitants du logement ou peuvent se développer dans certains équipements.	Bactéries comme les légionnelles, fungi (<i>Aspergillus</i>), virus, toxines.
	Allergènes	Substance à l'origine de réactions violentes du système immunitaire (allergies) après contact, ingestion ou inhalation.	Toxines bactériennes, mycotoxines, spores des moisissures, carapaces et excréments de blattes, endotoxines et glucanes.

- Le décret du 29 mai 2006 définit un COV comme « un composé organique dont le point d'ébullition initial, mesuré à la pression standard de 101,3 kPa, est inférieur ou égal à 250°C.
- L'OMS a établi qu'un COV est « un composé ayant un point d'ébullition compris entre 50 et 260°C », et a défini une classification de composés, reprise par la suite dans la norme ISO 16000-6 (Hodgson et al. 1994 ; Roda 2012) :

Composés organiques volatils (COV) :

Point d'ébullition entre 50-100°C et 240-260°C

Composés organiques semi-volatils (COsV) :

Point d'ébullition entre 240-260°C et 380-400°C

Composés organiques très volatils :

Point d'ébullition entre <0 et 50-100°C.

Les COV rencontrés en air intérieur, se regroupent souvent en 9 familles : les alcanes, les alcènes, les hydrocarbures aromatiques, les hydrocarbures halogènes, les terpènes, les aldéhydes, les cétones, les alcools et les esters. Certains font partie des 51 substances prioritaires définies par l'OQAI, et l'acétaldéhyde, le benzène et le formaldéhyde sont classés parmi les substances « hautement prioritaires » (Morisseau 2016 ; Desauziers et al. 2010 ; Blondel 2010).

Les sources de COV dans les environnements intérieurs sont nombreuses (Figure 1-5) mais peuvent se résumer en trois groupes principales : les sources provenant de l'extérieur (produits de combustion, des carburants, goudrons...), les sources dues aux activités des occupants (tabagisme, nettoyage, bricolage, chauffage...) et les sources provenant des matériaux (revêtement de sol, meubles, isolation...) (Nicolle 2009).

1.5.1.1 Emissions en COV des matériaux- méthodes de mesure

En général, les émissions en COV des matériaux peuvent être propres au matériau et ont lieu généralement durant la première année d'existence. Le type de COV émis dépend de la nature et de la composition chimique du matériaux ainsi que du processus de fabrication (utilisation d'additifs ou liants émissifs, procédé de transformation etc...) (Maskell et al. 2015). D'autres émissions sont produites sur une durée plus longue par des mécanismes de décomposition, oxydation, sorption/désorption, entre autres. Ces dernières sont susceptibles d'influencer la QAI sur le long terme. (Morisseau 2016 ; Poulhet 2014 ; Desauziers al. 2010 ; Virta et al. 2005 ; Wiglusz et al. 2002).

Figure 1-5. Sources potentielles des polluants de l'air intérieur dans les logements (Roda 2012)

Les méthodes normalisées pour la mesure des émissions des matériaux sont la chambre d'essai d'émission et la cellule d'émission FLEC (Field and Laboratory Emission Cell). Ces méthodes sont réglementées par les normes internationales ISO 16000-9 et 16000-10 (2006). Il existe également d'autres méthodes plus récentes, non normalisées, comme le couplage FLEC-SPME (Solid Phase Micro-Extraction), l'ECMS (Emission Cell for simultaneous Multi-Sampler), le PFS (Passive Flux Sampler) et le PECS (Passive Emission Colorimetric Sensor) (Poulhet 2014). Seules la chambre d'émission et la cellule d'émission seront décrites dans cette étude.

I.5.1.1.1 Les chambre d'essai d'émission CLIMPAQ

Les chambres CLIMPAQ (Chamber for Laboratory Investigations of Materials, Pollution and Air Quality) sont prévues pour mesurer des taux d'émissions en COV de matériaux de construction, de décoration et d'ameublement. Elles peuvent présenter une forme cylindrique, annulaire ou rectangulaires et des volumes et dimensions variés.

La **Figure 1-6** présente la description générale d'une chambre d'essai d'émission selon la norme ISO 16000-9, 2006, et la **Figure 1-7** montre l'exemple d'une chambre d'essai d'émission CLIMPAQ de 50,9 L et des dimensions de 200 mm x 200 mm x 800 mm..

Figure 1-6. Description générale d'une chambre d'essai d'émission (source : ISO 16000-9)

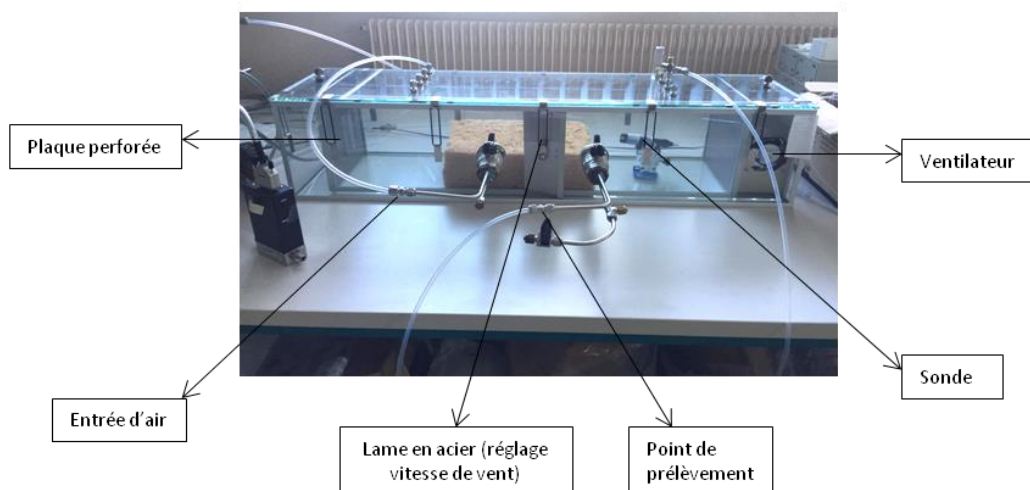


Figure 1-7 Chambre d'émission CLIMPAQ

Comme spécifié dans la norme ISO 16000-9 les paramètres d'essai suivants doivent être appliqués :

Tableau 1-11. Conditions de mise en œuvre d'un essai en chambre d'émission selon la norme ISO 16000-9

Paramètres d'essai	Conditions analytiques
Humidité relative	50 ± 5 %
Température	23 ± 2°C
Débit d'air	0,06 m ³ /h
Vitesse d'air	0,22 ± 0,1 m/s
Durée de l'essai	28 jours

I.5.1.1.2 La cellule d'émission FLEC

Le volume de la cellule d'émission FLEC est nettement inférieur que celui de la chambre d'émission CLIMPAQ, ce qui la rend transportable et donc plus facilement utilisable dans des environnements intérieurs. La cellule FLEC est une « cloche » en acier inoxydable dont la paroi intérieure est polie afin de limiter l'adsorption de COV sur la surface (Figure 1-8). Le principe de l'essai est de déterminer les débits d'émissions spécifiques par unité de surface, des COV émis à partir de la surface d'une éprouvette d'essai du produit (norme ISO 16000-10).

Les essais s'effectuent dans des conditions constantes normalisées de température, d'humidité relative de l'air et de débit d'air spécifique par unité de surface (Tableau 1-12). Le système de cellule d'essai d'émission doit comporter les équipements suivants : cellule d'essai d'émission, système d'humidification et de production d'air propre, systèmes de contrôle et de surveillance pour garantir que l'essai est réalisé selon les conditions spécifiées (norme ISO 16000-10).

Tableau 1-12. Conditions de mise en œuvre d'un essai en cellule d'émission FLEC selon la norme ISO 16000-10

Paramètres d'essai	Conditions analytiques
Humidité relative	$50 \pm 5 \%$
Température	$23 \pm 2^{\circ}\text{C}$
Vitesse de l'air à la surface de l'échantillon compris entre 0,003 et 0,3 m/s	

Figure 1-8. Cellule d'émission FLEC. En haut : entrée et sortie des flux d'air. En bas : à gauche, FLEC vue d'en haut ; à droite, FLEC en coupe, les flèches grises représentent le sens de circulation du flux d'air (Nicolle 2009 ; Rizk 2015)

1.5.1.2. Emissions en COV des isolants bio-sourcés

Dans l'étude de Maskell et al. (2015) les émissions en COV totaux et formaldéhyde des isolants à base de cellulose, chanvre et bois ont été évaluées. Tous les matériaux ont été classés comme peu émissifs à l'exception d'un panneau de bois qui présentait des concentrations plus importantes notamment pour le furfural et l'acide acétique. En 2016, l'Agence de l'Environnement et la Maitrise de L'Energie (ADEME) a mené une étude pour comparer les émissions en COV des différents matériaux bio-sourcés. Deux types d'isolant ont été testés : panneaux semi-rigides et sous couches. Ces isolants ont été classés comme

peu émissifs concernant les COV totaux. Il est à noter que pour les matériaux bio-sourcés le stade « zéro émission » est difficilement atteignable car les matières premières végétales brutes (bois, fibre végétal etc.) émettent naturellement des COV (notamment terpènes et aldéhydes) de par sa composition intrinsèque (ADEME 2017a).

1.5.1.3 Influence des paramètres environnementaux sur les émissions en COV

Des paramètres extérieurs tels que la température, le renouvellement de l'air et l'humidité influencent l'émissions en COV. L'effet dépend principalement de la nature du matériau et des propriétés physico-chimiques des COV (Blondeau 2009).

1.5.1.3.1. Effet de la température

L'influence de la température sur les émissions de formaldéhyde a été largement étudiée. Globalement, ces recherches ont permis d'établir une corrélation positive entre la température et les taux d'émission de ce composé (Liang et al. 2016). Dans l'étude de Frihart et al. (2010) les émissions en formaldéhyde ont augmenté d'un facteur deux lorsque la température variait de 25 à 30°C pour un panneau en bois composite. Wiglusz et al. 2002 ont observé que les émissions du formaldéhyde des revêtements de sol stratifiés augmentaient d'un facteur dix-huit quand la température passait de 29 à 50°C (Wiglusz et al. 2002). Sur ce même matériau, Lee et Kim (2012) ont constaté que la concentration du formaldéhyde était cinq fois plus importante à 45°C qu'à 25°C.

Dans l'étude de Xion et al. (2003), le taux d'émission de ce composé augmentait d'un facteur 70 pour une variation de température de 20 à 60°C. Par ailleurs, Xiong et Zhang (2010) se sont intéressés à identifier l'influence de la température sur la concentration initiale du formaldéhyde émis par un panneau de fibres de bois (Medium Density Fiberboard, MDF) et lorsque la température augmentait de 25,4°C, celles-ci étaient 507 % plus importantes.

D'autres COV ont également fait l'objet des études concernant le sujet. Par exemple, la concentration initiale d'acétaldéhyde émis par des matériaux à base de bois, a montré une forte dépendance à la température lors des travaux menés par Suzuki et al. (2014). La concentration initiale de ce composé augmentait de façon significative quand la température montait de 23°C à 28°C. Lin et al. (2009) ont mis en évidence un facteur d'émission du toluène, n-butyl acétate, ethylbenzène et m,p-xylène de 1,25 à 129 fois plus grand lorsque la température passait de 15 à 30°C. Les travaux menés par l'EPA (1994) ont également montré l'impact de la température sur les émissions de n-dodecane (Zhang et al. 2007).

L'effet de la température sur l'émission de COV est lié à certaines caractéristiques du composé notamment le point d'ébullition. Sollinger et al. (1993) ont montré que les variations de température n'avaient pas d'impact significatif sur les composés présentant des points d'ébullitions plus faibles comme le styrène (145°C) alors que l'impact était plus évident sur ceux qui avaient des points d'ébullitions plus élevés tels que le benzothiazole (230°C) (Lin et al. 2009).

I.5.1.3.2. Effet du renouvellement de l'air

Les émissions de COV dépendent du phénomène de diffusion au travers du matériau et de la surface. Au niveau de la couche limite à la surface de matériaux, les mouvements d'air sont très lents et un équilibre de transfert de masse s'établit entre le matériau et l'air. Le phénomène de diffusion dans la couche limite est le facteur limitant des émissions (Figure 1-9). Une augmentation de la vitesse et la turbulence de l'air à la surface entraîne la diminution de l'épaisseur de la couche limite et l'augmentation des transferts de masse pour rétablir l'équilibre. Ainsi, lorsque la vitesse et la turbulence de l'air augmentent, les émissions des matériaux aussi (Roda 2012 ; Marion et al. 2011).

I.5.1.3.3 Effet de l'humidité

Quant à l'impact de l'humidité sur les émissions en COV des matériaux, les conclusions des recherches sont moins convergentes. Cependant, ces études permettent de mieux comprendre les comportements des émissions vis-à-vis des conditions d'humidité élevée. Le **Tableau 1-13** montre les résultats de quelques études portant sur ce sujet.

Lorsque l'humidité augmente dans l'air, des interactions entre les polluants et les molécules d'eau s'établissent. En 2006, Radulescu-Bouilly et al. ont présenté une théorie pour comprendre et modéliser ces interactions. Cette étude concerne les matériaux poreux qui sont utilisés dans la structure et les revêtements des bâtiments. L'étude décrit trois processus

Tableau 1-13. Etudes portant sur l'influence de l'HR sur les émissions en COV des matériaux de construction et de revêtement (Liu et Little 2011)

Paramètre	Matériau	Humidité Relative	COVs	Tendance	Reference
Taux d'émission	Bois aggloméré	30 %, 70 %	Formaldéhyde	Augmentation (facteur 2)	Andersen et al. 1975
Concentration en chambre d'exposition	Tapis	0 %, 50 %	2-ethylhexanol, 4-PCH	Augmentation puis négligeable	Wolkoff, 1998
	Revêtements de sol en PVC		2-ethylhexanol, phénol	Négligeable après un jour	
	mastic		Hexane, diméthyle octanol	Augmentation	
	papier peint		1,2-propanediol	Augmentation	
Taux d'émission des COVT	peinture acrylique	3 %, 32 %, 62 %	COVT, toluène, m,p-xylène, tri-méthylbenzène, éthylbenzène, hexanal	COVT : plus élevés à 32 % pour la peinture et plus élevés à 62 % pour le vernis Toluène, m,p-xylène, tri-méthylbenzène : taux d'émissions plus élevés à 32 %. Ethylbenzène, hexanal : pas d'effet	Haghighat et De Bellis 1998
	vernis				
Concentration en chambre d'exposition	Vernis, papier peint	30 %, 50 %, 70 %	COVT	Augmentation	Fang et al. 1999
	Tapis, revêtements de sol en PVC, mastic		COVT	Négligeable	
Concentration en chambre d'exposition	Panneau à particules de bois et MDF	20 %, 50 %, 80 %	Acétaldéhyde	Augmentation	Suzuki et al. 2014
Taux d'émission et concentration en chambre d'exposition	Revêtements de sol en bois	50 %, 80 %	Toluène, n-butyl acétate, éthylbenzène, m-p-xylène	Augmentation (Facteur 2-32)	Lin et al. 2009
Coefficient de partition	Dalles de plafond	0 %, 35 %, 75 %	Cyclohexane, toluène, éthyle acétate isopropyl alcool	Négligeable	Huang et al. 2006
			Méthanol	Diminution	
Coefficient de diffusion	Dalles de plafond	0 %, 20 %, 40 %	Octane, isopropanol, cyclohexane, éthyle acétate, hexane	Négligeable	Farajollahi et al. 2009
Coefficient de partition	Silicate de calcium	25 %, 50 %, 80 %	Formaldéhyde	Négligeable pour 25-50 %, Augmentation pour 50-80 %	Xu et Zhang, 2011
Coefficient de partition	Silicate de calcium		Toluène	Diminution	

élémentaires d'interaction polluant/humidité : (1) la compétition pour les sites d'adsorption à la surface des pores libres, (2) des phénomènes d'absorption/désorption de VOC dus à la condensation de la vapeur d'eau par capillarité dans les pores, et (3) diminution de la diffusion des COV en conséquence de l'obturation de certains pores par la présence d'eau liquide (Radulescu-Bouilly et al. (2006) ; Blondeau 2009) (Figure 1-9).

Figure 1-9. Mécanismes élémentaires d'interaction entre l'humidité et les polluants gazeux au sein des matériaux poreux (Blondeau 2009)

1. Influence sur l'adsorption de COV

L'adsorption repose sur la capacité des solides (adsorbant) à fixer à leur surface certains gaz (adsorbat). Le transfert des polluants est régi par trois phénomènes physico-chimiques : l'équilibre thermodynamique entre les deux phases (adsorbée et gazeuse), la cinétique de l'adsorption et la compétition entre les différents adsorbats. Plusieurs facteurs peuvent influencer ces phénomènes. Par exemple, plus la concentration en gaz dans l'air est élevée, plus la capacité d'adsorption (quantité de composé adsorbé par unité de masse d'adsorbant) est importante. Cette relation est représentée à travers les isothermes d'adsorption qui expriment ainsi la capacité statique (à l'équilibre thermodynamique) d'adsorption en fonction de la concentration ou pression partielle de la phase gazeuse (INRS 2006).

Compte tenu que les concentrations des polluants dans l'air intérieur sont faibles, les isothermes d'adsorption sont quasi-systématiquement assimilées à des isothermes linéaires et caractérisées en conséquence par la définition d'un coefficient K_p (coefficient de partition) représentatif du système gaz/matériau étudié (Blondeau 2009). Ce K_p dépend ainsi des propriétés physico-chimiques du matériau et du COV mais aussi des conditions environnementales notamment la température et l'humidité (Xiong et al. 2016).

Lorsqu'il s'agit d'un matériau poreux et lorsque les molécules d'eau commencent à augmenter dans l'air (HR élevée), ces dernières et les polluants entrent en compétition pour les sites d'adsorption (Liang et al. 2016). Dans des matériaux comme les bois, il est possible de retrouver deux types de sites d'adsorption : hydrophiles et hydrophobes, et les molécules d'eau ont plus tendance à s'adsorber sur les sites hydrophiles (Lin et al. 2009) et pourront ainsi déplacer les molécules de COV qui sont adsorbées sur ces sites. Ces processus perturbent l'équilibre en surface entre le matériau et les COV pouvant ainsi modifier les K_p .

2. Condensation capillaire de la vapeur d'eau– Absorption/désorption des COV

La condensation capillaire se produit lorsque, dans des solides poreux, il se produit une adsorption multicouche telle que les espaces poreux se remplissent d'eau liquide. Les polluants pourraient s'absorber sur la phase aqueuse des pores, ce qui dépendrait de la quantité d'eau condensée. Dans l'étude de Radulescu-Bouilly et al. (2006), la quantité d'eau condensée a été considérée comme négligeable pour des valeurs d'humidité relative inférieures à 60 % pour un panneau de particules, un panneau de gypse et du mortier. La solubilité des espèces dans l'eau joue également un rôle important dans les phénomènes d'absorption/désorption.

3. Variation du coefficient de diffusion des VOC

Les pores remplis d'eau liquide ne contribueraient plus à la diffusion des COV au sein du matériau et donc le coefficient de diffusion des COV diminuerait de manière importante. Cependant, Blondeau (2009) a observé que cela n'était vrai que pour des matériaux présentant une fraction poreuse importante dans le domaine de taille inférieure à $0.1\mu\text{m}$. Dans d'autres études, l'effet de l'humidité sur le coefficient de diffusion a même été considéré comme négligeable.

I.5.2. Composés organiques volatiles microbiens (COVm) associés aux moisissures

Dès le début de la croissance des moisissures et durant toutes les phases de développement, des COV peuvent être émis comme produits des métabolismes primaire et

secondaire ou, à cause de la biodégradation des matériaux (Joblin 2012; Méheust 2012) (Figure 1-10). Tout comme les COV provenant des matériaux, les COV d'origine fongique peuvent dégrader la qualité de l'air intérieur. La biosynthèse de ces composés provient principalement de la voie d'oxydation du glucose et il peuvent être formés à partir des d'intermédiaires réactionnels tels que l'acétate, les acides aminés ou les acides gras (Figure 1-11) (Korpi et al. 2009 ; Wang et al. 2016).

Figure 1-10. Emissions associées aux différentes étapes du développement des moisissures (Joblin 2012)

1.5.2.1 Indice de développement fongique

L'identification de COVm dans l'air ambiant peut être un indice de développement fongique et pourrait contribuer à la détection de contaminations « cachées » ou en stades précoces (Moularat et al. 2008 ; Moularat et al. 2011). Les principales publications portant sur le sujet ont permis d'identifier plusieurs composés souvent associés aux moisissures : alcools de 4 à 8 atomes de carbone, cétones, furanes, composés soufrés ainsi que quelques COV particuliers comme la géosmine (Kuske et al. 2005 ; Korpi et al. 2009 ; Moularat et al. 2008 ; Araki et al. 2010 ; LeBouf et al. 2010 ; Ryan et al. 2013). Selon l'étude menée par Schuchardt et Strube (2013), les moisissures émettent des COVm de bas poids moléculaire (alcools, aldéhydes, cétones) lors de leur phase primaire de croissance, et de COVm de haut poids moléculaire et de spécificité supérieur au plateau de croissance (sesquiterpènes, hydrocarbures aromatiques).

Figure 1-11. Principales voies métaboliques pour la production de certains COVm (Wang et al. 2016)

Ces études ont montré qu'il existerait une réelle empreinte chimique associée au développement de moisissures. Ce propos s'est renforcé avec les travaux menés par le CSTB puisqu'un indice chimique de contamination fongique (ICF) a été proposé en fonction de la présence et l'absence des COV prédéfinis, issus du métabolisme fongique (Brevet FR 2 913 501– A1).

Pour le calcul de l'indice, 19 COVm, associés au métabolisme de moisissures, ont été classés en trois catégories :

1. Les COV émis uniquement par des espèces fongiques indépendamment de l'espèce et de leur support.
2. Les COV qui peuvent avoir d'autres origines biologiques.
3. Les COV qui sont émis en fonction de l'espèce fongique et du support

L'indice est basé sur la présence ou l'absence des COV apparentant aux trois catégories (Tableau 1-14) et la somme des chiffres indique le niveau de contamination : un résultat final positif rend probable la présence d'un développement fongique actif tandis qu'un indice négatif ou nul l'exclut (Nguyen et al. 2013). Cette mesure reste innovante pour la détection de contaminations non accessibles aux enquêteurs, or elle n'est pas quantitative et ne permet pas de mesurer une exposition (ANSES 2016).

Tableau 1-14. Indice de Contamination Fongique (ICF) (Brevet FR 2 913 501– A1, CSTB)

Catégorie COVm	Présence/Absence	Classification	Conclusion
1	Présents	1	Présence d'une contamination fongique
	Absents	-1	Absence d'une contamination fongique
2	Présents	0	Ne permet pas de conclure sur une contamination fongique
	Absents	-1	Absence d'une contamination fongique
3	Présents	1	Présence d'une contamination fongique
	Absents	0	Ne permet pas de conclure sur une contamination fongique

Une liste plus exhaustive des COV attribués au développement de moisissures d'après la littérature est présentée dans le **Tableau 1-15**. Dans la plupart de ces études les COV ont été échantillonnés sur des tubes adsorbants « à large spectre » et analysés par Chromatographie en Phase Gazeuse (Gas Chromatography, GC) et/ou par Chromatographie Liquide à Haute Pression (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) couplées à un spectre de masse (Mass Spectrometry, MS), ce qui permet l'identification de composés. Les conditions d'HR et température étaient rarement renseignées. Dans les cas où ces informations étaient précisées, l'HR variait entre 45 % et 100 % et la température était comprise entre 15°C et 28°C. Les COV identifiés comme provenant du métabolisme fongique étaient associés à des espèces fongiques précisées lorsque les études caractérisaient ces composés à partir de la croissance des moisissures sur des matériaux. Des espèces des genres *Aspergillus* et *Penicillium* ont été identifiées dans toutes ces études. En revanche, les études portant sur l'identification de COVm uniquement à partir des prélèvements de l'air ambiant, l'association avec des espèces fongiques n'a pas été réalisée probablement en raison de la difficulté de l'identification de la source d'émission spécifique. Il est à noter une assez grande variabilité des COVm avec cependant plusieurs espèces qui sont identifiées dans de nombreuses études et qui permettent de considérer ces COV comme des traceurs potentiellement robustes du développement de microorganismes.

Il est cependant important à noter que l'émission de COV par les moisissures est corrélée à l'espèce, aux phases de croissance, aux conditions environnementales ainsi qu'à la nature du milieu et/ou du support et substrat de croissance (ANSES 2016; Korpi et al. 2009). De même, la méthode expérimentale employée peut éventuellement déterminer les profils COV obtenus (Garcia-Alcega et al. 2017).

1.5.2.2 Effets sur la santé humaine

Différents auteurs se sont intéressés à montrer une relation possible entre l'accumulation de l'humidité, le développement fongique et l'augmentation de pathologies respiratoires et allergiques (Araki et al. 2012 ; Crook et Burton 2010 ; WHO 2009 ; IOM 2004; Mendell et al. 2011). L'OMS a publié dans son rapport "Dampness and mould" (2009) que les occupants des logements affectés par l'humidité présentaient un risque plus élevé à développer des problèmes et infections respiratoires ainsi qu'à l'exacerbation de l'asthme, selon l'évidence épidémiologique existante (Andersen et al. 2011). Les effets de l'exposition aux moisissures dépendent principalement des facteurs comme l'âge, l'état de santé, l'environnement et le mode d'exposition. En outre, la susceptibilité aux moisissures peut être différente entre chaque individu et selon l'espèce de moisissure (Deffontaine 2016).

Tableau 1-15. Etudes expérimentales et de revue portant sur l'identification de COVm émis par les matériaux et/ou retrouvés dans des logements

Sujet de la publication	COVm identifiés à partir de la croissance de moisissures sur des matériaux de construction	COVm émis par des moisissures sur différents matériaux	COVm identifiés à partir de la croissance de microorganismes sur des matériaux de construction	Profils et taux d'émissions en COVm	COVm comme traceurs du développement fongique (article de review)	Test sur différents matériaux avec souches pures
Référence	Wilkins et al. 2000	Fiedler et al. 2001	Claeson et al. 2002	Schleibinger et al.2005	Kuske et al 2005	Moularat et al. 2008
COV microbiens reportés dans l'étude	COV associés à la croissance de trois espèces de moisissures sur du papier carton : <i>Penicillium chrysogenum</i> : Isoprène, 2-propanol, 1-heptène, 2-butanol, 2-méthyl-1-propanol, 3-pentanone, 3-pentanol, diméthylsulfide, 1,3-octadiène, A-pinène, B-pinène, 1-octen-3-ol <i>Stachybotris chartarum</i> : Isoprène, 2-propanol, 3-méthylfurane, 2-butanol, 2-méthyl-1-propanol, diméthylhexadiène, anisole, méthylbenzoate <i>Trichoderma viride</i> : 3-méthylfurane, 2-propanol, 2-méthyl-1-propanol, 1-pentanol, 2-hexanone	3-méthyl-1-heptène Isoprène 1,3-octadiène 1,3,5-heptatriène 1,3,6-octadiène (isomères) 2,6-diméthyl-2,4,6-octatriène 2-éthyl-1-hexanol Triméthylcyclohexanol 6-méthyl-heptanol 1-octen-3-ol 2,6-diméthylphénol Pyridine Pyrazine Méthyropyrazine Acétone 2-butanone 2-pentanone 2-hexanone 2-heptanone 4-heptanone 2-octanone 3-octanone Acetophénone 3-méthylanisole Diméthylanisole 4-éthylanisole 1,3-diméthoxybenzène m-crésol Limonène	COV associés à la croissance des espèces de moisissures étudiées, identifiés sur les trois matériaux testés : Diméthylsulfide 1-octen-3-ol 2-méthyl-1-propanol 2-méthyl-1-butanol 3-méthyl-1-butanol 2-octanone	COV associés à la croissance des espèces de moisissures étudiées sur du papier peint : Diméthylsulfide 2-méthylfurane 3-méthylfurane 3-méthyl-2-butanone 3-méthyl-2-butanol 2-pentanone 2-pentanol 3-méthyl-1-butanol Pyrazine 2-méthyl-1-butanol 1-pentanol 2-hexanone 1-hexanol 2-heptanone 1-octen-3-ol 3-octanone 3-octanol 2-n-pentylfurane 2-octanol 2-éthyl-1-hexanol 1-decanol Diphénylsulfide	COV les plus fréquemment reportés dans la littérature : 3-heptanol 3-méthyl-1-butanol 2-méthyl-1-butanol 2-méthyl-1-propanol 3-octanol 1-hexanol 1-pentanol 2-méthyl-isobornéol Géosmine Limonène Pinène 3-heptanone 2-octanone 2-pentanone 3-méthylfurane Diméthylsulfide	1,3-octadiène 1-octen-3-ol 2-méthyl-1-butanol 2-méthylfurane 3-méthylfurane 2-méthyl-isobornéol 3-méthyl-1-butanol Diméthylsulfide Methoxy-benzène Acide 2-ethylhexanoïque Sesquiterpènes A-pinène 2(5H)-furanone 2-heptène 3-heptanol 4-heptanone

	COV associés à la croissance de trois espèces de moisissures sur du Placoplatre : <i>Penicillium chrysogenum</i> : 2-méthyl-1-propanol, 2-pentanone, 2-hexanone, 2-hexanol, 2-heptanone, 2-heptanol, 2-octanone, 2-octanol, 1-octen-3-ol, 2-nonanone. <i>Stachybotris chartarum</i> : 2-méthyl-1-propanol, 1-butanol, methyl 2-méthylpropionate, 2-heptanone, o-méthylanisole, m-méthylanisole. <i>Aspergillus versicolor</i>: 2-méthyl-1-propanol	B-myrcène A-farnesene B-farnesene Kaur-16-en-like Sesquiterpènes				
Espèces fongiques	<i>Stachybotris chartarum</i>, <i>Penicillium chrysogenum</i>, <i>Aspergillus versicolor</i>, <i>Trichoderma viride</i>.	<i>Aspergillus fumigatus</i>, <i>A. versicolor</i>, <i>Trichoderma harzianum</i>, <i>Penicillium chrysogenum</i>, <i>Penicillium expansum</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>, <i>Fusarium culmorum</i>, <i>Penicillium chrysogenum</i>, <i>Ulocladium botrytis</i>, <i>Wallemia sebi</i>	<i>Penicillium brevicompactum</i>, <i>Aspergillus versicolor</i>, <i>Eurotium amstelodami</i>, <i>Chaetomium globosum</i>	<i>Aspergillus</i> sp ., <i>Pencillium</i> sp., <i>Eurotium</i> sp.	<i>Aspergillus niger</i>, <i>Aspergillus versicolor</i>, <i>Penicillium brevicompactum</i>
Sur site ou sur matériaux	Sur matériaux : Placoplatre, papier carton	Bâtons de bois d'hêtre, copeaux de bois	Plaque de plâtre, panneaux de bois, bois de pin	Papier peint	Sur site et sur matériaux	Papier peint, liège, revêtement mural en fibre de verre non peint, carreaux de plafond acoustiques, plaque de plâtre
Prélèvement des COV	Echantillonnage : Tenax Analyse : GC/MS	Echantillonnage : Tubes d'adsorption Analyse :HS-SPME, GC-MS	Echantillonnage : Tenax, Carbopack, cartouches DNPH, tubes XAD-2, tubes de silice Analyse : GC/MS, HPLC-MS	Echantillonnage : tubes Tenax Analyse : GC/MS	Echantillonnage : Tubes Tenax Analyse : GC/MS	Non précisé
Température et HR	T : 21-23°C HR : Non précisé	Non précisé	Non précisé	Non précisé	Non précisé	Non précisé

Tableau 1-15. Etudes expérimentales et de revue portant sur l'identification de COVm émis par les matériaux et/ou retrouvés dans des logements-Suite

Sujet de la publication	Détermination des COV associés à la croissance de moisissures sur papier peint et gélose synthétique		Identification de COVm dans un pilote au laboratoire	COVm fréquemment rencontrés dans l'habitat (article de review)	COVm quantifiables par échantillonnage passif	Mesure des COVm dans l'air intérieur	Différenciation de COVm par IMS et senseurs semi-conducteurs	COVm prédominants dans 23 logements
Référence	Matysik et al. 2008		Hachem et al., 2009	Korpi et al. 2009	Matysik et al. Mueller, 2009	Araki et al 2009	Räsänen et al. 2010	Ryan et Beaucham 2013
COV microbiens reportés dans l'étude	COV associés à la croissance des espèces de moisissures étudiées sur du papier peint		1-propanol α pinène cyclohexanone pentadecane 2-méthylfurane	2-Methyl-1-propanol 3-Methyl-1-butanol 3-Methyl-2-butanol 2-Pentanol 3-Octanol 1-Octen-3-ol 2-Octen-1-ol 3-Methylfuran 2-Hexanone 2-Heptanone 3-Octanone 2-Methylisoborneol 2-Isopropyl-3-methoxy-pyrazine Géosmine Dimethyl disulphide	COV associés au développement fongique : 2-méthylfurane 3-méthylfurane 2-Methyl-1-propanol 2-Pentanol 3-methyl-1-butanol Dimethyl disulphide 2-hexanone 2-heptanone 2-nonanone 1-octene	Pentane-1-ol Pentane-2-ol 3-méthylbutane-1-ol 2-Hexanone 2-Heptanone 1-Octen-3-ol 3-octanone 3-octanol	Propyl acetate 2-pentanone 4-méthyl-2-hexanone	3-Octanone 1-Octen-3-ol 2-Octen-1-ol 2-heptanone 1-butanol 2-methyl-1-propanol Carveol 3-Octanol γ-terpinéol α-terpinéol bornéol 2-nonanone 2-pentylfurane 3-méthylfurane Thujopsene Fenchone Géosmine Butanoate d'ethyl 2-pentanol
	2-pentanol 1-octen-3-ol 3-octanol Tetradecene Pentadecene 1,3-octadiene 1,3-nonadiene Hexadecane 2-pentanone 2-heptanone 2-nonanone 3-octanone	2,4-pentandione 1,3- dimethoxybenzene Acide3-methyl-2-butenique Acide 3-methylbutonique 2-Méthyl-2-buténoate d'éthyle Iso-amyl tiglate Acetic acid ethylhexyl ester Benzoate de méthyle Pyridine dimethyldisulfide 1,10-dimethyl-9-decalinol 2,6-di-tert-butyl-p-benzoquinone Sesquiterpènes						
Espèces fongiques	<i>Penicillium expansum</i> , <i>penicillium chrysogenum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus versicolor</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Cladosporium cladosporoides</i>		<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Penicillium citrinum</i>	Non précisé	<i>Penicillium sp.</i> , <i>Aspergillus sp.</i>	Non précisé	Non précisé	Non précisé
Sur site ou sur matériaux	Papier peint et sur milieux de culture		Goujons en bois, panneaux de gypse, pare vapeur de polyéthylène, fibre de verre	Sur site et sur matériaux	550 logements	41 logements au Japon	Panneaux de particules de bois	23 logements sans problèmes d'humidité
Prélèvement des COV	SPME-GCMS		Echantillonnage : SPME Analyse : GC/MS	Echantillonnage passif : SUPELCO VOC-SD DSD-DNPH pour le formaldéhyde Actif : Tenax Analyse : GC-MS	Echantillonnage passif : OVM 3500 exposés pendant 4 semaines à 1.5-2 m du sol et à 50 cm d'un autre meuble Analyse : GC-MS	Non précisé	Echantillonnage : Tenax TA Analyse : TD-GC-MS	Echantillonnage : VOC-SD et DSD-DNPH Analyse : GC-MS UPLC

Tableau 1-15. Etudes expérimentales et de revue portant sur l'identification de COVm émis par les matériaux et/ou retrouvés dans des logements-Suite

Sujet de la publication	Effets sur la santé des COVm		Echantillonnage et analyse de COVm (article de revue)	COV microbiens identifiés dans 60 maisons individuelles à l'est de Japon
Référence	Choi et al 2017		Garcia-Alcega et al., 2017	Shinohara et al. 2018
COV microbiens reportés dans l'étude	B-Myrcene Verbenone Cyclohexanol, 2- (1,1-dimethylethyl)- ,cis- Terpinolene Acetate de bornyle 2-pentylfuran 1-pentanol 2-méthyl-1-propanol Camphor Camphène 6-méthyl-1-propanol Acetate de linalyle Sabinene 2-heptanone	3-méthyl-1-butanol Isoterpinolene B-phellandrène Acid butanoic,3-méthylbutyl ester γ-terpinene 1-octen-3-one 2-hexanone 2-méthylfuran 2-pentanone α terpinene α phelladrène estragole acetate isobornyle Fenchone	2-methyl-1-propanol 3-methyl-1-butanol 3-methyl-2-butanol 3-octanol 1-octen-3-ol 2-octen-1-ol 2-penatnol 2-methylfuran 3-methylfuran 2-pentylfuran 2-heptanone 2-hexanone 3-octanone Géosmine Bornéol 2-methyl-1-sorbenol Dimethylsulfide Dimethyldisulfide 2-isopropyl-3-methoxy-pyrazine	2-méthylfuran 3-méthylfuran Isobutyl acétate 1,4-dioxane Diméthyle disulfide 2-hexanone 3-méthyl-2-butanol 2-méthyl-1-propanol 2-pentanol 2-heptanone 2-méthyl-1-butanol 3-méthyl-1-butanol 2-pentylfuran 1-pentanol 3-octanone 1-octen-3-ol 2-éthyl-1-hexanol A-terpinéol Géosmine
Espèces fongiques	Non précisé		Non précisé (article de revue)	Non précisé
Sur site ou sur matériaux	198 logements		Non précisé (article de revue)	60 maisons individuelles
Prélèvement des COV	Echantillonnage : tubes Tenax Analyse : GC/MS		Non précisé	Echantillonnage : Carbonxen 564 et DSD-DNPH Analyse : GC/MS et UPLC
Température et HR	Non précisé		Non précisé	T: 16 ± 3,8°C et 14,2 ± 3,9°C HR: 54,4 ± 9,8 % et 60,1 ± 10,7 %

Lors de la germination des spores et la croissance du mycélium des moisissures, des allergènes, des composants de la paroi cellulaire, des mycotoxines, et de COVm sont libérés et se retrouvent dans l'air intérieur d'un logement contaminé. Trois types de risques pour la santé liés à l'exposition à ces composés ont été identifiés dans le rapport d'expertise collective « les moisissures dans le bâti » de l'ANSES (2016) :

1. Le risque allergique :

Environ 70 allergènes fongiques dont des protéines, des polysaccharides et de lipopolysaccharides ont été décrits par le comité international de nomenclature des allergènes (Méheust 2012). L'exposition aux allergènes entraîne trois classes de réactions allergiques respiratoires :

A) Les réactions médiées par les anticorps (IgE) et qui comprennent l'asthme, la dermatite atopique, la rhinite allergique et l'urticaire comme manifestations cliniques. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* et *Cladosporium* sont les genres les plus fréquemment associés.

B) L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA), maladie pulmonaire rare due à une hypersensibilité aux spores d'*Aspergillus fumigatus* qui concerne plus souvent les patients présentant un asthme persistant ou atteints de mucoviscidose.

C) Les alvéolites allergiques extrinsèques (AAE), pneumopathie liée à l'inhalation chronique de moisissures chez les personnes sensibles (ANSES 2016 a; Deffontaine 2016).

2. Le risque toxique ou inflammatoire

Le risque toxique ou inflammatoire est associé à l'exposition aux composants des moisissures comme les β -1,3-glucanes et/ou à leurs produits métaboliques tels que les mycotoxines ou les COVm. Les β -1,3-glucanes sont des sucres complexes composants de la membrane cellulaire de moisissures susceptibles d'entraîner chez l'homme et chez l'animal une irritation des membranes muqueuses oculaires et de voies respiratoires (ANSES 2016 ; Méheust 2012).

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires qui résultent de la dégradation de métabolites primaires tels que le sucres, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques (Gauthier et al. 2018). Ces composés peuvent être ingérés, inhalés ou absorbés par la peau, et des effets hépatotoxiques, neurotoxiques, mutagènes, tératogènes et cancérigènes ont été observés chez l'animal (Li et Yang 2004). Les genres *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Memnoniella*, *Penicillium*, *Strachybotrys* et *Trichoderma* ont été identifiées comme principales moisissures capables de produire des mycotoxines.

Le **Tableau 1-16** présente les mycotoxines produites par certaines espèces de moisissures et la **Figure 1-12** expose quelques exemples d'aflatoxines, un type de mycotoxine.

Tableau 1-16. Mycotoxines produites par certaines espèces de moisissures (FAO 2003)

Espèce de moisissure	Mycotoxine
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxines B1, B2, G1, G2
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxines B1, B2
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	Toxine T-2
<i>Fusarium graminearum</i>	Déoxynivalénol (ou nivalénol)
<i>Fusarium moniliforme</i>	Fumonisine B1
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ochratoxine A
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ochratoxine A

En ce qui concerne les COVm, ils sont associés au « Syndrome des Bâtiments Malsains » ou « Sick Building Syndrome (SBS) ». Ce dernier est un ensemble de symptômes non spécifiques touchant la peau, les muqueuses, le système respiratoire et/ou le système nerveux central (Tableau 1-17) qui apparaissent rapidement lorsque les personnes séjournent dans le bâtiment et s'estompent et disparaissent dès qu'elles le quittent (Lafossas et al. 2007 ; Malchaire 2000).

Figure 1-12. Structure moléculaire des aflatoxines (Zhang et al. 2014)

Tableau 1-17. Symptômes liés au syndrome de bâtiment malsain ou SBS (Malchaire 2000)

Système ou partie affectés	Symptômes
Muqueuses et voies respiratoires supérieures	- Irritation, sécheresse des yeux, du nez, de la gorge. - Picotements des yeux, larmoiements, congestions nasales. - Toux, éternuements, saignements du nez. - Voix enrouée ou modifiée
Système respiratoire profond	Oppressions thoraciques, respirations sifflantes, asthme, essoufflements.
La peau	Sécheresse, démangeaisons, éruptions.
Système nerveux central	- Fatigue, difficultés de concentrations, somnolence. - Maux de tête - Etourdissements, vertiges, nausées.
Gêne extérieur	Odeurs déplaisantes, modification du gout.

Les effets toxiques des COV en général observés chez l'homme sont de sévérité variable, de type aigu ou chronique et les réponses inflammatoires incluent la libération d'histamine par des mécanismes autres que ceux médiés par les anticorps (IgE). Certains d'entre eux sont classés comme « cancérogènes certains », d'autres ont des effets neurotoxiques ou sur le système reproducteur et la plupart ont des impacts sur les voies respiratoires (Hulin et Annesi-Maesano 2012) (Tableau 1-18).

3. Le risque infectieux

Le risque infectieux est lié à une exposition par inhalation de spores, généralement d'*Aspergillus*, qui pourrait entraîner la multiplication du champignon dans l'organisme hôte qui dépend principalement de l'état d'immunodépression lié à une pathologie ou à la prise de traitements médicamenteux (ANSES 2016 ; Deffontaine 2016). Lorsque les patients sévèrement immunodéprimés inhalent les spores, une invasion du tissu pulmonaire peut s'entraîner et parois une dissémination à d'autres organes (Méheust 2012).

Plusieurs espèces d'*Aspergillus* sont rapportées comme pathogènes pour l'homme : *A.fumigatus* (responsable de plus de 80 % des expressions pathologiques humaine), *A.flavus*, *A.niger*, *A.nidulans*, *A. versicolor*, *A. glaucus* et *A.terreus* (HAS 2017).

Tableau 1-18. Impact sanitaire de quelques COV (Poulhet 2014)

I.6. Conclusion

Cet état de connaissances a permis de d'identifier les impacts de l'utilisation d'isolants bio-sourcés dans la construction et la rénovation de bâtiments. Tout d'abord les principaux isolants bio-sourcés utilisés en France ont été décrits. Ensuite, les risques liés à l'accumulation de l'humidité et aux émissions en COV ont été présentés ainsi que les principaux paramètres environnementaux et propres des matériaux qui favorisent ces phénomènes. Enfin, les risques sur la santé humaine d'une contamination fongique ont été mentionnés.

En effet, une humidité trop importante au sein des isolants peut éventuellement déclencher une contamination fongique et influencer les émissions en COV du matériau. La prolifération de moisissures sur les matériaux et la génération de COV et COVm impacte la QAI et par conséquent, la santé humaine. Ainsi, la conception et les modes constructifs des bâtiments en France doivent désormais associer sobriété énergétique et choix de solutions tout en cohérence avec la qualité de l'air intérieur et le confort et la santé des occupants.

I.7. Présentation du travail de thèse

Ce travail de thèse s'est intéressé à l'impact de l'utilisation des isolants bio-sourcés sur la qualité de l'air intérieur et est décliné en trois parties :

- **Etude de la potentialité des matériaux à être le siège du développement de microorganismes**

Objectifs :

- Mise au point d'un dispositif (système expérimental et protocole) permettant de tester le développement de micro- organismes sur différents matériaux et de caractérisation de la reproductibilité de ce développement.
- Comparaison de deux méthodes d'essais pour évaluer la résistance des matériaux bio-sourcés au développement fongique.

- **Caractérisation des COV émis par les matériaux**

Objectifs :

- Caractérisation de manière précise des COV majoritaires et certains COV d'intérêt émis par les isolants bio-sourcés utilisés lors de la réhabilitation et la construction des bâtiments.

- Etude de l'effet de la variation de l'HR sur les émissions en COV et l'évolution de ces émissions à des conditions d'HR élevées.

- **Emission des COV d'origine fongique**

Objectifs :

- Mise au point d'un dispositif (système expérimental et protocole) permettant l'identification des COV associés au développement des moisissures.
- Mise en place de deux démarches analytiques pour identifier ces COVm.

I.8. Démarche scientifique

Afin de mener à bien les objectifs présentés ci-dessous, les matériaux de l'étude, qui seront décrits dans le **Chapitre 2**, ont été évalués vis-à-vis de leur résistance au développement de moisissures. Pour ce faire, deux méthodes d'essai ont été mises en place : la première correspond à un protocole issu de la littérature et la deuxième est une « nouvelle » méthode proposée dans ce travail de thèse. L'ensemble de tests a été réalisée à l'IMT Atlantique de Nantes, au laboratoire GEPEA. Les résultats sont présentés dans le **Chapitre 3**.

En parallèle des essais concernant la résistance des matériaux à la croissance fongique, des méthodes pour la mesure et l'analyse des émissions en COV des matériaux ont été effectuées à l'IMT Lille-Douai au laboratoire du département SAGE (Sciences de l'Atmosphère et Génie de l'Environnement). Le **Chapitre 4** présente les résultats obtenus.

Enfin, si les matériaux favorisaient la croissance des moisissures, ils ont été soumis à une dernière étape d'évaluation afin de caractériser les COV d'origine fongique. Les résultats concernant la caractérisation de COVm sont présentés dans le **Chapitre 5**. Dans cette partie, l'inoculation des matériaux et les prélèvements des COV ont été réalisés au GEPEA et l'analyse des résultats a été effectuée au laboratoire du département SAGE.

I.9. Références

Adan, Olaf, and Robert Samsom

2011 Fundamentals of Mold Growth in Indoor Environments and Strategies for Healthy Living. 1st edition. Wageningen Press Publisher.

ADEME

2015 Parois Opaques - Les Produits de Construction Biosourcés Pour Le Bâtiment.

<http://www.ademe.fr/expertises/batiment/passer-a-laction/elements-construction/dossier/parois-opaques/produits-construction-biosources-batiment>.

ADEME

2016a Choisir Des Matériaux Pour Construire et Rénover.

<http://www.ademe.fr/sites/default/files/assets/documents/guide-pratique-isoler-son-logement.pdf>

ADEME

2016b Guide Pratique : Un Air Sain Chez Soi.

<http://www.ademe.fr/sites/default/files/assets/documents/guide-pratique-un-air-sain-chez-soi.pdf>

ADEME

2017a Expertises ADEME. Parois Opaques. Les Produits de Construction Biosourcés Pour Le Bâtiment. <https://www.ademe.fr/expertises/batiment/passer-a-laction/elements-construction/dossier/parois-opaques/produits-construction-biosources-batiment>.

ADEME

2017b Guide-Un Air Sain Che Soi.

<https://www.ademe.fr/sites/default/files/assets/documents/guide-pratique-un-air-sain-chez-soi.pdf>

ADEME

2017c Comparaison Des Émissions de COV Dans l'air Intérieur Par Les Produits Biosourcés Utilisés Dans Le Bâtiment.

ADEME

2018 Dossier Pour Comprendre : L'énergie En France : Qui Consomme Le plus d'énergie En France?

<https://www.ademe.fr/en/particuliers-eco-citoyens/dossiers-comprendre/dossier/lenergie-france/consomme-plus-denergie-france>.

AGRAEP

2009 Moisissures. Prévention et Lutte. Brochure de Recommandations et de Conseil. Archives Générales Du Royaume et Archives de l'Etat Dans Les Provinces. Section Surveillance, Avis et Coordination de La Collecte et de La Sélection. Belgique.

<http://www.arch.be/docs/brochures/moisissures-prevention-et-lutte.pdf>.

Andersen, B., J. C. Frisvad, I. Sondergaard, I. S. Rasmussen, and L. S. Larsen

2011 Associations between Fungal Species and Water-Damaged Building Materials. Applied and Environmental Microbiology, June 15: 4180–4188.

Andersen, Ib, G.R. Lundqvist, and L. Mølhave

1975 Indoor Air Pollution Due to Chipboard Used as a Construction Material. Atmospheric Environment (1967) 9(12): 1121–1127.

ANSES

2016a AVIS et RAPPORT de l'Anses Relatif Aux Moisissures Dans Le Bâti. [zotero://attachment/70/](https://www.anses.fr/fr/system/files/avis_2016_01_01_01_01_01.pdf)

ANSES

2016b Moisissures Dans Le Bâti. Avis de l'Anses. Rapport d'expertise Collective.

<https://www.anses.fr/en/system/files/AIR2014SA0016Ra.pdf>.

ANSES

2017 Ouate de Cellulose: Comment Les Données de Toxicovigilance Ont Conduit à Une Restriction Réglementaire. Vigil'Anses N°3. Le Bulletin Des Vigilances de l'Anses.
https://vigilances.anses.fr/sites/default/files/VigilancesN3_Ouatedecellulose.pdf.

ANES

2018 Valeur Guides de La Qualité d'Air Intérieur (VGAI). Présentation et Travaux de l'Agence.
<https://www.anses.fr/fr/content/valeurs-guides-de-qualit%C3%A9-d%E2%80%99air-int%C3%A9rieur-vgai>.

AQC, MEEM, and MLHD

2016a Rapport: Isolants Bio-Sourcés: Points de Vigilance.
<http://www.qualiteconstruction.com/sites/default/files/2017-07/E-Isolants-Biosources-Vigilance.pdf>.

AQC, MEEM and MLHD

2016b Étude de pathologie « Isolants biosourcés - Points de vigilance ». <http://www.qualiteconstruction.com/sites/default/files/2017-07/E-Isolants-Biosources-Vigilance.pdf>, accessed July 17, 2017.

Araki, Atsuko, Ayako Kanazawa, Toshio Kawai, et al.

2012 The Relationship between Exposure to Microbial Volatile Organic Compound and Allergy Prevalence in Single-Family Homes. *Science of The Total Environment* 423: 18–26.

ARLA

2017 Décision de Réévaluation: Ochtilinone. Agence de Réglementation de La Lutte Antiparasitaire (ARLA). Santé Canada. <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/securite-produits-consommation/rapports-publications/pesticides-lutte-antiparasitaire/decisions-mises-jour/decision-homologation/2017/ochtilinone-rvd-2017-02.html>.

ASPA

2008 Dossier Air Intérieur. Dossier Report'air. Inverser La Vapeur!...
2014 Suivi de La Qualité de l'air Intérieur. Conseil Général Du Haut-Rhin. http://www.atmo-alsace.net/medias/produits/Suivi_de_la_qualite_de_8.pdf.

Berger, J, S Tasca-Guernouti, M Wolosyn, and C Buhe

2012 L'humidité Dans Les Bâtiments : Pathologies et Paramètres Gouvernants. XXX^e Rencontres AUGC-IBPSA Chambéry.

Blondeau, P

2009 Caractérisation et Modélisation Des Transports de Polluants Dans Les Environnements Intérieurs. Rapport HDR. Université de la Rochelle. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00351567/document>.

Boissier, Marjorie

2003 Etude et compréhension des phénomènes environnementaux régissant la colonisation des produits de construction par les aérosols fongiques : application à l'hygiène des environnements intérieurs. Paris Est. <http://www.theses.fr/2003PA120013>, accessed August 22, 2017.

Boudih, Sarah

2011 Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers. Evaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro. Paris-Est. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00781807/document>.

Bouilly, C, F Allard, P Blondeau, et al.

2006 A Physically-Based Analysis of the Interactions between Humidity and VOCs in Building Materials. *In* . Proceedings of the Healthy Buildings International Conference.

CCFAT

2019 Demander Un Avis Technique. Commission Chargée de Formuler Les Avis Techniques.
www.ccfat.fr/demander-atec.

CeRCAD

2014 Santé et Qualité de l’Air Intérieur Dans Le Bâtiments.
http://www.cercad.fr/IMG/pdf/ct_17vin_cercad_12_qai.pdf

Cerema

2016 Rapport: Décryptage de La Loi de La Transition Énergétique. Bâtiments: Que Dit La Loi de La Transition Énergétique? http://www.occitanie.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/fi04216_transition_batiment_1_1.pdf.

CeseR

2017 Avis N°2017-19 Production, Transformation et Utilisation Des Matériaux Biosourcés Pour La Construction : Quelle Actions de La Région Ile-de-France? Conseil Economique, Social et Environnemental Régional d’Ile-de- France (CeseR).

CITEPA

2013 Poussières En Suspension. <https://www.citepa.org/fr/air-et-climat/polluants/poussieres-en-suspension>.

Crook, Brian, and Nancy C. Burton

2010 Indoor Moulds, Sick Building Syndrome and Building Related Illness. *Fungal Biology Reviews* 24(3–4): 106–113.

CSHPF

2006a Rapport Moisissures. Contaminations Fongiques En Milieux Interieurs. http://social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/Contaminations_fongiques_en_milieux_interieurs.pdf.

CSHPF

2006b Contaminations Fongiques En Milieux Interieurs. Diagnostic, Effets Sur La Santé Respiratoire et Conduites à Tenir. CONSEIL SUPERIEUR D’HYGIENE PUBLIQUE EN FRANCE. “Moisissures Dans l’habitat.”

https://solidaritessante.gouv.fr/IMG/pdf/Contaminations_fongiques_en_milieux_interieurs.pdf.

CSTB

2015 Guide Pratique - Moisissures Dans Votre Logement? Lese Éliminer En Toute Sécurité.
http://www.ademe.fr/sites/default/files/assets/documents/guide-moisissures-cstb_2015.pdf

Deacon, Jim

2006 *Fungal Biology*. 4ème. Australia: Blackwell Publishing.

Dean, Timothy, and Doris Betancourt

2014 Microbial Resistant Test Method Development-EPA Report.

Deffontaine, Marie

2016 Moisissures Des Logements Humides En Picardie et Impact Sur La Santé.
<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01284234/document>.

Degrange, Patrick

2012 Ile de France- Des Bio-Sourcés Pour La Biomasse et Le Bâtiment. CETEIF.
http://www.reseaurural.fr/files/contenus/6846/ile-de-france_bio-sources_pour_la_biomasse_et_le_batiment.pdf

DGE, ADEME, NOMADEIS, and BIO BY DELOITTE

2016 Recensement Des Produits Biosourcés Disponibles Sur Le Marché et Identification Des Marchés Publics Cibles. http://www.vegetal-e.com/fichiers/2016-dge-recensement-des-produits-biosources-disponibles_1478000500.pdf.

DREAL

2015 Les Matériaux Biosourcés Dans Le Champ de La Construction et de La Rénovation En Alsace.
http://www.grand-est.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/201510_diagB434a.pdf,

DREAL- Pays de la Loire

2013 Connaissance de La Filière Des Matériaux Bio-Sourcés Pour La Construction En Pays de La Loire.

ECHA

2010 Member State Committee Draft Support Document for Identification of Boric Acid as a Substrate of Very High Concern Because of Its CMR Properties.
<https://echa.europa.eu/documents/10162/d51fd473-40ec-4831-bc2d-6f53bdf9cbbe>,

Energie Rhône-Alpes

2015 Rapport Guide Des Matériaux Isolants Pour Une Isolation Efficace et Durable.
<https://docplayer.fr/15847045-Guide-des-materiaux-isolants-pour-une-isolation-efficace-et-durable.html>.

FAO

2003 Manuel Sur l'application Du Systèmes de l'analyse Des Risques - Point Critiques Pour Leur Maîtrise (HACCP) Pour La Prévention et Le Contrôle Des Mycotoxines.
<http://www.fao.org/3/y1390f/y1390f00.htm#Contents>.

FFB

2015 Les Matériaux Biosourcés Dans Le Bâtiment. <http://www.batirpourlaplanete.fr/wp-content/uploads/2015/11/Guide-materiaux-biosources.pdf>

Garcia-Alcega, Sonia, Zaheer Ahmad Nasir, Robert Ferguson, et al.

2017 Fingerprinting Outdoor Air Environment Using Microbial Volatile Organic Compounds (MVOCs) – A Review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 86: 75–83.

Garcia-Hidalgo, Elena, Virginie Sottas, Natalie von Goetz, et al.

2017 Occurrence and Concentrations of Isothiazolinones in Detergents and Cosmetics in Switzerland: ISOTHIAZOLINONES IN CONSUMER PRODUCTS. *Contact Dermatitis* 76(2): 96–106.

Gauthier, Alban

2016 Les Mycotoxines Dans l'alimentation et Leur Incidence Sur La Santé. U.F.R des Sciences Pharmaceutiques.

Gradeci, Klodian, Nathalie Labonnote, Berit Time, and Jochen Köhler

2017 Mould Growth Criteria and Design Avoidance Approaches in Wood-Based Materials – A Systematic Review. *Construction and Building Materials* 150: 77–88.

Griffin, David

1996 Fungal Physiology. 2ème. Wiley Science Paperback.

<http://eu.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-0471166154.html>, accessed August 22, 2017.

Hachem, Caroline, Paul Fazio, Jiwu Rao, Karen Bartlett, and Yogendra P. Chaubey

2009 Identification and Transport Investigation of Microbial Volatile Organic Compounds in Full-Scale Stud Cavities. *Building and Environment* 44(8): 1691–1698.

Haghighat, Fariborz, and Lisa De Bellis

1998 Material Emission Rates: Literature Review, and the Impact of Indoor Air Temperature and Relative Humidity. *Building and Environment* 33(5): 261–277.

HAS

2017 Actualisation Des Actes de Biologie Médicale Relatifs Au Diagnostic Des Infections à Aspergillus. Collège de La Haute Autorité de Sante. France. https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2736666/fr/actualisation-des-actes-de-biologie-medicale-relatifs-au-diagnostic-des-infections-a-aspergillus.

Heseltine, Elisabeth, Jerome Rosen, and World Health Organization, eds.

2009 WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Dampness and Mould. Copenhagen: WHO.

Hoang, Chi P., Kerry A. Kinney, Richard L. Corsi, and Paul J. Szaniszló

2010 Resistance of Green Building Materials to Fungal Growth. *International Biodeterioration & Biodegradation* 64(2): 104–113.

Hulin, M., and Annesi-Maesano

2012 Les Composés Organiques Volatils: Sensibiliser Le Public Pour Limiter Les Risques Liés à La Pollution de l'air Intérieur. Inserm UMR-S 707, Équipe Des Maladies Allergiques et Respiratoires (EPAR), et Université Paris VI. *La Lettre Du Pneumologue*: 7.

Hyvärinen, Anne, Teija Meklin, Asko Vepsäläinen, and Aino Nevalainen

2002 Fungi and Actinobacteria in Moisture-Damaged Building Materials—Concentrations and Diversity. *International Biodeterioration & Biodegradation* 49(1): 27–37.

INRS

2014 Fibres Autres Que l'amiante. Ce Qu'il Faut Retenir - Risques -.

<http://www.inrs.fr/risques/fibres-hors-amiante/ce-qu-il-faut-retenir.html>, accessed August 7, 2017.

INRS, ED4263

2006. Brochure INRS. Traitement Des Gaz Dangereux Captés Sur Les Lieux de Travail. Adsorption. <http://www.inrs.fr/media.html?refINRS=ED%204263>

IOM

2004 Damp Indoor Spaces and Health. Washington, DC : National Academies Press.
<http://www.healthcareitnews.com/directory/institute-medicine-iom>.

IRSN

2010 Le Radon. Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire.
<https://www.irsn.fr/FR/connaissances/Environnement/expertises-radioactivite-naturelle/radon/Pages/sommaire.aspx#.XP91W8Q6-70>.

Joblin, Yaël

2012 Thèse: Elaboration d'un microsystème d'analyse de l'air destiné à la détection rapide d'un développement fongique dans les espaces clos. Phdthesis, Université Paris-Est. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00696618/document>.

Johansson, Pernilla

2014 Determination of the Critical Moisture Level for Mould Growth on Building Materials. Université de Lund.

Johansson, Pernilla, Annika Ekstrand-Tobin, and Gunilla Bok

2014 An Innovative Test Method for Evaluating the Critical Moisture Level for Mould Growth on Building Materials. Building and Environment 81: 404–409.

Kallavus, Urve, Hele Järv, Targo Kalamees, and Lembit Kurik

2017 Assessment of Durability of Environmentally Friendly Wood-Based Panels. Energy Procedia 132: 207–212.

Korpi, Anne, Jill Järnberg, and Anna-Liisa Pasanen

2009 Microbial Volatile Organic Compounds. Critical Reviews in Toxicology 39(2): 139–193.

Kuske, Martyna, and Jacques Nicolas

2004 Développement d'un Instrument d'évaluation Des Impacts de Matériaux Sensibles Aux Moisissures Sur La Qualité de l'air Intérieur. CONVENTION FIRST-EUROPE "MYCONEZ" N° 114900.

Laborel-Préneron, Aurélie, Kouka Ouédraogo, Alexis Simons, et al.

2018 Laboratory Test to Assess Sensitivity of Bio-Based Earth Materials to Fungal Growth. Building and Environment 142: 11–21.

Lafossas, S, F Barat, and C Verdun-Esquer

2007 Qualité de l'air. Résultats d'enquêtes Dans Un Bâtiments Récent. INRS.
www.inrs.fr/media.html?refINRS=TF%20157.

Lee, Young-Kyu, and Hyun-Joong Kim

2012 The Effect of Temperature on VOCs and Carbonyl Compounds Emission from Wooden Flooring by Thermal Extractor Test Method. Building and Environment 53: 95–99.

Li, D.W, and Chin Yang

2004 Fungal Contamination as a Major Contributor to Sick Building Syndrome. Advances in Applied Microbiology: 31–112.

Liang, Weihui, Mengqiang Lv, and Xudong Yang

2016 The Combined Effects of Temperature and Humidity on Initial Emittable Formaldehyde Concentration of a Medium-Density Fiberboard. *Building and Environment* 98: 80–88.

Lin, Chi-Chi, Kuo-Pin Yu, Ping Zhao, and Grace Whei-May Lee

2009 Evaluation of Impact Factors on VOC Emissions and Concentrations from Wooden Flooring Based on Chamber Tests. *Building and Environment* 44(3): 525–533.

Malchaire, J

2000 Sick Building Syndrome. Analyse et Prévention. Université Catholique de Louvain. Institut Scientifique de Santé Publique Louis Pasteur. Institut National de Recherche Sur Les Conditions de Travail. Simon Moors. <http://www.hytr.ucl.ac.be/Sobane/SBSfr.pdf>.

Marion, Michaël, Anne Lise Tiffonnet, Alina Santa-Cruz, and Rachid Makhoulfi

2011 Study of the Resistances to Transfer of Gaseous Pollutant between Material and Indoor Air. *Building and Environment* 46(2): 356–362.

Maskell, D, C.F Da Silva, K Mower, et al.

2015 Properties of Bio-Based Insulation Materials and Their Potential Impact on Indoor Air Quality. First International Conference on Bio-Based Building Materials.

https://purehost.bath.ac.uk/ws/portalfiles/portal/108856257/Properties_of_bio_based_insulation_materials_and_their_potential_impact_on_indoor_air_quality.pdf.

MCDT

2016 Présentation Des Exigences Réglementaires Pour La Rénovation Énergétique - Ministère de La Cohésion Des Territoires. <http://www.cohesion-territoires.gouv.fr/presentation-des-exigences-reglementaires-pour-la-renovation-energetique>, accessed July 12, 2017.

MEDDTL

2007a “Grenelle de l’environnement- Rapport Groupe 1: Lutter Contre Les Changements Climatiques et Maîtriser La Demande d’énergie”.

<https://www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapports-publics/074000593.pdf>.

MEDDTL

2007b “Grenelle de l’environnement- Rapport Groupe 2: Préserver La Biodiversité et Les Ressources Naturelles”. <https://www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapports-publics/074000594.pdf>.

MEDDTL

2007c “Grenelle de l’environnement- Rapport Groupe 3: Instaurer Un Environnement Respectueux de La Santé”. <https://www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapports-publics/074000595.pdf>.

MEDDTL

2007d “Grenelle de l’environnement- Rapport Groupe 4: Vers Des Modes de Production et de Consommation Durables”. <https://www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapports-publics/074000596.pdf>.

MEDDTL

2007e “Grenelle de l’environnement- Rapport Groupe 5: Construire Une Démocratie Écologique: Institutions et Gouvernance”. <https://www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapports-publics/074000597.pdf>.

MEDDTL

2007f “Grenelle de l’environnement- Rapport Groupe 6: Modes de Développement Écologique Favorables à l’emploi et à La Compétitivité”.

<https://www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapports-publics/074000598.pdf>.

MEEM

2016 Bilan Énergétique de La France Pour 2015. http://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/fileadmin/documents/Produits_editoriaux/Publications/Datalab/2016/datalab-bilan-energetique-de-la-france-pour-2015-novembre2016.pdf

Méheust, Delphine

2012 Exposition Aux Moisissures En Environnement Intérieur: Méthodes de Mesure et Impacts Sur La Santé. Université Rennes 1. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00768444/>

Mendell, Mark J., Anna G. Mirer, Kerry Cheung, My Tong, and Jeroen Douwes

2011 Respiratory and Allergic Health Effects of Dampness, Mold, and Dampness-Related Agents: A Review of the Epidemiologic Evidence. *Environmental Health Perspectives* 119(6): 748–756.

MLHD

2013 Etiquetage Des Produits de Construction - Ministère Du Logement et de l'Habitat Durable. <http://www.logement.gouv.fr/etiquetage-des-produits-de-construction>

Morisseau, Kevin

2016a Thèse-Traitement Combiné de Polluants Atmosphériques Par Filtration et Adsorption Pour Limiter Leur Transfert Dans l'Habitat Urbain. Ecole des Mines de Nantes. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01419583/document>.

Moularat, S, M Draghi, I Lacaze, et al.

2013 Etude et Compréhension de La Dynamique de Colonisation Microbienne Des Supports : Vers l'élaboration de Nouveaux Traitements Préventifs Adaptés Aux Environnements Intérieurs. Programme PRIMEQUAL, Rapport Final. CSTB.

Moularat, S, E Robine, O Ramalho, and M Oturan

2008 Detection of Fungal Development in a Closed Environment through the Identification of Specific VOC: Demonstration of a Specific VOC Fingerprint for Fungal Development. *Science of The Total Environment* 407(1): 139–146.

Moularat, Stéphane, Marion Hulin, Enric Robine, Isabella Annesi-Maesano, and Denis Caillaud

2011 Airborne Fungal Volatile Organic Compounds in Rural and Urban Dwellings. *Science of The Total Environment* 409(11): 2005–2009.

MTES

2018 Rapport. Diagnostic de Performance Énergétique - DPE. Ministère de La Transition Écologique et Solidaire. <https://www.ecologie-solidaire.gouv.fr/diagnostic-performance-energetique-dpe>.

MTES, and MCT

2018 Plan Batiment Durable. Ministère de La Transition Écologique et Solidaire. Ministère de La Cohésion Des Territoires. <http://www.planbatimentdurable.fr/retour-sur-l-assemblee-du-plan-batiment-durable-du-a1243.html>.

Nguyen, Thi-Phuong, Stéphane Moularat, Romain Berardo, et al.

2013 Actes Du Colloque Sciences Des Matériaux Du Patrimoine Culturel. Paris: Ministère de la Culture et de la Communication.

Nomadéis

2012 Etude Sur Le Secteur et Les Filières de Production Des Matériaux et Produits Bio-Sourcés Utilisés Dans La Construction (à l'exception Du Bois). Partie 1: Etat Des Lieux Économiques Du Secteur et Des Filières. http://www.envirobat-oc.fr/IMG/pdf/0524_dgaln_-_etude_economique_biosources_vf-1.pdf.

Nomadéis

2015 Résultats de l'enquête Inter-Régionale Sur Les Perceptions, Pratiques et Attentes Des Entreprises Artisanales Vis-à-Vis Des Matériaux Biosourcés.

Nomadéis

2017 Etude Sur Le Secteur et Les Filières de Production Des Matériaux et Produits Biosourcés Utilisés Dans La Construction (à l'exception Du Bois). Ministère de La Transition Écologique et Solidaire. Ministère de La Cohésion Des Territoires. http://www.envirobat-oc.fr/IMG/pdf/0524_dgaln_-_etude_economique_biosources_vf-1.pdf.

OPECST

2013 Rapport Provisoire Sur Les Freins Réglementaires à l'innovation En Matière d'économies d'énergie Dans Le Bâtiment - Office Parlementaire d'évaluation Des Choix Scientifiques et Techniques. http://www.assemblee-nationale.fr/commissions/rapport_provisoire_energie_batiment.pdf

Palumbo, M., A.M. Lacasta, N. Holcroft, A. Shea, and P. Walker

2016 Determination of Hygrothermal Parameters of Experimental and Commercial Bio-Based Insulation Materials. *Construction and Building Materials* 124: 269–275.

Palumbo, M., A.M. Lacasta, A. Navarro, M.P. Giraldo, and B. Lesar

2017 Improvement of Fire Reaction and Mould Growth Resistance of a New Bio-Based Thermal Insulation Material. *Construction and Building Materials* 139: 531–539.

Pasanen, AL, S Rautiala, J-P Kasanen, et al.

2000 The Relationship between Measures Moisture Conditions and Fungal Concentrations in Water-Damaged Building Materials. *Indoor Air*: 111–120.

Pasanen, Anna-Liisa, Jukka-Pekka Kasanen, Sirpa Rautiala, et al.

2000 Fungal Growth and Survival in Building Materials under Fluctuating Moisture and Temperature Conditions. *International Biodeterioration*: 11.

Pernilla, Johansson

2012 Critical Moisture Conditions for Mould Growth on Building Materials. Lund University. <https://www.sp.se/sv/index/research/woodbuild/publications/Documents/TVBH-3051.pdf>

Poggi, Pascal

2012 Isolants Bio-Sourcés: Des Bonnes Performances Thermiques. *Qualité Construction*: 65–73.

Räsänen, Riikka-Marjaana, Markus Håkansson, and Martti Viljanen

2010 Differentiation of Air Samples with and without Microbial Volatile Organic Compounds by Aspiration Ion Mobility Spectrometry and Semiconductor Sensors. *Building and Environment* 45(10): 2184–2191.

Roda, Céline

2012 Exposition Domestique à Des Polluants Chimiques de l'air Intérieur : Modélisation et Évaluation de l'impact Sur La Santé Respiratoire Chez Le Jeune Enfant. Paris Descartes.

- Schuchardt, Sven, and Andrea Strube
2013 Microbial Volatile Organic Compounds in Moldy Interiors: A Long-Term Climate Chamber Study: Indoor Air MVOC Long-Term Monitoring. *Journal of Basic Microbiology* 53(6): 532–538.
- Simons, A., A. Laborel-Préneron, A. Bertron, et al.
2015 Development of Bio-Based Earth Products for Healthy and Sustainable Buildings: Characterization of Microbiological, Mechanical and Hygrothermal Properties. *Matériaux & Techniques* 103(2): 206.
- Sollinger, S., K. Levsen, and G. Wunsch
1993 Indoor Air Pollution by Organic Emissions from Textile Floor Coverings. Climate Chamber Studies under Dynamic Conditions. *Atmospheric Environment. Part B. Urban Atmosphere* 27(2): 183–192.
- Stefanowski, B.K., S.F. Curling, and G.A. Ormondroyd
2017 A Rapid Screening Method to Determine the Susceptibility of Bio-Based Construction and Insulation Products to Mould Growth. *International Biodeterioration & Biodegradation* 116: 124–132.
- Suzuki, Masaki, Hiroshi Akitsu, Kohta Miyamoto, Shin-ichiro Tohmura, and Akio Inoue
2014 Effects of Time, Temperature, and Humidity on Acetaldehyde Emission from Wood-Based Materials. *Journal of Wood Science* 60(3): 207–214.
- Verdier, Thomas
2015 Elaboration de Revêtements Pour Matériaux de Construction Visant à Lutter Contre La Prolifération Microbienne à l'intérieur Des Bâtiments: Efficacité et Mode d'action. Université Paul Sabatier-Toulouse III. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01332618>.
- Viel, Marie, Florence Collet, Yann Lecieux, et al.
2019 Resistance to Mold Development Assessment of Bio-Based Building Materials. *Composites Part B: Engineering* 158: 406–418.
- Wiglusz, Renata, Elzbieta Sitko, Grazyna Nikel, Irena Jarnuszkiewicz, and Barbara Igielska
2002 The Effect of Temperature on the Emission of Formaldehyde and Volatile Organic Compounds (VOCs) from Laminate Flooring — Case Study. *Building and Environment*: 4.
- Wiktor, Virginie, Philippe Grosseau, René Guyonnet, Eric Garcia-Diaz, and Christine Lors
2011 Accelerated Weathering of Cementitious Matrix for the Development of an Accelerated Laboratory Test of Biodeterioration. *Materials and Structures* 44(3): 623–640.
- Xiong, J., P Zhang, S Huang, and Y. Zhang
2016 Comprehensive Influence of Environmental Factors on the Emission Rate of Formaldehyde and VOCs in Building Materials: Correlation Development and Exposure Assessment. *Environmental Research*: 734–741.
- Xiong, J., and Y. Zhang
2010 Impact of Temperature on the Initial Emittable Concentration of Formaldehyde in Building Materials: Experimental Observation. *Indoor Air* 20(6): 523–529.
- Zhang, Xiujuan, Kamil Kuča, Vlastimil Dohnal, et al.
2014 Military Potential of Biological Toxins. *Journal of Applied Biomedicine* 12(2): 63–77.

Zhang, Yinping, Xiaoxi Luo, Xinke Wang, Ke Qian, and Rongyi Zhao
2007 Influence of Temperature on Formaldehyde Emission Parameters of Dry Building Materials.
Atmospheric Environment 41(15): 3203–3216.

Zoz, Fiona
2016 Impact Des Fluctuations de l'humidité Relative de l'air Sur La Survie de Listeria
Monocytogenes: Application à l'amélioration de l'hygiène Dans Les Ateliers de Production
Alimentaire. Bourgogne-Franche Comté.

Chapitre 2. Matériels et méthodes

II.1. Introduction

Comme cela a été mis en évidence dans le premier chapitre, l'utilisation de matériaux bio-sourcés pourrait répondre aux exigences énergétiques actuelles du secteur du bâtiment en France. Cependant, pour être intégrés dans les bâtiments, ces matériaux doivent également prouver leurs performances vis-à-vis du développement de moisissures et des émissions en COV. L'étude de ces deux éléments s'avère très important pour enrichir la connaissance sur ce type de matériaux et en particulier sur ce qui concerne leurs impacts potentiels sur la qualité de l'air intérieur. Ce deuxième chapitre de thèse a pour objectif de présenter la méthode utilisée pour évaluer la potentialité des matériaux bio-sourcés à développer des moisissures, les méthodes déployées pour caractériser les COV émis par ces matériaux et la démarche analytique pour identifier les COV d'origine fongique. La revue bibliographique présentée dans le premier chapitre constitue le support scientifique pour l'établissement des différentes étapes expérimentales de ces méthodologies.

II.2. Matériaux étudiés

Dans le cadre de cette étude, deux panneaux semi-rigides bio-sourcés et un panneau semi-rigide minéral, destinés à l'isolation thermique intérieure des bâtiments, ont été testés. Le premier isolant bio-sourcé est composé principalement par des fibres de bois et le deuxième est un isolant mixte associant les fibres de bois et la laine de verre. Le matériau de référence choisi est la laine de verre qui fait partie des isolants minéraux conventionnels. Le **Tableau 2-1** présente les compositions et les caractéristiques principales des matériaux. Ces matériaux ont été sélectionnés compte tenu de leur fréquence d'utilisation pour l'isolation de murs en France. En 2015, le marché de l'isolation en France a été dominé par les laines minérales (50%), suivies par les mousses alvéolaires (40%) et enfin les isolants bio-sourcés et minces (10%). La moitié de ces 10% correspondait aux isolants à base de fibres de bois (AQC et al. 2016).

II.2.1 Isolant bio-sourcé A : composé principalement de fibres de bois

Cet isolant thermique et acoustique est composé de fibres de bois (90%) et de fibres textiles (10%). Il est conditionné principalement sous forme de panneaux semi-rigides pouvant présenter des épaisseurs allant de 60 mm jusqu'à 240 mm. Il possède un certificat ACERMI (**Association pour la CERTification des Matériaux Isolants**) et une FDSE (Fiche de Déclaration

Tableau 2-1. Composition et caractéristiques thermiques et sanitaires des isolants de l'étude

Matériau		Isolants bio-sourcés				Isolant conventionnel minéral
		Isolant A : fibres de bois		Isolant B : fibres de bois + laine de verre		Isolant C : laine de verre
Composition (% massique)	Fibre de bois	90	Fibre de bois	50	Laine de verre	95
	Fibres textiles (Polyester-recyclé)	10	Laine de verre	40	Liant à base d'acrylique	5
	Traitement ignifuge (sel minéral azoté)	*	Liant (polyester bi-composant)	8,7		
			Traitement Préventif Anticryptogamique	1,3		
Caractéristiques	Conductivité thermique	$\lambda = 0,038 \text{ W/m.K}$		$\lambda = 0,036 \text{ W/m.K}$		$\lambda = 0,032 \text{ W/m.K}$
	Epaisseur	100 mm		45 mm		100 mm
	Dimensions du panneau	122 cm x 58 cm		122 cm x 60 cm		270 cm x 120 cm
Résistance aux moisissures		Valeur non déterminée		Aucune croissance fongique détectée selon la NF EN 15101-1		Valeur non déterminée
Niveau d'émission de substances volatiles dans l'air intérieur		A		A+		A+

*Non renseigné

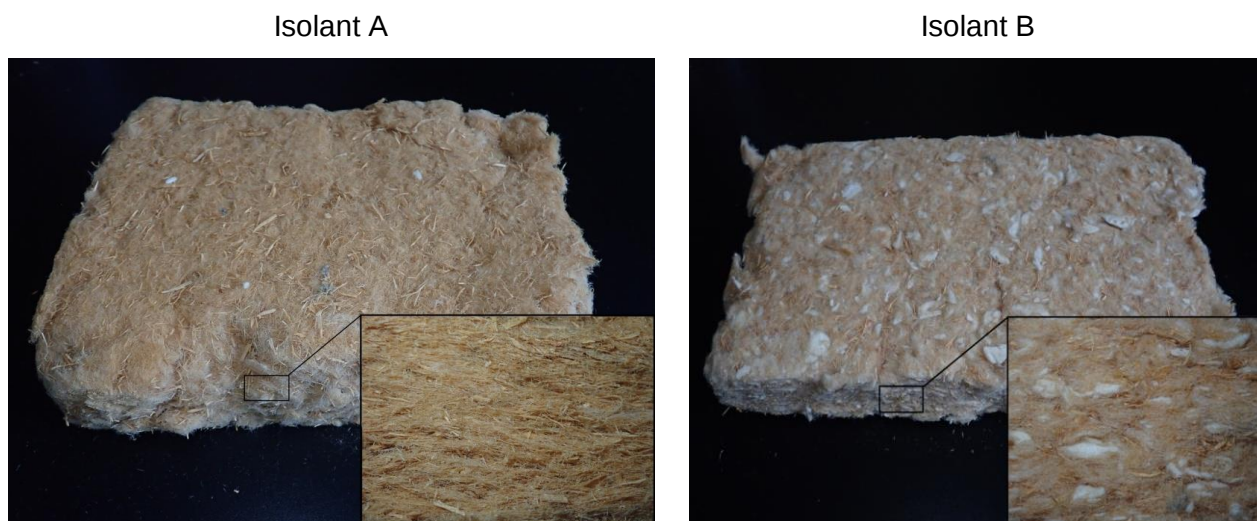
Environnementale et Sanitaire) validés par une tierce partie. Selon la fiche technique obtenue sur le site web du fabricant, ce matériau a subi un traitement ignifuge avec du sel minéral azoté (Figure 2-1).

II.2.2 Isolant bio-sourcé B : composé de fibres de bois et laine de verre

Ce matériau a fait l'objet d'une certification ACERMI, une FDES, un avis technique (CSTB) pour une utilisation en France, ainsi que d'un brevet d'invention. Il a reçu un traitement anti-cryptogamique avec deux produits traitants : l'acticide OT 9 et l'acticide IPW40. La substance active de l'OT 9 est le 2-octyl-2H-isothiazole-3-one (famille des isothiazolinones), et l'IPW40 est basé sur le butylcarbamate d'iodo-3 propynyl-2 (agent antimicrobien utilisé dans les procédés industriels et les constructions résidentielles) (Figure 2-1).

II.2.3 Isolant C : Laine de verre

Cet isolant minéral est composé de laine de verre blanche (95%) certifié ACERMI et disposant d'une FDES. Il est fabriqué à partir de verre de récupération et de sable siliceux puis obtenu par fusion de ces matières à environ 1500°C. Ce matériau est utilisé pour l'isolation de toitures, toiture-terrasse, combles perdus ou aménagés, cloisons, contre-cloisons, complexes de doublage et bardage, planchers et dalles flottantes (Figure 2-2).



**Figure 2-1. Isolants bio-sourcés : Gauche : Echantillon de l'isolant A (fibres de bois)
Droite : Echantillon de l'isolant B (fibres de bois + laine de verre)**

Isolant C

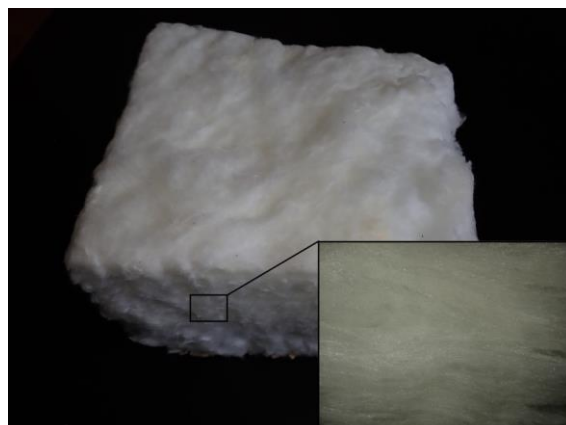


Figure 2-2. Echantillon de l'isolant C (laine de verre)

II.2.4 Caractérisation des matériaux : surface spécifique BET

Une des techniques pour caractériser la structure des matériaux est la méthode BET. Elle est basée sur une adsorption suivie d'une désorption d'azote à 77 K, et permet de mesurer la surface spécifique des matériaux. Dans cette étude, trois analyses ont été réalisées pour chaque matériau à l'aide de l'appareil ASAP 2020 Micromeritics®. Les matériaux étudiés présentent de très faibles surfaces spécifiques au regard d'autres matériaux d'isolation ou des matériaux adsorbants tels que les charbons actifs ou les gels de silice (Tableau 2-2). En ce qui concerne le bois, Chowdhury et al. (2016) et Karinkanta et al. (2012) ont obtenu de surfaces spécifiques entre 1,38 et 1,9 pour du bois scié.

Tableau 2-2. Surface spécifique des isolant étudiés et d'autres matériaux isolants

Matériaux	Surface spécifique (m ² /g)	Référence
Isolant A (fibres de bois)	0,82	-
Isolant B (fibres de bois + laine de verre)	1,45	-
Isolant C (laine de verre)	0,92	-
Bois scié de durian	1,38	(Chowdhury et al. 2016)
Bois scié d'épinette de Norvège	1,8 – 1,9	(Karinkanta et al. 2012)
Laine de verre	3,25 – 4,12	(Marmoret et al. 2011)
Laine de chanvre	88,77	(Collet et al. 2008)
Gels de silice	300 - 800	(INRS 2006)
Fibres de charbon actif de bambou	483 - 2024	(Ma et al. 2014)
Charbon actif dérivé du chanvre	1566 - 2425	(Hossain et al. 2018)

II.3. Evaluation de la résistance des matériaux au développement des moisissures

Afin d'évaluer la résistance des matériaux vis-à-vis de la croissance aux moisissures, la méthode développée par Le Bayon et al. (2015) a été utilisée comme référence, cependant certaines étapes de cette méthode ont été modifiées dans ce travail de thèse. Dans cette partie du chapitre, la méthode Le Bayon et al. (2015) sera présentée ainsi que les modifications réalisées. L'ensemble des essais a été réalisé en triplicata pour chaque matériau.

II.3.1. Préparation des échantillons

La méthode Le Bayon et al. (2015) indique que pour les matériaux conditionnés sous forme des panneaux, 9 éprouvettes de 6,1 cm x 6,1 cm x 0,8 cm doivent être utilisées. Concernant les matériaux en vrac, les éprouvettes doivent être découpées en coupons de 7 cm x 0,8 cm. Par la suite, ces éprouvettes doivent être pré-conditionnées dans une enceinte climatique à $95 \% \pm 5 \%$ d'HR et $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant une semaine.

Dans le cadre de cette étude, 9 éprouvettes découpées en coupons de 4 cm x 1 cm d'épaisseur ont été utilisées (Figure 2-3). Cette taille a été choisie en fonction des outils disponibles au laboratoire pour mener à bien les expériences. Elles ont été ensuite pré-conditionnées comme l'indique la méthode Le Bayon et al. (2015).



Figure 2-3. Exemple : éprouvette de l'isolant A (fibres de bois)

II.3.2 Sélection et culture de la souche fongique

Quatre souches de référence sont utilisées dans la méthode de Le Bayon et al. (2015) : 2 souches d'*Aspergillus niger* (collection MNHN-48-521, et ATCC3275), 1 souche de *Penicillium*

brevicompactum (collection IHEM 4891), et 1 souche de *Cladosporium sphaerospermum* (collection IHEM 3169) pour contaminer les matériaux.

Dans le cadre de cette étude, les matériaux ont été contaminés par une grande variabilité de souches prélevées d'un environnement moisi. Seule une des souches s'est développée sur les échantillons. Celle-ci a été identifiée comme une souche d'*Aspergillus niger* var *ficuum* ou var *phoenicis* après séquençage D2 LSR DN. Dans la suite du document, uniquement « *Aspergillus niger* » sera utilisée pour la nommer. C'est une espèce mésophile et sa température de croissance optimale est de 20°C - 40°C, avec une bonne croissance à 37°C. Elle peut se développer à des pH très faibles (jusqu'à 2) et nécessite une Aw de 0,77 (INSPQ 2019). L'ensemble des essais a été mis en place en utilisant cette souche principalement parce qu'elle est souvent utilisée dans les méthodes d'essais visant à tester la résistance des matériaux au développement fongique (Verdier 2015) mais aussi parce qu'elle est connue pour se développer sur des supports contenant de la cellulose. De plus, c'est une espèce d'intérêt car certaines pathologies respiratoires et allergiques lui sont attribuées (Laborel-Préneron et al. 2018; Andersen et al. 2011).

La souche a été repiquée par la suite sur des milieux de culture gélosé Dichloran Rose Bengale Chloramphénicol (DRBC, Biokan Diagnostics) (Figure 2-4). Ce dernier sélectionne les moisissures en inhibant la croissance bactérienne grâce à la présence du chloramphénicol. Les boîtes de Petri cultivées ont ensuite été placées dans une étuve à 25°C et 90 % HR, le temps nécessaire à la croissance (environ 3 à 5 jours).

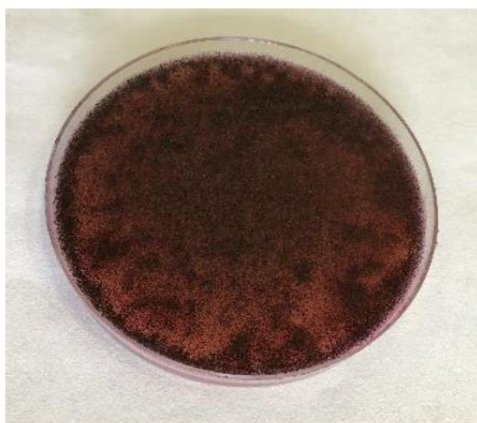


Figure 2-4. Souche d'*Aspergillus niger* sur gélose DRBC

II.3.3. Technique d'inoculation

Dans la méthode de Le Bayon et al. (2015) l'inoculation par vaporisation est proposée. Pour ce faire, deux étapes sont nécessaires :

- A. Préparation de l'inoculum :** pour préparer la suspension de spores qui sera inoculée sur la surface des échantillons, les colonies de chaque souche sont mises en contact avec une solution d'extraction isotonique contenant un agent tensioactif (0,9 % de NaCl et 0,05 % de Tween 80) qui permet de récupérer le maximum de spores. Ensuite, la solution est récupérée, filtrée et centrifugée (trois fois à 2000 g/min pendant 20 minutes) pour retirer tout reste provenant du milieu de culture. Les spores dans chaque suspension sont comptées à l'aide d'une cellule de Malassez afin d'obtenir les mêmes concentrations (non précisées dans la méthode). Les suspensions sont diluées, puis mélangées.
- B. Inoculation :** L'inoculum est appliqué sur les éprouvettes à l'aide d'un vaporisateur et en assurant un dépôt de $1,6 \times 10^5$ spores par cm^2 . La viabilité des spores dans l'inoculum est vérifiée par l'ensemencement de 0,1 ml sur deux boîtes de Petri.

Dans ce travail de thèse, ces deux étapes ont été mises en place sans aucune modification.

II.3.4 Période d'incubation

La méthode de Le Bayon et al. (2015) propose de placer les échantillons contaminés dans deux enceintes climatiques pendant 4 semaines. Une première enceinte à 95 % $\pm$ 5% d'HR et une température de 26°C $\pm$ 2°C et une deuxième à 85 % $\pm$ 5 % d'HR et 26°C $\pm$ 2°C de température.

Dans cette thèse, les échantillons ont été testés uniquement à 85 % $\pm$ 5 % d'HR et 26°C $\pm$ 2°C du fait que ces conditions sont plus représentatives des environnements intérieurs réels.

II.3.5 Evaluation des échantillons

La méthode de Le Bayon et al. (2015) indique que l'évaluation de la croissance fongique sur les échantillons doit se réaliser initialement à partir d'une inspection visuelle et ensuite d'une quantification de cette croissance par mise en culture et comptage des UFC.

Evaluation qualitative : présence/absence

Après la période d'incubation, une première évaluation de la croissance fongique par inspection visuelle est réalisée. A partir de cette inspection, les échantillons sont classés en deux catégories :

Classe 0 : Aucune croissance visible à l'œil nu ou au microscope (x 50) sur la surface des échantillons

Classe 1 : Croissance visible à l'œil nu ou au microscope (x 50) sur la surface des échantillons

Si les échantillons sont classés dans la catégorie 1, il est possible de conclure que le matériau n'est pas résistant à la croissance des moisissures. En revanche, s'ils sont classés dans la catégorie 0, cela n'est pas suffisant pour conclure l'absence de croissance, c'est pourquoi une évaluation quantitative par culture puis comptage des UFC doit être mise en place.

Evaluation quantitative : mise en culture et comptage des UFC

Cette deuxième phase est abordée par le comptage des UFC sur 3 des échantillons au début du test et sur le reste des échantillons (9) à la fin du test. La croissance est quantifiée par la comparaison des UFC obtenus à T_0 et à T_4 (4 semaines après l'inoculation).

Pour dénombrer les UFC sur les boîtes de Petri, trois étapes sont nécessaires :

- A. Les spores sont extraites des échantillons à l'aide d'une solution d'extraction (0,9 % de NaCl et 0,05% de Tween 80). Le transfert des spores de l'échantillon vers la solution est assuré par agitation avec un agitateur (100 tours/min) pendant 1 minute.
- B. Les extraits sont ensuite dilués et étalés sur des boîtes de Petri, puis placés dans une étuve à 25°C et 90 % HR pendant le temps nécessaire à la croissance (3 – 5 jours).
- C. Après ce temps de croissance dans l'étuve, les UFC qui se sont développées sur les boîtes de Petri sont dénombrées. La technique de dénombrement des UFC considère qu'au moins une unité viable va former une colonie. La numération s'exprime en UFC par gramme de matière ou par surface de matériau analysé. Afin que le comptage soit valable, le nombre de colonies doit être compris entre 30 et 300. Le nombre compris dans cette gamme est ensuite retenu à la plus grande dilution et ce résultat est multiplié par la dilution choisie (Verdier 2015 ; Moularat et al. 2013) (Figure 2-5).

Après le dénombrement des UFC, il est possible de conclure si le matériau est « résistant » ou « non résistant » selon deux possibilités :

- Si les UFC à $T_0 >$ les UFC à T_4 : le matériau est « résistant » au développement des moisissures
- Si les UFC à $T_0 <$ les UFC à T_4 : le matériau est « non résistant » au développement des moisissures

Des modifications de ces étapes n'ont pas été réalisées dans ce travail de thèse.

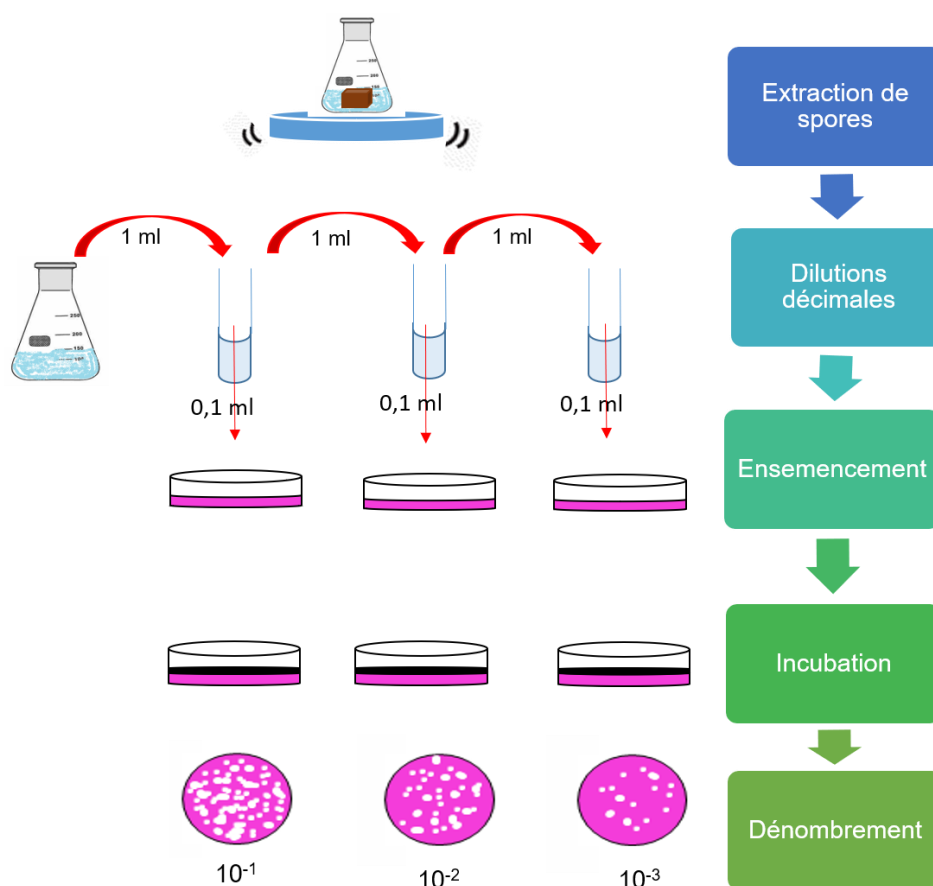


Figure 2-5. Etapes pour le dénombrement des UFC à partir des échantillons contaminés du matériau

II.3.6 Mesure de la teneur en eau des matériaux

La mesure de ce paramètre est importante car elle permet d'obtenir une information sur la capacité du matériau à accumuler de l'eau, condition qui favorise le développement de moisissures.

Dans la méthode de Le Bayon et al. (2015), 3 éprouvettes sont pesées à la fin du test (masse 1= m_1) (balance de 0,001 g de précision). Par la suite, elles sont séchées à 70°C durant 2 jours différence de pesées à nouveau (masse 2, m_2). La teneur en eau est calculée à l'aide l'équation suivante :

$$(2-1) \quad MC (\%) = 100 * \frac{m_1 - m_2}{m_2}$$

Dans le cadre de cette thèse, la méthode par titrage Karl Fischer a été choisie pour mesurer la teneur en eau des matériaux. Cette méthode est considérée comme une de méthodes les plus efficaces grâce à sa précision (détermination précise de valeurs de teneur en eau de 0,001 à 100 %) et elle très facile à mettre en œuvre. Cette technique utilise un réactif composé d'une solution de pyrimidine ($C_4N_2H_4$), de dioxyde de soufre et d'iode dans du méthanol, qui rentre en réaction chimique avec l'eau absorbée au sein du matériau (Labbé 2002). Le volume de réactif qui a réagi avec l'eau présente au sein du matériau permet de calculer sa teneur en eau. De plus, cette méthode évite la perte de fibres lors des déplacements des éprouvettes pour le pesage et le séchage. Pour ces analyses, le titreur Karl Fischer 870 KF Titrino Plus Metrohm® a été utilisé. Une mesure de la teneur en eau a été réalisée pour 3 échantillons de chaque matériau après qu'ils aient été testés pour le développement de moisissures.

II.4. Caractérisation des COV émis par les matériaux

II.4.1 Chambre d'émission et préparation des échantillons

L'évaluation des émissions en COV par les matériaux a été réalisée selon la norme: Air intérieur – Partie 9 : Dosage de l'émission de composés organiques volatils des produits de construction et d'objets d'équipement – Méthode de la chambre d'essai d'émission définie dans l'arrêté du 19 avril 2011.

Une chambre d'essai CLIMPAQ de 50,9 L a été employée. Des panneaux des trois matériaux ont été découpés en échantillons de surface appropriée pour l'exposition dans la chambre CLIMPAQ (Tableau 2-3).

Tableau 2-3. Dimensions moyennes des échantillons et surfaces émissives

Matériau	Dimensions moyennes (cm)	Surface émissive (m ²)
Fibres de bois	19 x 29,5 x 10	0 ,15
Fibres de bois-laine de verre	19,5 x 29,5 x 10	0,16
Laine de verre	15 x 30 x 15	0,18

II.4.2. Choix des temps de prélèvement

Pour chaque essai, les prélèvements des COV ont été réalisés en deux temps. Un premier prélèvement a été réalisé après 28 ± 2 jours dans les conditions de température ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) et humidité ($50 \pm 5\%$) normalisées (Chapitre 1, Section 5.1.1). Cette mesure à représente la caractérisation des émissions du matériau de construction ou de décoration représentatif des conditions habituelles d'exposition en environnement intérieur et donc d'un profil d'émission à plus ou moins long terme.

Dans un deuxième temps, après la période de 28 jours, l'HR a été augmentée de 50 % à 85 % et cinq prélèvements ont été réalisés à 31, 35, 42, 48 et 56 jours ; soit J+3, +7, +14, +20 et +28 par rapport à l'élévation de l'humidité relative. Cette variation d'HR a été réalisée afin de se positionner dans la même condition définie dans la méthode d'essai concernant l'évaluation de la potentialité des matériaux à développer des microorganismes de Le Bayon et al. (2015).

Pour les deux conditions d'humidité (50 % et 85%), un prélèvement de la chambre a été réalisé.

Le **Tableau 2-4** résume les temps de prélèvements durant l'essai :

Tableau 2-4. Jours de prélèvements et HR dans la chambre CLIMPAQ

Prélèvement	1 ^{ère} partie	2 ^{ème} partie			
	1	2	3	4	5
Jour	28	31	35	42	56
Dénomination	J _{RH50%} +28	J _{RH85%} +3	J _{RH85%} +7	J _{RH85%} +14	J _{RH85%} +28
HR	50 % HR normalisée - ISO 16000-9	85 % HR favorable au développement de moisissures			

II.4.3. Mesure des concentrations en chambre d'émission CLIMPAQ

II.4.3.1. Prélèvement et analyse de COV

II.4.3.1.1 COV hors carbonylés

Les COV non carbonylés ont été piégés à la sortie de la chambre par prélèvement actif avec pompage de l'air dans des tubes à adsorption en acier inoxydable contenant du TENAX TA® (0,25 g par tube), équipés de bouchons à vis en métal et férules en polytétrafluoroéthylène (NF ISO 16000-6 2006).



Figure 2-6. Tube Tenax TA

Les tubes Tenax ont été analysés à l'aide d'un thermodesorbeur (TD), associé à un chromatographe en phase gazeuse (GC), couplé à un détecteur à ionisation de flamme (Flame Ionization Detector, FID) pour la quantification de COV, associé à un spectromètre de masse (MS) pour leur identification (ISO 16000-6) (Figure 2-7). Les chromatogrammes et spectres obtenus ont été comparés à une bibliothèque spectrale (NIST 14).

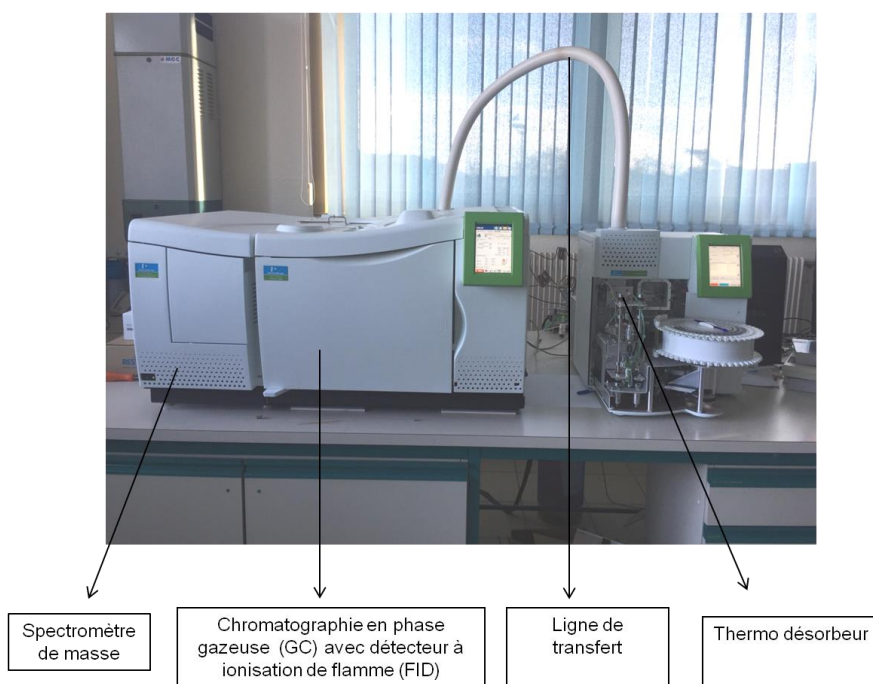


Figure 2-7. Chaîne analytique (TD-GC/FID-MS)

Les caractéristiques de la chaîne analytique sont précisées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2-5. Caractéristiques de la chaîne analytique TD-GC-MS

Appareil	Paramètre	Condition analytique
Thermodésorbeur Perkin Elmer Turbo Matrix 650	Température vanne	210°C
	Température tube	220°C
	Durée désorption tube	15 min
	Débit désorption	50mL/min
	Température cryogénie	10°C
	Température chauffage piège	350°C
	Rampe de chauffage piège	40°C/s
GC Perkin Elmer Clarus 680	Programmation de température GC	35°C pendant 5min 2°C/min jusqu'à 250°C 250°C pendant 8min
	Colonne capillaire	Colonne capillaire apolaire 60m x 0,25mm x 1µm
FID		H ₂ : 45mL/min Air : 450mL/min Atténuation : -6
MS Perkin Elmer Clarus SQ8T	Scan	25-250 uma

II.4.3.1.2 COV carbonylés

Les COV carbonylés ont été prélevés sur des cartouches contenant le réactif 2,4 Dinitrophénylhydrazine (DNPH) (NF ISO 16000-3 2006)(Figure 2-7). Celles-ci ont été analysées par la méthode de chromatographie liquide à haute pression (HPLC), associée à un détecteur ultra-violet (UV). Pour ce faire, les cartouches ont été tout d'abord éluées avec 3 ml d'acétonitrile à l'aide d'une seringue. Le volume d'acétonitrile utilisé est déterminé par pesée. 1mL de l'éluat obtenu est filtré avec un filtre de seringue de polytétra- fluoréthylène (PTFE) d'un diamètre de 2 µm et placé dans un flacon du passeur automatique de la chaîne analytique (Figure 2-9). Les caractéristiques de la chaîne analytique UV-HPLC sont présentées dans le **Tableau 2-6**.



Figure 2-8. Cartouche DNPH destinée au prélèvement des COV carbonylés

Figure 2-9. Elution des cartouches DNPH et chaîne analytique UV-HPLC (Modifiée de Detournay, 2012)

Tableau 2-6. Caractéristiques de la chaîne analytique UV-HPLC

Paramètre	Condition analytique
Détecteur	UV-VIS (360 nm)
Colonne	Acclaim RSLC Carbonyl, 2,2µm, 2,1 x 150mm
Débit d'élution	0,4 mL/min
Température colonne	28°C

II.4.3.2. Calcul de la limite de détection (LD)

La limite de détection a été calculée par une approche graphique à partir du chromatogramme obtenu d'une solution contenant 6 composés : le toluène, l'ethylbenzene, les xylènes (méta-para-ortho) et le styrène.

A l'aide du chromatogramme, la LD est estimée selon l'équation 2-2.

$$(2-2) \quad LD = ((3 * BF) * [C]) / H$$

- BF= Bruit de fond (mm)
- [C]= Concentration (ng)
- H= Hauteur du pic (mm)

Dans le **Tableau 2-7** les différents résultats obtenus pour les 6 composés évalués sont présentés. La valeur de LD retenue est de 0,1 ng/tube.

Tableau 2-7. Limites de détection (LD) obtenues pour les composés évalués

Temps de rétention	Composé	Concentration (ng)	Hauteur du pic (mm)	Hauteur du bruit de fond	Limite de détection (ng)	Valeur retenue (ng)
24,45	Toluène	2,14	160	2	0,080	0,1
32,93	Ethylbenzène	2,15	141	2	0,091	0,1
33,68	Méta xylène	2,06	164	2	0,075	0,1
33,78	Para xylène	2,2	156	2	0,084	0,1
35,27	Styrène	2,23	164	3	0,061	0,1
35,73	Ortho xylène	1,99	131	2	0,091	0,1

II.4.3.3. Etalonnage des COV

II. 4.3.3.1 COV de l'étiquetage

Un étalonnage spécifique composé par composé a été réalisé pour les composés de l'étiquetage : formaldéhyde, acétaldéhyde, toluène, tetrachloroéthylène, xylènes (méta-para-ortho), 1,2,4-triméthylbenzène, 1,4-dichlorobenzène, l'éthylbenzène, le 2-butoxyéthanol et styrène.

II.4.3.3.2 COV hors étiquetage

En ce qui concerne les COV carbonylés hors étiquetage, l'étalonnage a été effectué à partir d'une solution étalon de 15 composés : propanone, propenal, propanal, methylvinylcetone, butenal, éthylméthylcetone, methylpropenal, butanal, benzaldéhyde, glyoxal, isopentanal, toluadéhyde, methylglyoxal, 2,5 diméthylbenzaldéhyde et hexanal. En revanche, un étalonnage en équivalent toluène a été réalisé pour le reste de COV non carbonylés hors étiquetage parce que l'émission de dizaines voire de centaines de composés était attendue.

II.4.3.4. Résultat des essais - calcul des concentrations dans la chambre d'essai et des taux d'émission

Les concentrations des COV dans l'air de sortie de la chambre d'émission (C), exprimées en $\mu\text{g}/\text{m}^3$, sont calculées en divisant les quantités piégées dans les tubes par le volume prélevé :

$$(2-3) \quad C = \frac{\text{masse prélevée du composant } (\mu\text{g})}{\text{Volume d'air prélevé } (\text{m}^3)}$$

Une fois que les concentrations dans la chambre ont été obtenues, il est possible de calculer les taux d'émissions en $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$. Pour ce faire, il est nécessaire de considérer la surface émissive de l'échantillon (S), le débit d'air (d) et la concentration en sortie de chambre (C) (équation 2-4).

$$(2-4) \quad T = \frac{(C * d)}{S}$$

Pour estimer l'exposition associée aux émissions issues des matériaux, un scénario d'exposition dans une pièce témoin a été défini dans l'arrêté du 19 avril 2011. Les concentrations d'exposition sont obtenues à partir de l'équation 2-5.

$$(2-5) \quad T = \frac{C_{\text{exp}} * a * V}{S}$$

Avec T le taux d'émission du matériau, C_{exp} la concentration dans la pièce de référence ($\mu\text{g}/\text{m}^3$), a le taux du renouvellement de l'air de la pièce ($0,5 \text{ h}^{-1}$), V le volume de la pièce (30 m^3) et S la surface du matériau en m^2 qui dépend de la partie de la pièce concernée (Tableau 2-8).

Tableau 2-8. Surface du matériau selon la partie de la pièce

Partie de la pièce	Surface (m^2)
Sol	12
Plafond	12
1 porte	1,6
1 fenêtre	2
Murs (moins fenêtre et porte)	31,4
Joints et autres surfaces réduites	0,2

II.4.4 Suivi de la cinétique des émissions

Les concentrations de 3 COV (acide acétique, cymène, et furfural) ont été mesurées de façon continue à l'aide d'un analyseur automatique Airmo VOC C6-C12 Chromatotec® pour un des essais des isolants A et B. Ces mesures permettent de déterminer les cinétiques des émissions dans le but de comprendre les différents comportements des espèces.

II.5. Caractérisation des COV d'origine fongique

Au travers l'étude de la revue bibliographique, la plupart de temps, les COV microbiens ont été mis en évidence sur des prélèvements sur de supports à large spectre notamment de type Tenax. Par conséquent, les techniques de mesure qui ont été déployées pour caractériser les COV d'origine fongique sont celles qui ont été décrites précédemment pour la mesure de COV aux émissions des matériaux (cf. II.4.3).

Dans un premier temps, un étalon des 14 composés (Tableau 2-9) suggérés dans la littérature comme des COV d'origine fongique a été injecté dans la GC/MS afin d'identifier leur temps de rétention et leur ions spécifiques. Avec ces informations, ces 14 COVm ont été recherchés sur les chromatogrammes des matériaux natifs et sur lesquels le développement fongique s'est avéré. Ces composés correspondent à des COVm très fréquemment identifiés dans les bâtiments (logements et lieux de travail) humides ou présentant une contamination microbienne. Le critère pour l'établissement de cette liste étant la quantification indépendante d'une espèce dans au minimum trois expérimentations de terrain indépendantes. De plus, ces composés sont associés au développement d'*Aspergillus niger*. Matysik et al. (2008) ont caractérisé les COV émis par une souche d'*Aspergillus niger* sur milieu de culture. 9 composés ont été identifiés : 2-méthylfurane, 3-méthylfurane, 2-méthyl-1-propanol, 3-méthyl-1-butanol, 2-méthyl-1-butanol, 1-octen-3-ol, 2-pentanone, cyclohexanone et ethyl acetate. Des hydrocarbures et des composés terpeniques ont été également identifiés dans d'autres études concernant la caractérisation des émissions de cette espèce. Fiedler, (2001) ont observé qu'*Aspergillus niger* émet principalement des composés C₈ tels que le 1-octen-3-ol, le 3-octanone et le 3-octanol.

Cependant, il est important à noter que certains de ces composés peuvent être aussi associés aux émissions des matériaux en absence de moisissures ainsi qu'à d'autres sources liées aux activités des occupants. Par exemple, dans l'étude de Schleibinger et al. (2008), des corrélations ont été établies entre les concentrations et la présence de certains COVm et l'état du logement (40 logements présentant une contamination fongique et 44 logements sans contamination fongique apparente). L'émission du 2-méthylfurane et du 3-méthylfurane a été

corrélée plus fortement à la présence de fumeurs dans les logements qu'à la présence d'une contamination fongique. Le 3-méthylfurane peut être aussi présent dans l'air ambiant comme conséquence de l'oxydation de l'isoprène et donc ne pas être associé uniquement au développement fongique (Korpi et al. 2009). De même, certains composés entre C₂ et C₄ sont émis par de nombreux organismes comme produit des processus fondamentaux tels que le cycle de Krebs et la glycolyse (Wilkins 2002).

De plus, l'émission de COVm dépend de nombreux facteurs tels que le type de substrat, le stade de développement de la moisissure, les conditions environnementales et l'espèce (deux souches d'une même espèce peuvent émettre des COV différents (Korpi et al. 2009)). Ainsi, lorsque des composés prédéterminés sont recherchés, il peut s'avérer que certains d'entre eux ne soient pas émis par le couple matériau-moisissure étudié.

Tableau 2-9. Temps de rétention et ions spécifiques des 14 COVm suggérés dans la littérature à partir de leur identification lors de campagnes de terrain

Composé	Nom	Formule chimique	Temps de rétention (min)
1	3-méthylfurane	C ₅ H ₆ O	12,87
2	1-butanol	C ₄ H ₁₀ O	16,43
3	3-méthyl-2-butanol	C ₅ H ₁₂ O	18,01
4	2-pentanol	C ₅ H ₁₂ O	19,30
5	3-méthyl-1-butanol	C ₅ H ₁₂ O	22,13
6	2-hexanone	C ₆ H ₁₂ O	26,80
7	2-heptanone	C ₇ H ₁₄ O	35,90
8	1-octène-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	44,02
9	3-octanone	C ₈ H ₁₆ O	44,46
10	3-octanol	C ₈ H ₁₆ O	45,43
11	2-octène-1-ol	C ₈ H ₁₆ O	51,38
12	2-nonanone	C ₉ H ₁₈ O	53,20
13	Bornéol	C ₁₀ H ₁₈ O	60,59
14	Géosmine	C ₁₂ H ₂₂ O	78,45

Dans un deuxième temps, une analyse comparative fine entre les chromatogrammes obtenus sur l'échantillon avant l'inoculation et à différents temps après l'inoculation a été réalisée. La superposition des chromatogrammes permet l'identification de nouveaux composés qui peuvent être liés au métabolisme des moisissures. L'approche d'analyse comparative de chromatogrammes a été mise en place dans l'étude de Joblin (2012) portant sur l'élaboration d'un microsystème d'analyse de l'air destiné à la détection rapide d'un développement fongique dans les espaces clos. Les chromatogrammes obtenus à partir des échantillons stériles de lin, de colle de peau de lapin, d'argile et de hêtre ont été comparés avec ceux obtenus après l'inoculation des spores de neuf souches sauvages. La **Figure 2-10**

présente l'exemple de la superposition du chromatogramme issu du lin avec celui du même matériau contaminé.

A cette échelle, trois comportements des émissions peuvent être identifiés :

Pic 1 : La concentration du COV, déjà caractérisé sur le matériau, augmente.

Pic 2 : La concentration du COV, déjà caractérisé sur le matériau, diminue.

Pic 3 : Un nouveau COV apparaît.

Figure 2-10. Superposition de deux chromatogrammes du lin hors contamination et contaminé par *Aspergillus* sp. (Joblin, 2012)

Cette démarche analytique a été également employée dans d'autres études portant sur l'identification de COV_m à partir des matériaux contaminés comme celle de Moularat et al. (2008), Räsänen et al. (2010) et Claeson et al. (2002). Ces auteurs ont proposé des hypothèses afin d'expliquer les trois comportements décrits précédemment :

Pic 1 : Lorsque la concentration augmente, il s'agit d'un constituant du support dont la libération est favorisée par la biodégradation ou bien des émissions d'un même composé émis simultanément par le matériau et par la moisissure.

Pic 2 : Lorsque la concentration diminue, il s'agit d'un composé probablement consommé par la moisissure ou qui se transforme suite à une réaction avec un COV produit par la moisissure.

Pic 3 : Quand un nouveau composé est caractérisé, Il s'agit d'un composé lié au métabolisme de la moisissure.

Seuls les nouveaux composés (pic 3) peuvent être considérés comme COV associés à la croissance de la moisissure et donc comme traceurs du développement fongique (Moularat et al. 2008) ; Joblin.2012 ; Räsänen et al. 2010).

Cette approche d'analyse a été mise en place dans cette étude pour identifier les COV pouvant provenir de la croissance de la souche d'*Aspergillus niger* utilisée pour contaminer les trois matériaux.

II. 6. Conclusion

Ce chapitre a permis, tout d'abord, de présenter la composition et les caractéristiques des matériaux de l'étude. Ces informations s'avèrent très importantes lorsqu'il s'agit de comprendre comment ces matériaux interagissent avec les moisissures et pour évaluer leur impact sur la qualité de l'air intérieur vis-à-vis des émissions de COV. Ensuite, les différentes méthodologies établies pour atteindre les objectifs de l'étude ont été décrites. La résistance des matériaux au développement de moisissures a été évaluée à partir de la méthode d'essai développée par Le Bayon et al. (2015). Certaines modifications de cette méthode ont été réalisées et présentées dans ce chapitre.

Les méthodes de mesure, de prélèvement et d'analyse des émissions en COV des matériaux, déployées dans cette étude sont celles décrites dans les normes ISO 16000-9, ISO 16000-6 et 16000-3. Des prélèvements à différents temps de l'essai et sous deux conditions d'HR (50% et 85%) ont été réalisés. De même, le suivi en continue des émissions a été effectuée à l'aide d'un analyseur automatique. Ces résultats permettent, d'un côté, d'identifier les COV majoritairement émis par les isolants, et d'un autre côté, d'étudier les cinétiques des émissions.

En ce qui concerne l'émission de COV provenant du métabolisme des moisissures, des COV cibles ont été recherchés sur les chromatogrammes des matériaux contaminés et par la suite une démarche analytique comparaison de chromatogrammes obtenus avant et après contamination a été mise en place.

II. 7. Références

- Andersen, Birgitte, Jens C. Frisvad, Ib Søndergaard, Ib S. Rasmussen, and Lisbeth S. Larsen
2011 Associations between Fungal Species and Water-Damaged Building Materials. *Applied and Environmental Microbiology* 77(12): 4180–4188.
- AQC, MEEM, and MLHD
2016 Rapport: Isolants Bio-Sourcés: Points de Vigilance.
<http://www.qualiteconstruction.com/sites/default/files/2017-07/E-Isolants-Biosources-Vigilance.pdf>.
- Chowdhury, Zaira Zaman, Md. Ziaul Karim, Muhammad Aqeel Ashraf, and Khalisanni Khalid
2016 Influence of Carbonization Temperature on Physicochemical Properties of Biochar Derived from Slow Pyrolysis of Durian Wood (*Durio Zibethinus*) Sawdust. *BioResources* 11(2): 3356–3372.
- Collet, Florence, Marjorie Bart, Laurent Serres, and Jacques Miriel
2008 Porous Structure and Water Vapour Sorption of Hemp-Based Materials. *Construction and Building Materials* 22(6): 1271–1280.
- Fiedler, Klaus, Edgar Schütz, and Stefan Geh
2001 Detection of Microbial Volatile Organic Compounds (MVOCs) Produced by Moulds on Various Materials. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 204(2–3): 111–121.
- Hossain, Md, Wei Wu, William Xu, et al.
2018 High-Surface-Area Mesoporous Activated Carbon from Hemp Bast Fiber Using Hydrothermal Processing. *C* 4(3): 38.
- INRS, ED4263
2006 Traitement Des Gaz Dangereux Captés Sur Les Lieux de Travail. Adsorption.
- INSPQ
2019 Rapport Compendium Sur Les Moisissures: *Aspergillus Niger*. Centre d'expertise et de Référence En Santé Publique. Institut National de Santé Publique Du Québec.
<https://www.inspq.qc.ca/moisissures/fiches/aspergillus-niger>.
- Joblin, Yaël
2012 Thèse-Elaboration d'un Microsystème d'analyse de l'air Destiné à La Détection Rapide d'un Développement Fongique Dans Les Espaces Clos. Université Paris-Est. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00696618/document>.
- Karinkanta, Pasi, Mirja Illikainen, and Jouko Niinimäki
2012 Pulverisation of Dried and Screened Norway Spruce (*Picea Abies*) Sawdust in an Air Classifier Mill. *Biomass and Bioenergy* 44: 96–106.
- Korpi, Anne, Jill Järnberg, and Anna-Liisa Pasanen
2009 Microbial Volatile Organic Compounds. *Critical Reviews in Toxicology* 39(2): 139–193.
- Labbé, Nicole
2002 Mise Au Point d'une Nouvelle Méthode de Dosage de l'eau Dans Le Bois et Caractérisation Des Composés Organiques Du Pin Maritime Par Résonance Magnétique Nucléaire Domaine Temps. Université Bordeaux I. http://grenet.drimm.u-bordeaux1.fr/pdf/2002/LABBE_NICOLE_2002.pdf.
- Laborel-Préneron, Aurélie, Kouka Ouédraogo, Alexis Simons, et al.
2018 Laboratory Test to Assess Sensitivity of Bio-Based Earth Materials to Fungal Growth. *Building and Environment* 142: 11–21.
- Ma, Xiaojun, Hongmei Yang, Lili Yu, Yin Chen, and Ying Li

2014 Preparation, Surface and Pore Structure of High Surface Area Activated Carbon Fibers from Bamboo by Steam Activation. *Materials* 7(6): 4431–4441.

Marmoret, Laurent, Florence Collet, and Hassen Beji

2011 Moisture Adsorption in Glass Wool Products. *High Temperatures - High Pressures* 40.

Matysik, Silke, Olf Herbarth, and Andrea Mueller

2008 Determination of Volatile Metabolites Originating from Mould Growth on Wall Paper and Synthetic Media. *Journal of Microbiological Methods* 75(2): 182–187.

NF ISO 16000-6

2006 Partie 6: Dosage Des Composés Organiques Volatils Dans l'air Intérieur Des Locaux et Enceintes d'essai Par Échantillonnage Actif Sur Le Sorbant Tenax TA, Désorption Thermique et Chromatigraphie En Phase Gazeuse Utilisant MS/FID.

NF SO 16000-3

2006 Air Intérieur. Partie 3: Dosage Du Formaldéhyde et d'autres Composés Carbonylés - Méthode Par Échantillonnage Actif.

Schleibinger, H., D. Laussmann, C.-G. Bornehag, D. Eis, and H. Rueden

2008 Microbial Volatile Organic Compounds in the Air of Moldy and Mold-Free Indoor Environments. *Indoor Air* 18(2): 113–124.

Verdier, Thomas

2015 Elaboration de Revêtements Pour Matériaux de Construction Visant à Lutter Contre La Prolifération Microbienne à l'intérieur Des Bâtiments: Efficacité et Mode d'action. PhD Thesis, Université Paul Sabatier-Toulouse III.

Wilkins, K.

2002 Microbial VOC (MVOC) in Buildings, Their Properties and Potential Use. *In* 9th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Monterey, California Pp. 431–436.

Chapitre 3. Potentialité des matériaux biosourcés au développement de moisissures

III.1. Introduction

Dans une démarche de transition énergétique et environnementale vers une construction durable, l'utilisation de matériaux bio-sourcés se présente comme une alternative intéressante. Cependant, l'absence d'évaluation de la résistance de ces matériaux face au risque fongique en conditions similaires à celles rencontrées dans les bâtiments constitue un véritable frein à leur prescription dans la construction (Cerema 2016). Ces matériaux sont plus sensibles au développement de microorganismes pour trois raisons principales :

- La matière première de type végétale ou animale peut répondre aux besoins nutritifs des microorganismes,
- La forte perméabilité à la vapeur d'eau pourrait entraîner des condensations au sein des matériaux en cas d'une ventilation correcte,
- L'apport initial potentiel de microorganismes notamment sur les fibres végétales.

Ainsi, le développement de produits bio-sourcés soulève de nombreuses questions des utilisateurs vis-à-vis de leur durabilité et de leurs performances sanitaires. (CSTB 2018). C'est pourquoi ces matériaux doivent faire la preuve de leur résistance au développement de moisissures.

Dans le cadre de cette étude, la résistance des isolants au développement d'*Aspergillus niger* a été, tout d'abord, évaluée par la méthode d'essai proposée par Le Bayon et al. (2015), décrite dans le **Chapitre 2** (partie 3). Trois essais ont été réalisés pour chaque matériau. Les résultats ont été comparés avec l'information présentée sur leurs fiches techniques.

Ensuite, une nouvelle méthode développée durant ce travail de thèse sera justifiée et exposée ainsi que les résultats de l'évaluation des isolants de l'étude vis-à-vis de la croissance d'*Aspergillus niger* par cette « nouvelle » méthode.

III.2. Evaluation de la résistance des isolants de l'étude à la croissance d'*Aspergillus niger* par la mise en œuvre de la méthode d'essai de Le Bayon et al. (2015)

Afin de comprendre les mécanismes régissant le développement de microorganismes sur les matériaux de construction, l'évaluation par des méthodes d'essai en laboratoire s'avère nécessaire (Verdier 2015). Comme décrit dans le **Chapitre 1** (partie 4.2.3), ces méthodes consistent à contaminer artificiellement le matériau, à l'exposer à des conditions environnementales optimales de croissance fongique, et enfin, à évaluer la croissance par inspection visuelle (NF EN 15101-1, 2014). Certaines méthodes proposent une étape

supplémentaire d'analyse quantitative pour compléter les résultats et vérifier la conclusion du test.

Les isolants de l'étude ont été évalués par la méthode proposée par Le Bayon *et al.* en 2015. Le **Tableau 3-1** présente les résultats obtenus lors de l'inspection visuelle des éprouvettes et l'analyse quantitative de la croissance fongique par dénombrement des UFC/cm² après quatre semaines d'incubation à $26 \pm 2^\circ\text{C}$ et $85 \pm 5\%$ d'HR ainsi que les valeurs moyennes de teneur en eau à la fin des essais.

Tableau 3- 2. Evaluation de la croissance fongique des isolants de l'étude par la méthode Le Bayon et al (2015) et valeurs moyennes de teneur à T₄

Matériau	Essai	Evaluation visuelle	UFC à T ₀ (n=3 par essai)	UFC à T ₄ (n=6 par essai)	Teneur en eau à T ₄
			(log ₁₀ UFC/cm ²)		(%)
Isolant A (fibres de bois)	1	0	4,5 ± 0,2	4,1 ± 0,1	19,4 ± 0,9
	2	0	4,5 ± 0,1	4,5 ± 0,1	16,6 ± 0,3
	3	0	6,7 ± 0,3	7,8 ± 0,1	15,3 ± 1,0
Isolant B (fibres de bois + laine de verre)	1	1	5,6 ± 0,1	6,5 ± 0,1	10,4 ± 0,3
	2	0	5,1 ± 0,1	5,3 ± 0,2	10,5 ± 0,4
	3	1	5,6 ± 0,1	6,2 ± 0,1	10,8 ± 0,5
Isolant C (laine de verre)	1	0	5,4 ± 0,1	3,8 ± 0,4	2,3 ± 0,1
	2	0	4,4 ± 0,1	2,0 ± 0,5	2,2 ± 0,4
	3	0	4,3 ± 0,1	2,3 ± 0,3	1,8 ± 0,2

Quatre cas de figure ont été mis en évidence à partir des résultats obtenus lors de l'évaluation visuelle et quantitative de la croissance fongique :

1. **Présence de colonies visibles** (cotation 1) et nombre des UFC/cm² à T₀ et à T₄ **significativement supérieur** (test de Student, risque α : 5%) : essais 1 et 3 de l'isolant B (fibres de bois + laine de verre)

Dans ces deux essais de l'isolant B, la croissance de colonies d'*Aspergillus niger* sur la surface des éprouvettes de l'isolant B s'est avérée visible à l'œil nu (cotation 1) après quatre semaine d'exposition à $26 \pm 2^\circ\text{C}$ et $95 \pm 5\%$ d'HR (Figure 3-1). Selon ces résultats, il ne serait pas résistant à la croissance fongique, et par conséquent l'analyse quantitative ne serait pas nécessaire. Ce matériau peut immédiatement être classé comme « **non résistant** » vis-à-vis des moisissures.

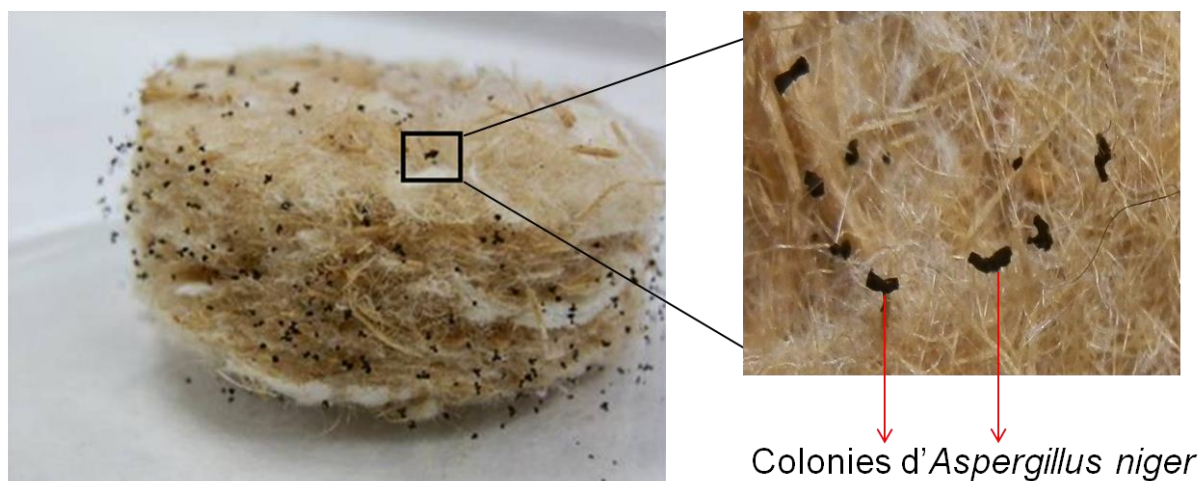


Figure 3-1. Colonies d'*Aspergillus niger* sur la surface d'une éprouvette de l'isolant B

Dans la méthode réalisée par l'EPA en 2015, la croissance fongique est définie par une augmentation d'au moins $1 \log_{10}$ des UFC/cm² à T₄ par rapport à T₀. Cependant, dans cette étude, une différence de $0,6 \log_{10}$ a permis l'observation des colonies à l'œil nu sur le matériau. Ce résultat est particulièrement surprenant parce que la résistance au développement de moisissures de ce matériau a été évaluée par la norme NF 15101-1 (Annexe F) et sur sa fiche technique il est précisé qu'aucune croissance visible n'avait pas été détectée (cf. Chapitre 2, partie 2.2). De plus, cet isolant a reçu un traitement anticryptogamique à base de 2-octyl-2H-isothiazole-3-one, molécule à propriétés antifongiques. Probablement comme c'est un matériau très fibreux, des morceaux de fibre peuvent rester libres et c'est dans ces endroits que les moisissures trouvent des conditions propices à leur croissance. Sur la **Figure 3-1**, il est possible d'observer qu'effectivement les colonies se développaient plutôt sur les fibres « isolées » à la surface des échantillons.

2. **Absence de colonies visibles** (cotation 0) et nombre des UFC/cm² à T₀ et à T₄ **significativement plus faible** : essais 1, 2 et 3 de la laine de verre

Sur les éprouvettes des trois essais de la laine de verre, aucune croissance n'a été visible après quatre semaines d'incubation. Ce matériau serait « **résistant** » à la croissance fongique. L'analyse quantitative a permis de confirmer l'absence de croissance parce que les valeurs des UFC/cm² à T₀ et à T₄ sont significativement différentes (plus de $1 \log_{10}$) (test de Student, risque α : 5%) et de fortes diminutions ont été mesurées (de $1,6$ à $2 \log_{10}$).

La colonisation des substrats par les moisissures se déroule en différentes étapes successives : adhésion, germination, croissance végétative et sporulation. Ce développement sur les matériaux dépend notamment de la nature du produit colonisé. Une fois que les spores rencontrent la surface des matériaux, elles doivent adhérer pour que le développement se

déclenche. L'adhésion est conditionnée par les propriétés physico-chimiques du matériau et notamment par sa rugosité et sa porosité (Paic Lacaze 2016). Selon ce critère, les spores pourraient se fixer sur les fibres de la laine de verre. Or, après adhésion, la spore a besoin de différents éléments nutritifs et d'une quantité d'eau bio disponible suffisante pour se développer (cf. Chapitre 1, partie 4.2.1). Dans ce cas, il est probable que la laine de verre ne peut pas apporter ces éléments en raison de sa composition minérale et donc la germination ne peut pas démarrer et le processus de colonisation s'arrête. Cependant, les moisissures pourraient se développer sur les poussières qui s'accumulent à la surface des panneaux ou sur le papier kraft utilisé pour les recouvrir (Cerema 2016). C'est pourquoi il est important d'être très attentif lorsque ce matériau est stocké et durant la mise en œuvre.

3. Absence de colonies visibles (cotation 0) et nombre des UFC/cm² à T₀ et T₄
significativement supérieur : essai 3 de l'isolant A

Pour le troisième essai de l'isolant A, l'examen visuel a abouti à une absence de croissance mais l'analyse quantitative a montré que le nombre des UFC/cm² à T₄ était 1,1 log₁₀ plus élevé qu'à T₀. Dans ce cas, le résultat veut dire que le matériau favoriserait le développement des colonies (non visibles à l'œil nu ou au microscope) et il devrait être classé comme « **non résistant** » vis-à-vis de moisissures.

Le fait que les colonies ne soient pas visibles pourrait être lié à leur **stade de croissance** au moment de l'extraction à T₄. En effet, les colonies de moisissures acquièrent des pigmentations différentes selon leur stade de développement. Ces pigments sont importants pour protéger les cellules des espèces réactives de l'oxygène et des radiations UV (Deacon 2016). Les colonies d'*Aspergillus niger* sont blanches au début puis jaunes et, à maturité, elles deviennent noires (Tabuc 2007). Sur milieu DRBC, les colonies blanches et noires sont facilement observables à l'œil nu (Figure 3- 2) car elles contrastent fortement avec la couleur du milieu, mais sur un matériau multi couleurs, l'observation devient sûrement plus compliquée. De plus, les pigmentations des moisissures varient aussi en fonction de l'espèce, ce qui voudrait dire que selon la couleur du support les colonies de certaines espèces seraient plus visibles que d'autres.



Figure 3-2. Colonies d'*Aspergillus niger* sur milieu DRBC à 2, 3 et 6 jours de croissance

Ainsi, en raison des pigmentations différentes des moisissures, qui dépendent du stade de croissance et des espèces, et compte tenu que les matériaux bio-sourcés peuvent être un mélange de plusieurs produits et peuvent présenter des matrices très hétérogènes, se baser uniquement sur un examen visuel pour évaluer la résistance des matériaux au développement fongique pourrait conduire à des conclusions erronées.

4. **Absence de colonies visibles** (cotation 0) et nombre des UFC/cm² T₀ et à T₄ **non significativement différent** (test de Student, risque α : 5%) : essais 1 et 2 de l'isolant A (fibres de bois) et essai 2 de l'isolant B (fibres des bois + laine de verre)

Dans ces différents essais, aucune colonie visible n'a pas été identifiée sur les échantillons évalués à T₄ et les résultats de l'évaluation quantitative ont montré que le nombre des UFC/cm² est pratiquement le même lors de l'extraction réalisée suite à l'inoculation (T₀) et à la fin du test (T₄). Probablement dans ces cas, une mortalité de spores a eu lieu mais celle-ci a été compensée par la croissance de certaines spores. Cette croissance a permis à la population de se maintenir à un certain niveau constant durant les quatre semaines d'incubation mais sans atteindre le niveau du développement où les colonies deviennent visibles. Ce résultat est particulier puisqu'il est difficile de conclure à une décroissance fongique (perte d'au moins 1,6 Log₁₀ comme pour la laine de verre) ou de croissance fongique (augmentation d'au moins 0,6 log₁₀ comme pour l'isolant B).

Ce résultat n'a pas été retrouvé dans l'étude réalisée par Le Bayon et al. (2015), dans laquelle la quantification de la croissance fongique par dénombrement des UFC/cm² a toujours montrée des valeurs significativement supérieures ou inférieures (test de Student, risque α :

5%) entre les résultats obtenus à T_0 et à T_4 pour tous échantillons de cotation 0, tous les matériaux y compris.

Variabilités des résultats vis-à-vis du matériau

En ce qui concerne l'examen visuel, une bonne reproductibilité a été obtenue pour les essais des isolants A et C (cotation 0, absence de colonies visibles). Quant à l'isolant B, deux essais ont été reproductibles (cotation 1, présence de colonies visibles) et lors d'un essai aucune colonie visible n'a pas été observée (cotation 0). Ces différences sont représentatives des limites de l'évaluation par inspection visuelle de la croissance fongique, sujet qui a déjà été largement discuté dans la littérature. C'est pourquoi les méthodes d'essais incluent de plus en plus souvent une étape de quantification de la croissance.

Cependant, les résultats de l'évaluation quantitative ont montré que celle-ci peut également être sujette à de la variabilité notamment pour les isolants bio-sourcés. La quantification a abouti à deux résultats différentes : nombre des UFC/cm² à T_0 et à T_4 significativement supérieur sur un essai de l'isolant A et deux essais l'isolant B et nombre des UFC/cm² à T_0 non significativement différent sur deux essais de l'isolant A et un essai de l'isolant B. En effet, les résultats sont reproductibles entre les échantillons de chaque essai mais pas entre les essais d'un même matériau. Cette variabilité est probablement liée à la quantité d'eau disponible au sein de matériau qui est peut-être modifiée par l'utilisation d'un spray liquide. Adan (1994) explique que l'utilisation d'un inoculum liquide peut créer un déséquilibre hydrique initial entre le substrat poreux et l'air adjacent, ce qui se traduirait par une modification de l'activité de l'eau au sein du matériau (Nielsen et al. 2004). la quantité d'eau disponible influence chaque phase du développement fongique (Moularat et al. 2013). De plus, lorsque les spores rentrent en contact avec l'eau liquide avant d'atteindre la surface du matériau, elles peuvent s'hydrater en amont et l'initiation de la germination peut être perturbée (Johansson 2014; Laborel-Préneron et al. 2018). Par exemple, pour une souche d'*Aspergillus carbonarius*, l'effet de l'activité de l'eau de l'inoculum liquide a été plus important que celle du substrat inoculé. C'est pourquoi les auteurs suggèrent que l' A_w de la suspension de spores soit égal à celle du milieu de l'étude parce que le processus de germination commence immédiatement après que les spores rentrent en contact avec une solution (Nanguy et al. 2010).

Par ailleurs, certaines espèces des moisissures telles que *Penicillium rubens*, produisent une matrice extracellulaire ou ECM (Extra Cellular Matrix) préalablement à la germination qui permet d'établir un contact entre le substrat et la moisissure. Dans l'étude de Bekker et al. (2012), la formation de cette matrice extracellulaire a été observée lorsque le

produit a été contaminé à partir d'une inoculation sèche et a été absente quand l'inoculation était réalisée avec une suspension de spores en milieux liquide. En dernier lieu, lorsqu'il s'agit de matériaux traités, l'ajout d'eau sur les échantillons ralentirait ou empêcherait le développement de microorganismes puisque l'eau contenant les spores des souches de contamination rentrerait en contact avec le produit antifongique ou antibactérien.

Par ailleurs, la variabilité des résultats pourrait être liée à une certaine hétérogénéité des panneaux bio-sourcés en termes de la distribution du produit antifongique et en termes de sa composition notamment pour l'isolant B parce que sur certains endroits du panneau il y aurait plus de bois que de laine de verre et ces sites seraient plus favorables, en termes des éléments nutritifs, à la croissance des colonies.

Suivi de la teneur en eau

Pour cette étude, les résultats de la mesure de la teneur en eau (tableau 3-1) ont montré qu'après quatre semaines d'exposition à $26 \pm 2^\circ\text{C}$ et $85 \pm 5\%$ d'HR, les éprouvettes présentaient une teneur en eau de 17,1 % et 10,6 % en moyenne pour l'isolant A (fibres de bois) et l'isolant B (fibres de bois + laine de verre) respectivement. Concernant l'isolant C (laine de verre), la teneur en eau était plus de cinq fois plus faible probablement en raison de sa composition exclusivement minérale.

En ne tenant compte que de la capacité d'absorption hydrique des matériaux, l'isolant A (fibres de bois) devrait être le matériau qui favoriserait le plus le développement et la prolifération fongique. Cependant, la croissance a été observée et/ou quantifiée plus sur l'isolant B qui contient moins de bois et une teneur en eau plus faible. Ce résultat est en accord avec celui obtenu par Le Bayon et al. (2015) où aucune colonie n'a pas été observée sur un panneau de bois qui présentait des niveaux très élevés de teneur en eau ($37,3 \pm 6,8$, et $20,6 \pm 3,4\%$) tandis que des colonies ont été détectées sur des échantillons de paille présentant de valeurs en teneur en eau moins importantes ($17,2 \pm 0,2$ et $11,3 \pm 3,4\%$). Ces résultats montrent que la teneur en eau d'un matériau ne permet pas, seule, de prévoir son comportement face à une contamination fongique (Paic Lacaze 2016).

Ainsi, les résultats de cette première partie démontrent, tout d'abord, l'importance de réaliser une quantification de la croissance en plus de l'inspection visuelle qui est très sujette à erreur. Ensuite, il a été mis en évidence que l'évaluation quantitative par comparaison du nombre des UFC/cm² à T₀ et à T₄ peut aussi être sujette à de la variabilité qui serait liée à une altération de la quantité d'eau disponible pour les spores au sein du matériau en raison de l'utilisation d'inoculum liquide pour la contamination et à une distribution hétérogène du produit antifongique et/ou des fibres de bois. Le fait que les UFC/cm² quantifiés à T₀ soient quasiment

les mêmes qu'à T₄ soulève des nombreuses questions sur comment le matériau devrait être classé lorsque ce résultat est obtenu.

III.3. Développement d'une méthode d'essai pour évaluer la résistance de matériaux bio-sourcés au regard des moisissures

Une « nouvelle » méthode d'essai, basée sur le même protocole global que celui mis en œuvre dans la méthode proposée par Le Bayon et al. (2015) mais proposant un aérosol sec comme mode de contamination, a été développée. Pour ce faire, un système expérimental permettant l'obtention d'un flux d'air pour véhiculer les spores depuis une culture de la souche sur milieu solide, vers la surface des éprouvettes a été conçu. Dans cette partie, uniquement le système expérimental et la technique d'inoculation, qui diffèrent de la méthode de Le Bayon et al. (2015), seront décrits.

III.3.1. Description du dispositif expérimental

Le dispositif expérimental a été construit par l'équipe technique du Laboratoire GEPEA à l'IMT Atlantique de Nantes. Il s'agit d'une enceinte en verre (70 cm x 50 cm x 31 cm), de 100,5 L associée à une pompe par un système de tuyaux (Figure 3-3). Connectée entre l'enceinte et la pompe, une bouteille en verre de 500 ml sert de récipient pour la culture de la souche. Le flux d'air créé par l'activation de la pompe permet le transfert de spores depuis la surface de la culture jusqu'à la surface des échantillons placés à l'intérieur de l'enceinte par l'intermédiaire de 4 connections réparties à la surface supérieure de l'enceinte.

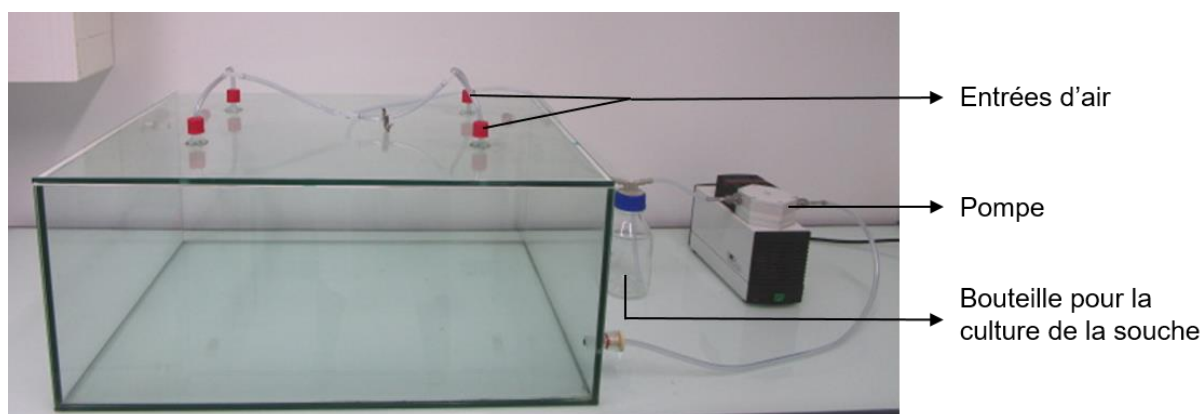


Figure 3-3. Système expérimental pour l'aérosolisation de spores

III.3.2. Culture de la souche

Pour mettre en place la contamination par aérosolisation de spores fongiques, des spores de la souche sauvage d'*Aspergillus niger* cultivées dans des boîtes de Petri et âgées de 7 jours ont été récupérées à l'aide d'une solution d'extraction. Les spores ont été ensuite repiquées dans une bouteille stérile de 500 ml contenant le milieu de culture (gélose) DRBC. Cette dernière a été placée par la suite dans une étuve à 26°C et 85 ± 5 % d'HR le temps nécessaire à la croissance. Au terme de la période de développement des colonies, la bouteille a été connectée au système (Figure 3-4).

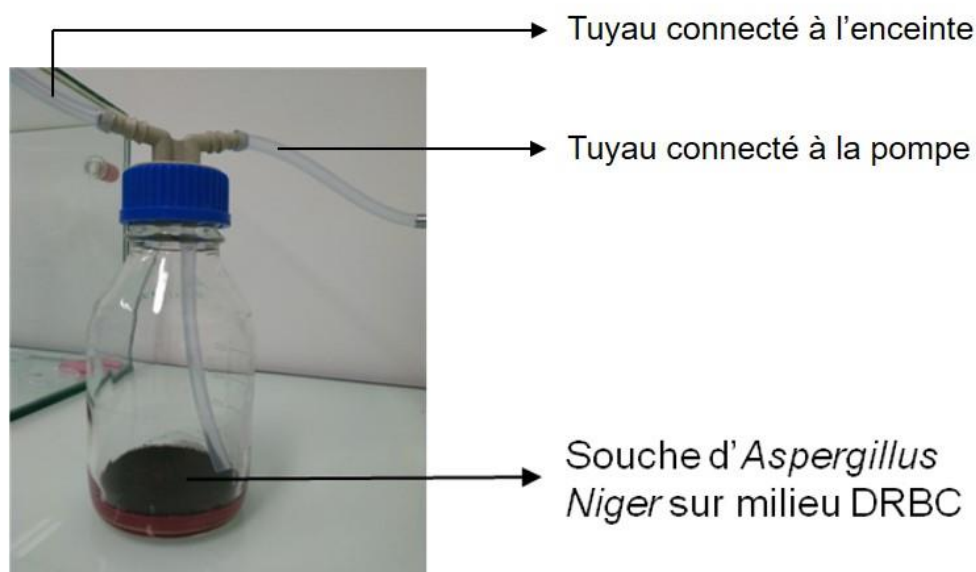


Figure 3-4. Bouteille contenant la souche d'*Aspergillus niger* connectée au système expérimental

III. 3.3. Technique d'inoculation

Dans le cadre de cette étude, une aérosolisation sèche a été choisie comme technique d'inoculation. Cette technique est composée de deux étapes : l'aérosolisation de spores et la déposition de spores.

III.3.3.1 Aérosolisation des spores

Une fois que la bouteille contenant la souche est connectée au système et que les éprouvettes sont placées dans l'enceinte, la pompe est activée pendant 15 minutes. Lorsque le courant d'air entre en contact avec les colonies des moisissures dans la bouteille, les spores contenues dans les organes fructifères (conidiophores) se détachent et sont transférés dans l'enceinte pour se déposer enfin à la surface des échantillons.

L'aérosolisation sèche de spores vers la surface des matériaux crée un scénario de contamination beaucoup plus représentatif des conditions réelles rencontrés par le matériau.

Lors de processus de fabrication, de stockage et de pose, les spores sont aéroportées ou véhiculées par les personnes manipulant les matériaux et peuvent se déposer à leurs surfaces. De plus, le détachement des spores entraîné par un courant d'air est aussi une situation plus réaliste. Il est à noter que pour que les spores se libèrent, deux mécanismes sont possibles : actif, quand la source d'énergie est produite par la moisissure elle-même, et passif, quand la source d'énergie provient de l'extérieur, le plus souvent celle-ci correspond à l'air, la pluie ou la gravité (Górny et al. 2001).

Par ailleurs, l'utilisation d'un aérosol sec évite les problèmes mentionnés précédemment concernant l'ajout d'eau sur les éprouvettes. Ce facteur est très important pour que la technique d'inoculation n'ait aucun impact sur le processus de germination des spores. Un autre élément très important qui a contribué à la recherche d'une nouvelle technique d'inoculation a été la difficulté rencontrée lors de l'utilisation du vaporisateur dans le cas de l'inoculation par voie humide. En effet, les étapes à suivre dans les protocoles d'inoculation des méthodes d'essai, les détails d'application sont rarement précisés. De ce fait, des incertitudes existent sur la distance du matériau à laquelle le spray doit être appliqué ou l'espace à laisser entre les éprouvettes entre autres. Il est probable que selon la personne ou le laboratoire qui applique les méthodes, l'application du spray peut varier.

Un des avantages d'utiliser un spray est que l'inoculum peut contenir les spores de plusieurs souches. Cependant, si l'objectif est de contaminer le matériau avec plus d'une souche, des flacons contenant les différentes cultures peuvent être préparés et passés les uns après les autres. Cette manipulation, même si elle peut s'avérer longue, reste beaucoup plus simple à mettre en place et évite l'apport du milieu de culture dans l'inoculum et d'humidité lors de l'ensemencement.

III.3.3.2. Déposition des spores

Au terme des 15 minutes de passage d'air, créé par l'activation de la pompe, le système est arrêté et la boîte est laissée fermée durant une heure pour que les spores se déposent à la surface des éprouvettes. La vitesse de sédimentation des spores dépend de leur taille, de leur géométrie et de leur masse. Plus elles sont petites et légères, et plus celles-ci resteront longtemps en suspension dans l'air, sédimenteront lentement, seront sensibles au mouvement de l'air, et pourront se disséminer loin. En raison de leur petite taille, les spores d'*Aspergillus niger* adhèrent fortement aux surfaces et il est peu probable que des mouvements d'air de faible intensité provoque leur réenvol. Elles présentent un diamètre moyen de 3,5 μm et elles possèdent une surface zébrée de circonvolutions sinueuses (Figure 3-5) (Metahni 2012).

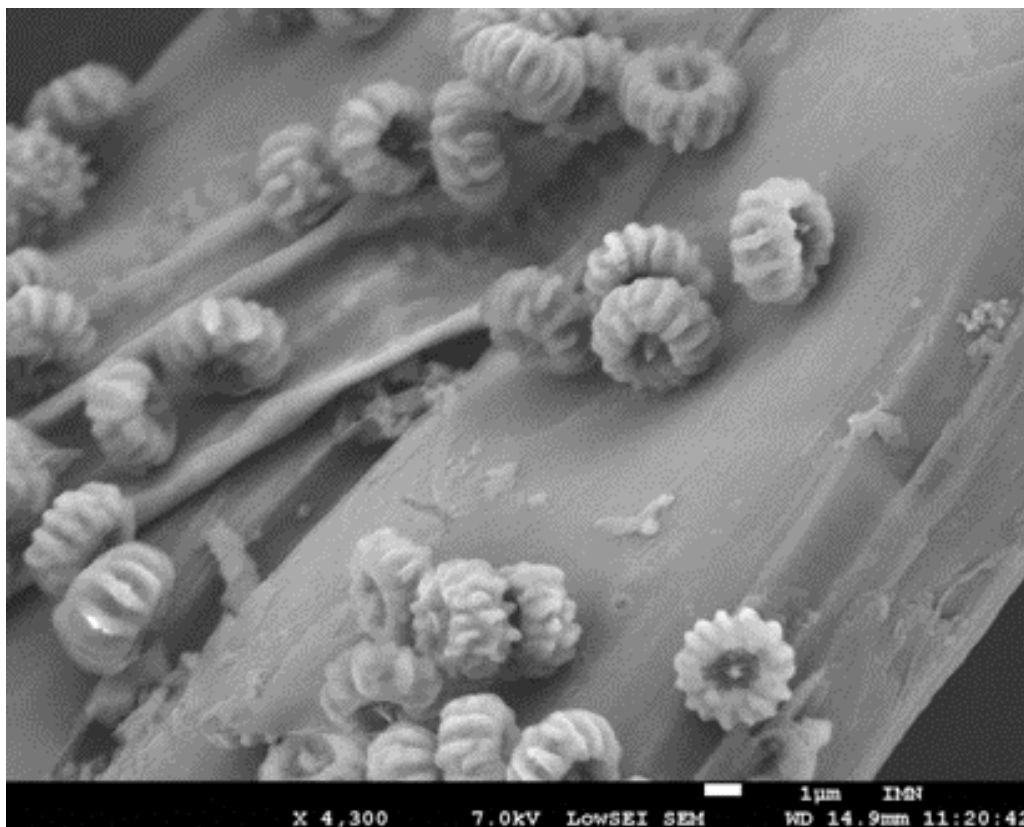


Figure 3-5. Spores d'*Aspergillus niger* observées au MEB (microscope électronique au balayage) sur la surface d'une fibre de bois provenant de l'isolant B

Afin de quantifier les spores déposées à la surface des échantillons, 3 boîtes de Petri vides (4 cm de diamètre) ont été placées de manière aléatoire parmi les éprouvettes (Figure 3-6). Après une heure de déposition, 3 des éprouvettes et les 3 boîtes de Petri vides sont récupérées pour l'extraction des spores à T_0 . Les autres 6 échantillons sont mis en incubation dans l'étuve.

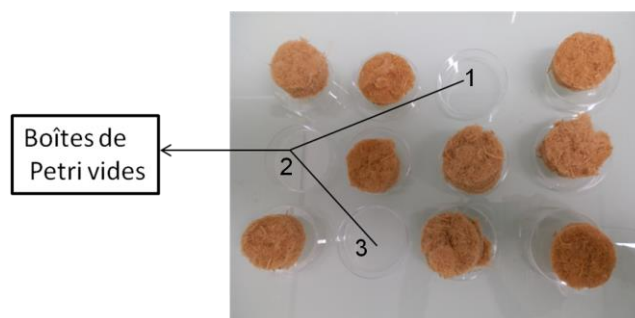


Figure 3-6. Emplacement aléatoire des 3 boîtes de Petri vides destinée au cacul des spores déposées lors de l'aérosolisation

Les spores ont été récupérées avec 3 ml de solution d'extraction (MgSO_4 + Tween 80) pour les boîtes vides et 30 ml pour les éprouvettes. Les extraits ont été dilués et étalés sur le milieu de culture DRBC contenu dans des boites de Petri (9 cm de diamètre). Toutes les boîtes de Petri correspondant aux extractions à T_0 et le reste des éprouvettes contaminées ont été placées dans une étuve à 26°C et 90 % d'HR. Après 5 jours les UFC/cm² à T_0 ont été dénombrés et quatre semaines après, les spores des éprouvettes ayant suivi l'incubation ont été extraites et les UFC/cm² quantifiées.

La **Figure 3-7** résume l'ensemble des étapes du protocole de la nouvelle méthode.

III.4. Résistance des isolants de l'étude à la croissance d'*Aspergillus niger* évaluée par la « nouvelle » méthode

Les isolants de l'étude ont ensuite été évalués par cette « nouvelle » méthode. Trois essais ont été réalisés par matériau. Le **Tableau 3-2** présente les résultats obtenus suite à l'évaluation visuelle et l'analyse quantitative de la résistance des isolants de l'étude en appliquant cette nouvelle approche. Les valeurs des spores déposées par l'aérosolisation sèche et de la teneur en eau des éprouvettes à T_4 sont également précisées.

Les résultats ont tout d'abord montré que la « nouvelle méthode » permet une très bonne reproductibilité de la mesure des spores déposées (entre 3,2 et 3,8 log UFC/cm²). Cet élément est très important parce que lors de l'application d'un spray liquide, la concentration de l'inoculum est connue mais la quantité des spores que se déposent sur la surface des éprouvettes implique la mise en place d'une manipulation supplémentaire pour la calculer. Ainsi, l'utilisation d'un aérosol sec simplifie cette étape tout en assurant une reproductibilité correcte.

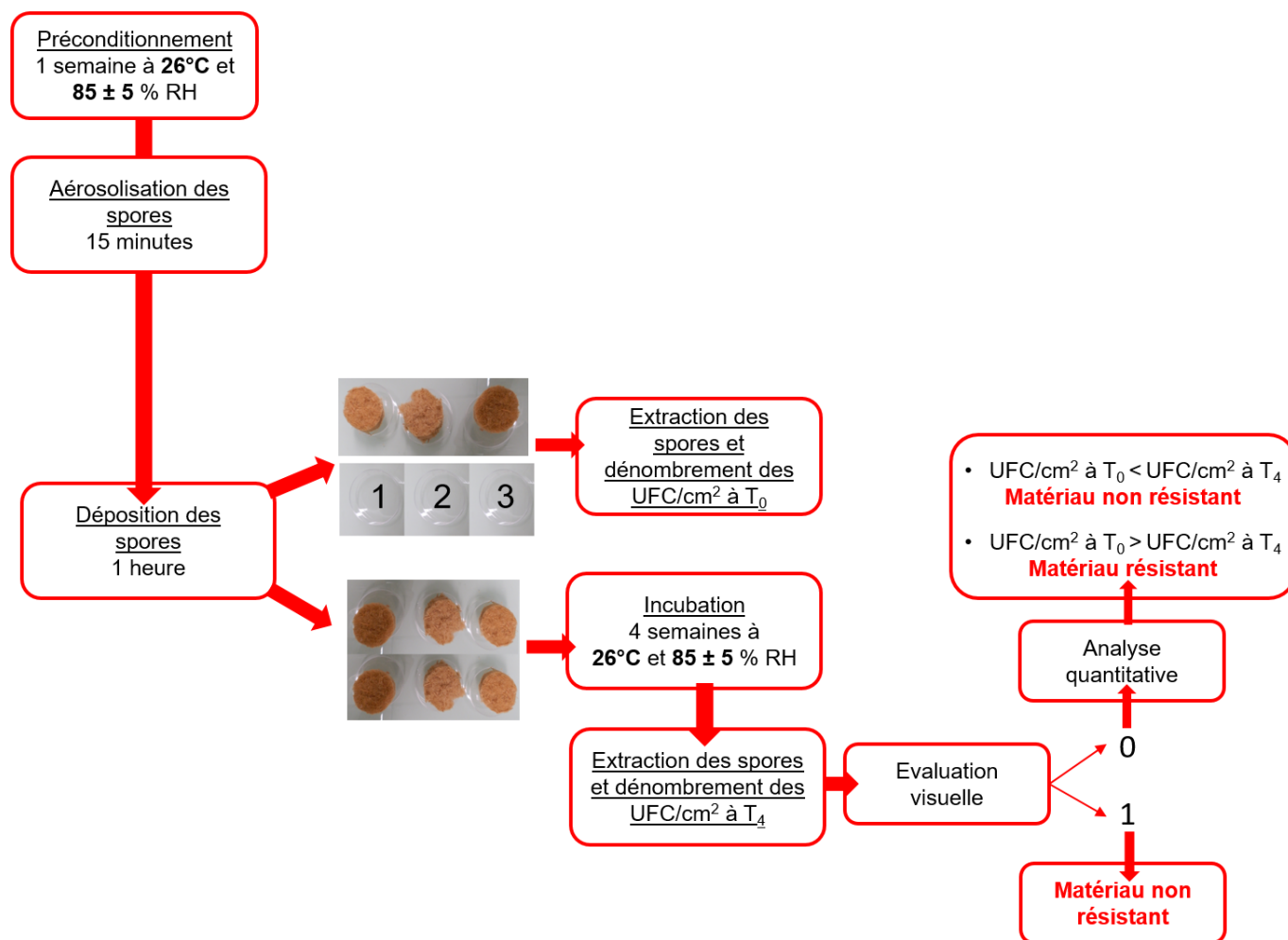


Figure 3-7. Protocole d'évaluation de la résistance des isolants bio-sourcés à la croissance de moisissures (« nouvelle » méthode)

Tableau 3-2. Evaluation de la résistance des isolants de l'étude par la nouvelle méthode d'essai et valeurs moyennes de teneur en eau à T₄

Matériau	Essai	Spoires déposées	Classement visuel	UFC à T ₀	UFC à T ₄	Teneur en eau à T ₄
		(log ₁₀ UFC/cm ²)		(log ₁₀ UFC/cm ²)	(log ₁₀ UFC/cm ²)	(%)
Isolant A (fibres de bois)	1	3,7 ± 0,2	1	2,5 ± 0,3	5,8 ± 0,1	15,0 ± 0,2
	2	3,6 ± 0,8	0	3,6 ± 0,01	3,5 ± 0,2	16,0 ± 0,1
	3	3,6 ± 0,1	0	3,6 ± 0,02	3,6 ± 0,2	14,2 ± 0,3
Isolant B (fibres de bois + laine de verre)	1	3,6 ± 0,2	0	3,6 ± 0,01	3,5 ± 0,1	9,8 ± 0,3
	2	3,7 ± 0,1	1	3,5 ± 0,3	3,5 ± 0,1	9,9 ± 0,4
	3	3,4 ± 0,4	1	3,7 ± 0,3	2,9 ± 0,1	10,0 ± 0,2
Isolant C (laine de verre)	1	3,2 ± 0,4	0	3,1 ± 0,4	2,4 ± 0,2	2,1 ± 0,3
	2	3,8 ± 0,2	0	3,5 ± 0,2	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,1
	3	3,6 ± 0,3	0	3,4 ± 0,1	2,2 ± 0,4	1,7 ± 0,3

Evaluation visuelle : présence/absence de colonies visibles

En ce qui concerne l'examen visuel de la croissance fongique après quatre semaines d'incubation, les résultats obtenus lors de la mise en œuvre de la « nouvelle » méthode ont été les mêmes que lorsque la méthode précédente a été employée pour deux matériaux :

- L'isolant B (fibres de bois + laine de verre) : deux essais présentant des colonies visibles à l'œil nu et un sans colonies.
- L'isolant C (laine de verre) : aucune colonie n'a été détectée à l'œil nu ou au microscope n'a pas été détectée dans les trois essais.

Pour l'isolant A, deux essais ont abouti au même résultat que lors de l'application de la méthode d'essai de Le Bayon et al. (2015), à savoir l'absence de colonies visibles à l'œil nu et au microscope, et un essai a mis en évidence la présence de colonies visibles (Figure 3-8). Ce résultat, qui n'avait pas été obtenu auparavant, pourrait être en lien avec la présence du sel minéral azoté utilisé dans ce matériau comme traitement ignifuge. En effet ce dernier pourrait avoir des propriétés antifongiques. Or, la distribution de ce produit dans un panneau pourrait s'avérer non homogène et les moisissures pourraient se développer sur les endroits contenant moins de ce produit.

Evaluation quantitative : dénombrement des UFC/cm² à T₀ et T₄

Lors de la quantification des UFC/cm² à T₀ et T₄ de l'essai de l'isolant A (fibres de bois) où les colonies visibles ont été observées, 3,3 Log₁₀ de différence ont été mesurés. Dans ce cas, cette quantification permettrait de classer ce matériau comme « **non résistant** ». Cependant, les résultats des deux essais suivants conduisent à nouveau à la difficulté évoquée précédemment parce que le nombre des UFC/cm² à T₀ et T₄ n'est pas significativement différent. Ceci met en évidence qu'effectivement la population pourrait se maintenir sur la période d'inoculation parce qu'une perte importante comme pour la laine de verre n'est pas observée.

Concernant l'isolant B (fibres de bois + laine de verre), un des essais a montré ce même cas de similarité entre les UFC/cm² à T₀ et T₄, ce résultat avait déjà été observé dans un des essais de ce matériau lors de l'utilisation de la méthode précédente. En revanche, le deuxième essai de cet isolant a montré une réponse qui n'avait pas été mise en évidence auparavant : des valeurs similaires des UFC/cm² à T₀ et T₄ sur des éprouvettes où les colonies étaient visibles (cotation 1) (reproductibles sur les 6 échantillons).

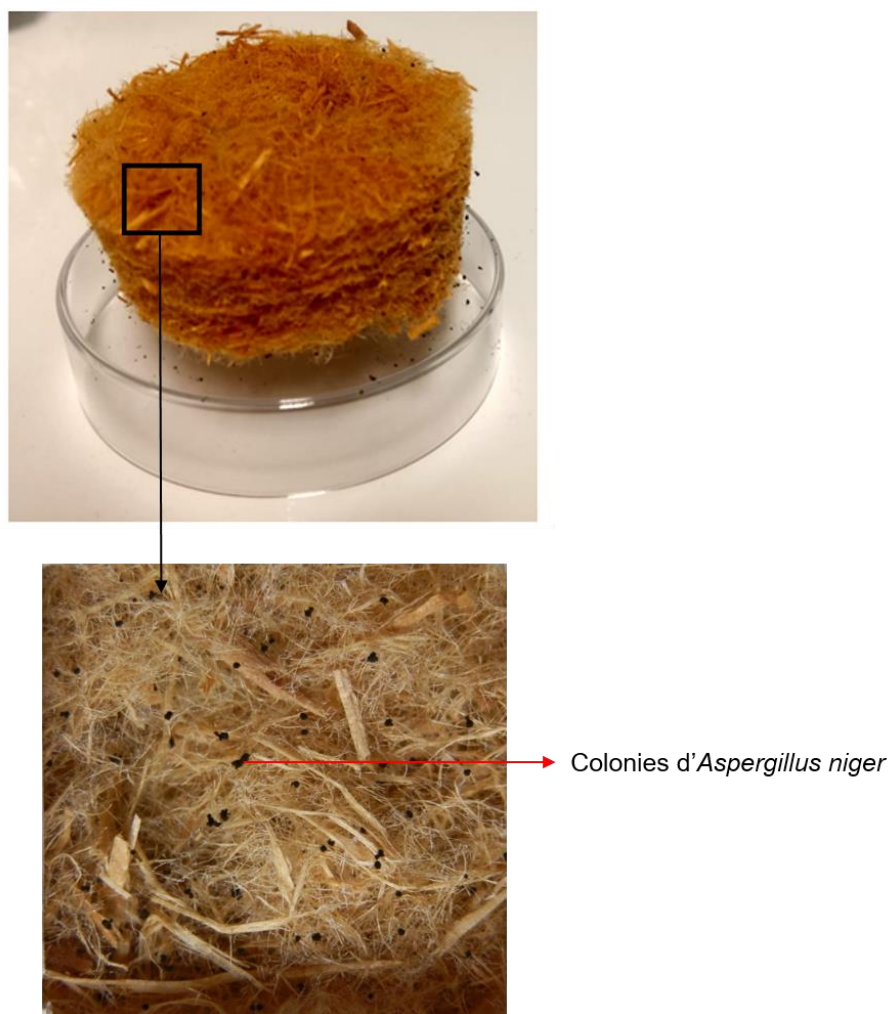


Figure 3-8. Colonies d'*Aspergillus niger* sur la surface d'une éprouvette de l'isolant A

Ce cas voudrait dire que le même nombre des UFC/cm² à T₀ et T₄ peut effectivement correspondre à la croissance de la population mais que dans certaines situations la croissance atteint un stade où les colonies de moisissure deviennent visibles et dans d'autres non. Ainsi, il serait risqué de classer un matériau comme « **résistant** » si les colonies ne sont pas visibles et que les valeurs des UFC/cm² à T₀ est pratiquement le même qu'à T₄.

Le dernier cas pour cette isolant a montré un résultat particulier : présence de croissance visible mais différence non significative lors de l'analyse quantitative. Il est probable que les spores n'ont pas été transférées correctement lors de l'extraction ou certaines spores se sont détériorées, affectant leur cultivabilité. A nouveau pour ce matériau, deux essais sur trois ont démontré que, malgré la présence d'un produit antifongique, les moisissures peuvent se développer si les conditions deviennent favorables.

Pour les trois essais de l'isolant C (laine de verre) la différence des UFC/cm² à T₀ et à T₄ significativement plus faible. Ces résultats montrent à nouveau que ce matériau ne permet pas le développement d'*Aspergillus niger* probablement en raison de sa nature minérale. La perte des UFC à T₄ par rapport à T₀ a été moins faible que

pour les résultats précédents mais celle-ci reste très significative (0,7 et 1,2 Log₁₀), ce qui confirme que sur un matériau pouvant être classé comme « **résistant** » une décroissance significative devrait être observée.

L'application de la « nouvelle » méthode a confirmé la variabilité des réponses du matériau face au développement fongique selon les essais. Les inconvénients de l'inoculation via un spray ont été évités par la mise en place d'un aérosol sec mais des variations très légères de température et d'HR ont été constatées dans l'enceinte malgré les efforts pour maintenir les conditions constantes. Des conditions moins favorables sur certains essais auraient pu avoir un impact sur le taux de croissance qui aurait diminué. Par exemple, à des températures plus basses que celles considérées comme optimales à la croissance, les spores nécessitent plus d'eau disponible pour s'hydrater. Cette aspect est très important car ce scénario de conditions environnementales fluctuantes se rapproche beaucoup de ce qui se passe dans un bâtiment (Gradeci et al. 2017).

De plus, les panneaux des isolants bio-sourcés semblent très hétérogènes en termes de distribution du produit traitant mais aussi vis-à-vis des fibres de bois, probablement si les éprouvettes testées présentaient plus des fibres de bois qui ont pu absorber plus d'humidité, elles ont proportionné une ambiance plus favorable au développement fongique.

III.5. Conclusion

D'un point de vue méthodologique, l'évaluation de la résistance des matériaux de l'étude par la mise en œuvre de deux méthodes d'essai a fait ressortir deux éléments importants. Le premier porte sur l'approche visuelle comme seul moyen d'évaluer la croissance fongique sur un matériau. En effet, l'examen visuel des colonies est très sujet à erreur puisque selon le stade de développement et/ou selon l'espèce, les moisissures peuvent acquérir des pigmentations différentes parfois très claires voire transparentes. De plus, sur des matériaux qui présentent des matrices très hétérogènes, l'inspection visuelle devient très compliquée et peut varier selon l'examineur.

Le deuxième élément concerne la vaporisation d'un spray comme technique d'inoculation des éprouvettes. En effet, l'utilisation d'un inoculum liquide peut entraîner des inconvénients tels que la modification de l'Aw au sein du matériau, la perturbation du processus de germination et/ou de production de matrices extracellulaires nécessaires (pour certaines espèces) à l'établissement du contact entre le substrat et les spores. De plus, au niveau expérimental, les consignes pour appliquer le spray sur les éprouvettes sont rarement précisées dans les méthodes d'essai et le nombre de spores déposées ne peut pas être quantifié. De ces faits, l'application d'un aérosol sec pour ensemercer les matériaux semble une technique plus robuste parce qu'elle permet la quantification des spores déposées avec

une bonne reproductibilité. De plus, elle est plus facile à mettre en place car la préparation de l'aérosol demande uniquement la culture de la souche dans des flacons de laboratoire adaptés. Enfin, cette technique évite l'apport d'eau et de milieu de culture sur les échantillons.

Le **Tableau 3-3** résume les résultats obtenus pour les trois matériaux et les deux méthodes d'essai mises en place. Ceux-ci mettent en évidence que l'évaluation visuelle et l'évaluation quantitative sont sujettes à de la variabilité, ce qui reflète la complexité de l'établissement d'une méthode normalisée pour évaluer la résistance des matériaux biosourcés au regard de la croissance de moisissures. En effet, depuis 2014, année où la NF EN 15101-1 (Annexe F) a été publiée, d'autres travaux ont été menés pour harmoniser et fiabiliser cette méthode d'évaluation. Tout d'abord Le Bayon et al. (2015) ont proposée d'intégrer dans la norme une étape de quantification de la croissance. Ensuite, en 2016, un travail concernant la détermination de deux classes d'emploi (sèche et humide) spécifiques aux isolants biosourcés a été publié par Lamoulie et al. (2016), notamment parce que les méthodes d'essai emploient de conditions d'humidité très élevées qui ne correspondent pas forcément à celles des environnements intérieurs. Ces modes d'emplois ont été intégrés dans le guide du CSTB publié en 2018, destiné aux demandeurs d'un ATec. En 2019, la norme NF EN 15101-1 (Annexe F) a été annulée et remplacée par la NF EN 15101-1+A1 (avril 2019) qui précise la modification des catégories d'évaluation de la croissance fongique par inspection visuelle (cf. Chapitre 1, partie 4.2.4). Ces différentes modifications permettent d'évoluer vers une méthode standard plus robuste.

Enfin, il subsiste un doute dans la réponse à apporter dans le cas où il n'existe pas de différence entre les résultats à T_0 et à T_4 . Il est probable que le taux d'inactivation des spores soit compensée par une faible croissance permettant de maintenir la population fongique à une valeur presque constante. Si cette dernière hypothèse est validée, alors cela voudrait dire que le matériau neuf peut être le siège d'un développement fongique limité et qu'en conséquence il devrait être classé comme « **non résistant** ».

Tableau 3-3. Résumé des résultats obtenus de la mise en place de deux méthodes d'essais pour évaluer la résistance des matériaux vis-à-vis de moisissures

Matériau/Essai		Méthode d'essai développée par Le Bayon et al. (2015)		« Nouvelle » méthode	
		Evaluation visuelle	Nombre des UFC/cm ² à T ₀ et à T ₄	Evaluation visuelle	Nombre des UFC/cm ² à T ₀ et à T ₄
Isolant A	E1	0	Non significativement différents	1	Significativement supérieur
	E2	0	Non significativement différents	0	Non significativement différents
	E3	0	Significativement supérieur	0	Non significativement différents
Isolant B	E1	1	Significativement supérieur	0	Non significativement différents
	E2	0	Non significativement différents	1	Non significativement différents
	E3	1	Significativement supérieur	1	Significativement inférieur
Isolant C	E1	0	Significativement inférieur	0	Significativement inférieur
	E2	0	Significativement inférieur	0	Significativement inférieur
	E3	0	Significativement inférieur	0	Significativement inférieur

III.6. References

Adan, Olaf

1994 Thèse - On the Fungal Defacement of Interior Finishes. Eindhoven University.

Bekker, M., H. P. Huinink, O. C. G. Adan, et al.

2012 Production of an Extracellular Matrix as an Isotropic Growth Phase of *Penicillium Rubens* on Gypsum. *Applied and Environmental Microbiology* 78(19): 6930–6937.

Cerema

2016 Synthèse Bibliographique Des Études Sur La Rénovation Thermique Du Bâti Ancien à l'aide de Matériaux Isolants Biosourcés. http://www.cohesion-territoires.gouv.fr/IMG/pdf/synthese_bibliographique_renovation_thermique_du_bati_ancien_avec_isolants_biosources_-_octobre_2016.pdf.

CSTB

2018 Guide Technique Spécialisé Pour La Constitution d'un Dossier de Demande d'Avis Technique: Isolants à Base de Fibres Végétales Ou Animales. Produits Isolants Destinés à l'isolation Thermique Par l'intérieur. Guide technique spécialisé pour la constitution d'un dossier de demande d'Avis Technique : Isolants à base de fibres végétales ou animales – Produits isolants destinés à l'isolation thermique par l'intérieur – Cahier 3713.

Deacon, Jim

2016 *Fungal Biology*. 4ème. Blackwell Publishing.

Górny, Rafał L., Tiina Reponen, Sergey A. Grinshpun, and Klaus Willeke

2001 Source Strength of Fungal Spore Aerosolization from Moldy Building Material. *Atmospheric Environment* 35(28): 4853–4862.

Gradeci, Klodian, Nathalie Labonnote, Berit Time, and Jochen Köhler

2017 Mould Growth Criteria and Design Avoidance Approaches in Wood-Based Materials – A Systematic Review. *Construction and Building Materials* 150: 77–88.

Johansson, Pernilla

2014 Determination of the Critical Moisture Level for Mould Growth on Building Materials. Université de Lund.

Laborel-Préneron, Aurélie, Kouka Ouédraogo, Alexis Simons, et al.

2018 Laboratory Test to Assess Sensitivity of Bio-Based Earth Materials to Fungal Growth. *Building and Environment* 142: 11–21.

Lamoulie, J, Isabelle Bayon, M Draghi, et al.

2016 Resistance of Bio-Based Insulation Materials to Moulds and Creation of Use Classes According to Real Climatic Conditions in Use. IAQVEC. 9th International Conference on Indoor Air Quality Ventilation & Energy Conservation in Buildings.

Metahni, Amine

2012 Thèse - Dépôt et Réenvol de Spores Fongiques : Contribution à La Compréhension Du Risque Nosocomial Aérotransmis. Université de Lyon. https://tel.archives-ouvertes.fr/file/index/docid/833993/filename/METAHNI_Amine_2012_These_VC.pdf.

Moularat, S, M Draghi, I Lacaze, et al.

2013 Etude et Compréhension de La Dynamique de Colonisation Microbienne Des Supports : Vers l'élaboration de Nouveaux Traitements Préventifs Adaptés Aux Environnements Intérieurs. Programme PRIMEQUAL, Rapport Final. CSTB.

Nanguy, Sidjè Paule-Marina, Jean-Marie Perrier-Cornet, Maurice Bensoussan, and Philippe Dantigny

2010 Impact of Water Activity of Diverse Media on Spore Germination of *Aspergillus* and *Penicillium* Species. *International Journal of Food Microbiology* 142(1–2): 273–276.

Nielsen, K.F., G. Holm, L.P. Uttrup, and P.A. Nielsen

2004 Mould Growth on Building Materials under Low Water Activities. Influence of Humidity and Temperature on Fungal Growth and Secondary Metabolism. *International Biodeterioration & Biodegradation* 54(4): 325–336.

Paic Lacaze, Isabelle

2016 Thèse-Etude Des Mécanismes de Colonisation Des Produits de Construction Par Les Micromycètes. Paris Diderot - Paris 7. <http://www.theses.fr/2016USPCC047>.

Tabuc, Cristina

2007 Flore Fongique de Differents Substrats et Conditions Optimales de Production Des Mycotoxines. Institut National Polytechnique de Toulouse et l'Université de Bucarest. <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000577/01/tabuc.pdf>.

Chapitre 4. Caractérisation des émissions de COV des matériaux natifs en absence de moisissures

IV.1. Introduction

Afin d'améliorer la qualité de l'air des habitations, il existe deux grands principes : d'une part limiter l'émission de polluants que ces derniers soient associées à des sources fixes et qui peuvent être considérées comme relativement stables dans le temps telles que le bâti ou le mobilier ou à des sources plus variables telles que celles associées aux activités des occupants ou aux occupants eux-mêmes, et d'autre part assurer un renouvellement d'air efficace.

Pour réduire les émissions, il s'avère nécessaire d'agir sur les sources. Dans cette optique, les matériaux de construction et de décoration sont une cible importante des politiques publiques visant à diminuer les émissions de polluants dans l'air intérieur puisqu'ils occupent de grandes surfaces et peuvent entraîner des émissions pendant des durées relativement longues. Ainsi, la sélection de matériaux peu émissifs peut améliorer considérablement la QAI. Depuis 2012, tous les produits destinés à un usage intérieur (isolants, peintures, colles, vernis et lasures, revêtement de sols...) et les matériaux de construction, quelle que soit leur origine, sont soumis à un étiquetage obligatoire qui indique leur niveau d'émissions en polluants volatils (FFB 2018). L'étiquette fournit une information simple, lisible et objective aux utilisateurs de ces produits et matériaux (Chapitre 1, partie 2.2).

Ce chapitre est dédié à la caractérisation des émissions des COV des matériaux étudiés et sera structuré en deux grandes parties. Une première partie portant sur les essais menés en cohérence avec la norme ISO 16000-9 permettant d'évaluer les émissions en COV des matériaux en chambre d'émission que ceci soit associé à l'étiquetage des matériaux ou à des COV considérés comme majoritaires ou d'intérêt dans cette étude. Les résultats issus de cette première partie permettront d'apporter une réponse au questionnement de l'utilisation des matériaux bio-sourcés en tant que matériau d'isolation au regard des matériaux « conventionnels » en termes d'émissions de COV. Ensuite, une deuxième partie axée sur l'influence de l'humidité sur les émissions, élément important mis en évidence dans cette thèse en conséquence des écarts de conditions d'évaluation entre les essais d'émissions en COV ($RH = 50 \pm 5 \%$, norme ISO 16000-9) et les essais concernant le développement de moisissures ($RH = 85 \pm 5 \%$). Ces résultats contribueront à enrichir l'état de l'art sur les matériaux bio-sourcés en ce qui concerne leur comportement en fonction de conditions hygrothermiques.

Afin d'évaluer la reproductibilité des évaluations, trois essais ont été menés pour chaque matériau. Certains essais présentent quelques différences en termes de périodicité d'échantillonnage en raison des difficultés analytiques et/ou de la mise en place des

protocoles, en conséquence ils sont numérotés 1, 2 et 3. Les **Tableaux 4-1, 4-2 et 4-3** résument les détails des essais mis en place pour chaque isolant.

Tableau 4-1. Détails des essais mis en place pour l'isolant A (fibres de bois)

Paramètre	Essai														
	1					2					3				
HR (%)	50	85				50	85				50	85			
Prélèvement	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Jour	28	31	35	42	56	14	31	35	42	56	28	31	35	42	56
Commentaires	Prélèvement 2 non réalisé					Prélèvement 1 à J+14 et non à J+28					-				
Date de mise en place de l'essai	janvier – février 2018					juin – juillet 2018					novembre – décembre 2018				

Tableau 4-2. Détails des essais mis en place pour l'isolant B (fibres de bois + laine de verre)

Paramètre	Essai														
	1					2					3				
HR (%)	50	85				50	85				50	85			
Prélèvement	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Jour	28	31	35	42	56	14	31	35	42	56	28	31	35	42	56
Commentaires	Prélèvement 3 non réalisé					-					-				
Date de mise en place de l'essai	août – septembre 2018					janvier – février 2019					mars – avril 2019				

Tableau 4-3. Détails des essais mis en place pour l'isolant C (laine de verre)

Paramètre	Essai									
	1					2				
HR (%)	50	85				50	85			
Prélèvement	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Jour	28	31	35	42	56	28	31	35	42	56
Commentaires	Prélèvements 3, 4 et 5 non réalisés					-				
Date de mise en place de l'essai	août – septembre 2017					juin – juillet 2019				

Pour chaque composé, les concentrations mesurées dans la chambre d'émission ont été calculées à partir de l'équation 2-3. Ces concentrations ont été par la suite transformées en taux d'émission selon l'équation 2-4 (cf. Chapitre 2, partie 4.3.4). Tous les résultats sont présentés en termes des taux d'émission ($\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). Des « blanc chambre » ont été réalisés à 50 % et 85 % d'HR. Les concentrations de composés retrouvés dans le prélèvement « blanc chambre à 50 % » d'HR ont été soustraites de celles des composés identifiés pour l'échantillon à cette humidité. Les concentrations du prélèvement « blanc chambre à 85 % » d'HR ont été soustraites des celles des échantillons à cette humidité.

IV.2. Evaluation des émissions en COV des isolants de l'étude au regard de l'étiquetage des matériaux et produits de construction en France

La classification du niveau d'émissions en COV des matériaux, indiquée sur l'étiquette, est obtenue à partir de l'évaluation (à 28 jours d'exposition) de 10 COV réglementaires (Chapitre 1, partie 2.2), identifiés sur plusieurs critères de sélection tels que leur ubiquité dans les logements (campagne de mesure 2003 – 2005 par l'OQAI), leur hiérarchisation vis-à-vis de leur impact sur la santé humaine (campagne « Logements » menée par l'OQAI en 2002), et leur risque par inhalation d'après la classification de l'annexe I du règlement 1272/2008 dit « CLP » (OQAI 2007; OQAI 2002; INRS 2009). Les taux en COV totaux (COVT), à savoir la somme des concentrations des COV de 6 à 16 atomes de carbone (identifiés ou non), sont également pris en compte pour la classification.

Dans le cadre de cette étude, la caractérisation des 10 COV réglementaires et des COV totaux (COVT) a été réalisée pour les trois isolants étudiés suivant le protocole d'évaluation en chambre d'émission précisé dans la norme ISO 16000-9 (Chapitre 1, partie 5.1.1). La classe attribuée à chaque COV a été évaluée à partir des valeurs de taux d'émission associés aux rangs de l'étiquetage des matériaux de construction pour un mur, précisés dans le Journal officiel de la république française n°0111 du 13 mai 2011, texte 15, arrêté du 19 avril 2011 (Tableau 4- 4).

Le **Tableau 4-5** présente les taux d'émission des COVT et COV réglementaires évalués pour les trois matériaux ainsi que les notes globales. Ces derniers sont en cohérence avec les étiquettes présentées sur les fiches techniques des matériaux, à savoir « A » pour l'isolant A (fibres de bois) et « A+ » pour les isolants B (fibres de bois + laine de verre) et C (laine de verre).

Tableau 4-4. Taux d'émission associés aux rangs de l'étiquetage des matériaux de construction pour un mur en $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$. (Journal officiel de la république française n°0111 du 13 mai 2011, texte 15, arrêté du 19 avril 2011)

Composé	Valeur à ne pas dépasser pour le rang C	Valeur à ne pas dépasser pour le rang B	Valeur à ne pas dépasser pour le rang A	Valeur à ne pas dépasser pour le rang A+
Formaldéhyde	57	57	29	5
Acétaldéhyde	191	191	143	96
Toluène	287	287	215	143
Tetrachloroéthylène	239	239	167	119
Xylène	191	191	143	96
1,2,4-Triméthylbenzène	955	955	717	478
1,4-Dichlorobenzène	57	57	43	29
Ethylbenzène	717	717	478	358
2-Butoxyéthanol	955	955	717	478
Styrène	239	239	167	119
COVT	955	955	717	478

IV.2.1. Comparaison des matériaux vis-à-vis des COVT

Les taux d'émission des COVT ont été significativement supérieurs pour les isolants bio-sourcés (entre 22,52 et 50,44 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) que pour la laine de verre (3,40-3,66 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). Or, ces valeurs restent très faibles au regard de la valeur limite de la note « A+ » (478 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). Dans l'étude menée par l'ADEME en 2017 portant sur la comparaison des émissions de COV dans l'air intérieur par les produits bio-sourcés utilisés dans le bâtiment, les taux d'émission des COVT des isolants bio-sourcés pour murs et combles ont aussi été supérieurs (entre $\leq 0,95$ et 25,46 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) à ceux mesurés pour leur homologue d'origine minérale (1,43 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). Dans l'étude mise en place par Yrieix et al. (2010), les COVT émis par six panneaux à base de bois ont également été supérieurs (moyenne de 258 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) à ceux calculés dans cette étude mais ils ont aussi été plus faibles que la valeur limite à ne pas dépasser pour la note « A+ » de l'étiquetage (478 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). Il est probable que l'obtention de ces concentrations en COV totaux relativement fortes aient été obtenues car ces panneaux contenaient de résines urée-formol (UF) ce qui pourrait augmenter considérablement l'émission de formaldéhyde et donc avoir un effet sur les taux d'émission de COVT. Dans l'étude de Maskell et al. (2015), mentionnée précédemment (cf. partie 2.1), le panneau flexible à base de bois a présenté les COVT les plus importants : 160 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$ à 28 jours d'exposition en chambre d'émission. En revanche, le panneau rigide a présenté un taux d'émission des COVT de 9 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$.

Tableau 4-5. Taux d'émissions (µg/m²/h) des 10 COV réglementaires définis dans l'arrêté du 19 avril 2011

Matériau	Isolant A (fibres de bois)						Isolant B (fibres de bois + laine de verre)						Isolant C (laine de verre)			
Essai	1	Classe	2*	Classe	3	Classe	1	Classe	2	Classe	3	Classe	1	Classe	2	Classe
Formaldéhyde	6,61	A	5,82	A	5,09	A	3,33	A+	3,61	A+	4,14	A+	0,20	A+	0,22	A+
Acétaldéhyde	3,07	A+	1,04	A+	1,38	A+	0,46	A+	0,39	A+	0,72	A+	4,04	A+	3,93	A+
Tetrachloroéthylène	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+
Ethylbenzène	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+
Xylènes	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+
Styrène	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+
1,2,4 Triméthylbenzène	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+
1,4 Dichlorobenzène	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+
2 Butoxyéthanol	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+	<LD	A+
COVT	50,44	A+	32,42	A+	36,64	A+	24,46	A+	28,94	A+	22,52	A+	3,66	A+	3,40	A+
Note globale	A		A		A		A+		A+		A+		A+		A+	

LD :

0,0004 µg/m²/h

*Prélèvement réalisé à 14 jours (J+14) et non à 28 jours (J+28) en raison de la mise en place du protocole

Il est cependant important d'être vigilant vis-à-vis des conclusions qui sont réalisées à partir des taux d'émission en COVT puisque cette mesure correspond à la somme des concentrations des COV identifiés ou non, étant élués entre le n-hexane et le n-hexadécane. Ainsi, les COVT représentent un indicateur des COV médians (entre C₆ et C₁₆) mais excluent d'autres COV (C₁-C₅) qui peuvent être émis par les matériaux et qui peuvent éventuellement représenter les émissions majoritaires des matériaux.

IV.2.2 Comparaison des matériaux vis-à-vis des 10 COV réglementaires

Parmi les 10 COV réglementaires, seuls le formaldéhyde et l'acétaldéhyde ont été détectés dans tous les essais pour les trois isolants. Les taux d'émissions des autres composés n'ont jamais été supérieurs à la limite de détection expérimentale (0,0004 µg/m²/h). Concernant le formaldéhyde, les taux d'émission ont été supérieurs pour les isolants bio-sourcés (entre 3,33 et 6,61 µg/m²/h) que pour la laine de verre (0,1 et 0,2 µg/m²/h). Ce composé est souvent identifié lors de l'évaluation des COV émis par les panneaux à base de bois parce qu'il peut être produit à partir de la décomposition de la lignine ainsi qu'à cause de la dégradation structurale du panneau (Pohleven et al. 2019). Cependant, l'émission de ce composé liée aux composants naturels du bois est plus ou moins transitoire et diminue rapidement à des niveaux faibles (Frihart et al. 2010). Une autre source de formaldéhyde associée aux panneaux de bois tels que panneaux agglomérés, contreplaqués et MDF (medium-density fiberboard) et qui a suscité une attention grandissante est liée aux résines UF utilisées pour la cohésion des panneaux. En effet, ces résines peuvent contenir une forte proportion de groupes méthylol et groupes diméthylène éther qui peuvent entraîner l'émission de formaldéhyde, contribuant à la dégradation de l'air des habitations (Zhang et al. 2018; Maskell et al. 2015 ; FCBA 2013).

Dans l'étude de Maskell et al. (2015) les émissions de COV par les 7 panneaux isolants bio-sourcés à base de bois, chanvre, laine de mouton et ouate de cellulose ont été analysées à 28 jours d'exposition en chambre d'émission. Le panneau flexible à base de bois a présenté un taux d'émission du formaldéhyde de 6 µg/m²/h et celui du panneau rigide était de 12 µg/m²/h. Les isolants à base de laine de mouton et de fibres de chanvre ont présenté les taux d'émissions de formaldéhyde les plus faibles (1 µg/m²/h et 3 µg/m²/h). Dans le cas de la laine de verre, l'émission de ce composé pourrait également être liée aux liants puisque le formaldéhyde entre bien souvent dans la composition de ces produits pour ce type de matériaux (ASPA 2007).

Les taux d'émission de l'acétaldéhyde ont été plus élevés pour la laine de verre (4,04 et 3,93 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) que pour les isolants bio-sourcés. L'émission de ce composé peut être associé aux composants naturels du bois pour les cas des isolants-bio sourcés (Suzuki et al. 2014). Dans l'étude Yrieix et al. (2010), ce composé a été détecté dans les essais de tous les matériaux analysés (10 panneaux à base de bois présentant des caractéristiques différentes) à des taux d'émissions relativement faibles (entre 0,8 et 25 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) au regard de la valeur limite de la note « A + » (96 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). Dans le cas de la laine de verre employée dans cette étude, le liant à base d'acrylique présent dans ce matériau pourrait être à l'origine de l'émission de ce composé.

IV.2.3 Variabilité des essais

Les résultats de l'isolant A reflètent aussi qu'une variabilité peut se présenter entre les essais d'un même matériau (et d'un même lot du matériau). Ces différences pourraient être imputables à l'écart temporel entre les essais. D'un essai et l'autre, les panneaux ont été stockés dans un lieu de stockage, exposés aux variations des conditions environnementales comme cela pourrait être le cas dans un chantier de construction. Cette variabilité est plus significative pour l'acétaldéhyde que pour le formaldéhyde. Le taux d'émission de ce composé a été environ 2 fois plus élevé lors de l'essai 1 que lors de l'essai 3 (11 mois de différence).

Les COV émis par un même panneau (même lot) et les concentrations quantifiées peuvent également varier selon l'échantillon évalué car ce type de panneaux peut éventuellement présenter une certaine hétérogénéité dans sa composition (Yrieix et al. 2010). Des essais pour évaluer si différents lots pouvaient conduire à des émissions différentes n'ont pas été réalisés car environ 18 mois ont été nécessaires pour établir le protocole final, et compte tenu également de la durée très longue de chaque essai. Au travers de ce travail il a été possible ainsi d'évaluer la variabilité apportée par la différenciation d'un même lot, cependant il serait important aussi de mettre en place des essais permettant d'évaluer la variabilité inter lots.

Globalement, les isolants bio-sourcés sont plus émissifs que la laine de verre pour le formaldéhyde. La note « A » obtenue pour ce composé à partir les essais réalisés durant 28 jours, pénalise la note globale de l'isolant A. Quant à l'acétaldéhyde, la laine de verre est légèrement plus émissive. Cependant, dans tous les cas, ce composé a été détecté à des niveaux d'émission très faibles par rapport à la valeur seuil de ce composé pour la note « A+ » (96 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}^{-1}$).

L'étiquetage obligatoire des matériaux vis-à-vis de leurs émissions en COV a permis de répondre au besoin d'information des consommateurs et d'inciter les fabricants à améliorer

la performance des produits en termes d'émission de COV. Cependant, si l'on considère que 900 COV ont déjà été détectés dans l'air intérieur, les COV de l'étiquetage ne correspondent qu'à un pourcentage très faible des COV potentiellement émis par les matériaux et produits de construction (ADEME 2017). Certains experts des instances gouvernementales, interrogés lors de l'étude de l'ADEME (2017), considèrent qu'un choix d'achat de produit basé sur l'étiquette n'est pas un réel choix éclairé et qu'il y a peut-être une confusion entre ce que l'étiquette réglementaire traduit et un air intérieur sain pour le consommateur final. Par exemple, certains acteurs (professionnels et particuliers) considèrent qu'un produit « A+ » n'émet pas de polluants, selon une enquête réalisée par In-Numeri en 2015 (MTES 2019). Ainsi, des améliorations pourraient être réalisées dans le but de faire évoluer l'évaluation des émissions de polluants volatils par les matériaux et produits de construction. L'analyse d'autres COV, la multiplication de test à 0 (scénario mis en œuvre), 3 jours (scénario rénovation) et 28 jours (scénario construction neuve) puis dans des conditions de vieillissement accéléré pourraient donner un bilan plus complet de la performance de matériaux vis-à-vis des émissions de COV. Les campagnes de sensibilisation pour le grand public, les fabricants des matériaux et les professionnels du bâtiment pourraient également aider à lever les confusions qui peuvent éventuellement se présenter (ADEME 2017; MTES 2019).

IV.3. Caractérisation des COV majoritaires et d'autres COV d'intérêt émis par les matériaux

Cette partie du chapitre est consacrée à l'identification des émissions des COV majoritaires et d'autres COV d'intérêt des isolants étudiés. Les composés ont été organisés par familles chimiques dans les **Tableaux 4-7 à 4-9**. Les résultats du formaldéhyde et de l'acétaldéhyde ont été présentés à nouveau afin d'aborder la globalité des COV émis par les matériaux. Les résultats mettent en évidence que les COV émis par les matériaux correspondent à des composés de C₁ à C₁₁ pour les isolants bio-sourcés et de C₁ à C₃ pour la laine de verre. Il est possible d'observer la prédominance des aldéhydes parmi ces composés, 10 COV sur 19. Les autres 6 composés appartiennent à la famille des cétones, pirazines, terpènes, hydrocarbures aromatiques, acides carboxyliques et esters carboxyliques. Les résultats montrent aussi que les isolants bio-sourcés émettent plus de composés que la laine de verre : 14 COV pour l'isolant A (fibres de bois), 13 COV pour l'isolant B (fibres de bois + laine de verre) et 5 composés pour l'isolant C (laine de verre).

Tableau 4-7 Aldéhydes et cétones émis par les trois isolants

Composé		Formule chimique	Isolant A : fibres de bois			Isolant B : fibres de bois + laine de verre			Isolant C : laine de verre	
			Essai 1	Essai 2*	Essai 3	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 1	Essai 2
Aldéhydes	Formaldéhyde	CH ₂ O	6,61	3,82	5,47	3,33	3,61	4,14	0,20	0,22
	Acétaldéhyde	C ₂ H ₄ O	3,07	1,04	1,38	0,46	0,39	0,77	4,04	3,93
	Méthylglyoxal	C ₃ H ₄ O ₂	9,29	3,60	4,60	4,90	4,85	5,45	<LD	<LD
	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	5,41	2,24	4,01	1,88	1,72	1,43	<LD	<LD
	Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	0,59	0,31	0,02	0,05	0,08	0,08	<LD	<LD
	Benzaldéhyde	C ₇ H ₆ O	0,19	0,16	0,07	0,04	0,07	0,07	<LD	<LD
	Heptanal	C ₇ H ₁₄ O	0,04	0,02	0,01	0,12	0,07	0,12	<LD	<LD
	Octanal	C ₈ H ₁₆ O	0,20	0,08	0,06	0,08	0,05	0,07	<LD	<LD
	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	1,26	0,13	0,16	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	Decanal	C ₁₀ H ₂₀ O	<LD	<LD	<LD	0,08	0,07	0,05	<LD	<LD
Cétones	Acétone	C ₃ H ₆ O	2,16	1,59	2,05	1,11	1,19	1,30	0,15	0,12
	Méthyl acétophénone	C ₉ H ₁₀ O	0,14	0,02	0,10	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD

LD : 0,0004 µg/m²/h

*Prélèvement réalisé à 14 jours (J+14) et non à 28 jours (J+28) en raison de la mise en place du protocole

Tableau 4-8. Pirazines, terpènes et acides carboxyliques émis par les isolant bio-sourcés

Composé		Formule chimique	Isolant A : fibres de bois			Isolant B : fibres de bois + laine de verre			Isolant C : laine de verre	
			Essai 1	Essai 2*	Essai 3	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 1	Essai 2
Pirazines	Méthyl pirazine	C ₅ H ₆ N ₂	0,08	<LD	0,03	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	Diméthyl pirazine	C ₆ H ₈ N ₂	0,05	0,04	0,10	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Terpènes	α-Pinène	C ₁₀ H ₁₆	<LD	<LD	<LD	0,01	<LD	0,01	<LD	<LD
	4-Terpinéol	C ₁₀ H ₁₈ O	0,03	<LD	0,01	0,01	0,006	0,01	<LD	<LD
Acide Carboxylique	Acide acétique	CH ₃ COOH	0,92	0,42	0,75	1,09	0,96	1,19	<LD	<LD

Tableau 4-9. Ester carboxylique émis par l'isolant A

Composé	Formule chimique	Isolant A : fibres de bois			Isolant B : fibres de bois + laine de verre			Isolant C : laine de verre	
		Essai 1	Essai 2*	Essai 3	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 1	Essai 2
Butyl dichlorobenzoate	C ₁₁ H ₁₂ Cl ₂ O ₂	0,45	<LD	0,30	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD

LD : 0,0004 µg/m²/h

*Prélèvement réalisé à 14 jours (J+14) et non à 28 jours (J+28) en raison de la mise en place du protocole

Comme cela a été mentionné précédemment, les composants naturels du bois peuvent être à l'origine des émissions en COV en plus grand nombre et en plus grande quantité. Ces composés peuvent être classés en deux catégories : les composés résultant de la dégradation physique ou chimiques des macromolécules du bois telles que les hémicelluloses, la cellulose et la lignine et les composés dits « extractibles » (FCBA 2013; Pohleven et al. 2019).

- **Les composés résultant de la dégradation physique ou chimiques des macromolécules du bois**

Les aldéhydes sont les composés plus représentatifs des émissions des isolant bio-sourcés analysés dans cette étude. Les taux d'émission les plus importants ont été quantifiés pour le formaldéhyde (3,83 – 6,61 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) et le méthylglyoxal (3,60 – 9,29 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). Les aldéhydes correspondent aux COV majoritairement émis par le bois, surtout pour les essences feuillues mais cela peut être le cas aussi des essences résineuses. La formation de ces composés résulte de l'oxydation des acides gras de l'hémicellulose, la cellulose et la lignine (Sassoli et al. 2017). Dans l'article de revue de Pohleven et al. (2019), une compilation des COV émis par le bois de 30 espèces (feuillus et résineux), non traité et traité thermiquement, a été réalisée. Parmi ces espèces, 19 ont émis des aldéhydes. L'hexanal, le pentanal et le furfural représentent les composés les plus présents dans ces émissions mais d'autres aldéhydes tels que le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, le 5-méthylfurfural, le nonanal, le dodecanal et le butanal ont été également identifiés. Baumann et Batterman (1999) ont observé que des aldéhydes ont été émis par tous les échantillons (sauf un échantillon) de 57 panneaux de particules et MDF, et ces composés ont représenté plus de 50 % des COV émis pour la plupart des échantillons. Les composés identifiés ont été l'hexanal, l'heptanal, l'octanal, le benzaldéhyde, le nonanal et le *t*-2-octenal. Dans l'étude de Koivula et al. (2005) des isolant bio-sourcés sous forme de panneaux et en vrac ont été analysés au regard des émissions en COV. L'hexanal a été identifié comme le COV majoritairement présent dans les émissions de tous les matériaux étudiés (isolants à base de lin, chanvre et bois) et d'autre aldéhydes tels que le butanal, l'heptanal, et le benzaldéhyde ont été identifiés. Ces mêmes espèces ont été identifiées comme COV majoritairement émis par cinq types de revêtements de sols à base de bois évalués lors de l'étude de Bulian et Fragassa (2016) à des concentrations de 2 à 70 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$.

Dans l'étude de Yrieix et al. (2012) l'acétone a été identifiée comme un des composés majoritaires des échantillons à base de chêne. Dans le cadre de notre étude, deux cétones ont pu être identifiées : l'acétone (taux d'émission entre 0,6 et 2,7 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$), et le méthylacétophénone (taux d'émission entre 0,02 et 0,14 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$).

Par ailleurs, des acides carboxyliques peuvent être émis par le bois brut et les panneaux à base de bois. L'acide acétique est émis en conséquence du clivage des groupes acétyles de l'hémicellulose (Sassoli et al. 2017 ; Wang et al. 2019). Son émission existe autant chez les feuillus que chez les résineux mais elle est plus significative chez les feuillus en raison de la présence d'un nombre plus important de groupes acétyles (FCBA 2013; Risholm-Sundman et al. 1998). Dans l'étude menée par le FCBA en 2013 portant sur les émissions de COV par des panneaux de bois, pour les essais de panneaux brut (100 % résineux, mix feuillu/résineux), une prépondérance de l'acide acétique parmi tous les COV émis a été observée (taux d'émission entre 49 et 650 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). D'autres acides carboxyliques tels que l'acide pentanoïque peuvent aussi être émis par des isolants à base de bois (Koivula et al. 2005).

Le méthylglyoxal représente un des composés majoritairement émis par les deux isolants bio-sourcés analysés dans cette étude (3,60 – 9,29 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). Or, à notre connaissance ce composé n'a pas été décrit comme étant un composé émis par le bois et/ou les panneaux à base de bois. L'émission de cette espèce pourrait provenir des liants à base de polyester utilisés dans les deux matériaux.

- **Les composés dits « extractibles »**

Ces composés font référence à des terpènes spécifiques des essences résineuses (pin sylvestre, pin maritime, épicéa, et sapin). Les terpènes émis par le bois sont principalement l' α -pinène, le 3-carène, le β -pinène, le D-limonène, le camphène et le terpinolène (Harb, et al. 2018; Baumann and Batterman 1999; Manninen et al. 2002; Roffael 2006). Les terpènes sont devenus des composés d'intérêt dans l'étude de la QAI parce que leur oxydation peut déclencher des réactions qui entraîneraient la production d'autres composés (Commission Européenne 2007).

Dans le cadre de cette étude, deux composés terpéniques ont été détectés pour les isolants bio-sourcés dans des conditions normalisées ($T = 23^\circ\text{C}$ et 50 % d'HR) à de très faibles taux d'émission (entre 0,006 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$ et 0,03 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) : l' α -pinène et le 4-terpinéol. L' α -pinène a été identifié dans les essais 1 et 3 de l'isolant B à un taux d'émission de 0,01 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$. Quant à l'essai 2, le pic du composé était présent mais à un niveau non quantifiable par la méthode mise en œuvre dans cette étude. Pour l'isolant A, cette espèce était présente sur les chromatogrammes à 28 jours mais à un taux d'émission non quantifiable. Afin de vérifier si ce composé pouvait être quantifiable avant le jour 28, nous avons eu recours à des essais qui avaient été réalisés pour l'essai 1 de l'isolant A à J+3, J+7, J+14 et J+21 à 50 % d'HR durant la phase d'élaboration du protocole. Des taux d'émission ont pu être quantifiés à J+3 (0,02 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) et à J+7 (0,01 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) et à J+14 et J+21 le composé était présent mais à des taux

d'émissions inférieurs à la limite de détection. Ce résultat met en évidence qu'en 4 jours le taux d'émission a diminué d'un facteur 2. En effet, l' α -pinène peut présenter une cinétique très rapide. Yrieix et al. (2010) ont observé que la concentration de l' α -pinène mesurée pour un panneau de particules en chambre d'émission, diminuait de 36 % entre le jour 3 et le jour 28. Les émissions d' α -pinène, camphène, β -pinène, myrcène, 3-carène et D-limonène des échantillons du duramen et de l'aubier d'un panneau à particules orientées (OSB, oriented strand boards) à base du pin ont été quantifiées à 0, 7 et 14 jours dans l'étude de Roffael (2006). Les résultats ont mis en évidence que la concentration d' α -pinène, mesurée dans une pièce de 1 m³, diminuait d'un facteur 8 entre le jour 0 et le jour 14. Ce propos ne permet pas de faire une comparaison quantitative en raison des unités différentes mais permet de donner des éléments pour comprendre que la cinétique d'émission peut être extrêmement rapide. Des terpénoïdes tels que le térpinéol est aussi couramment présents dans le bois et peuvent donc être émis par ce matériau (Le Thanh 2015). Dans cette étude ce composé a été détectés à des taux d'émission très faibles (0,001 – 0,06 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$).

Il est important à noter que les émissions du bois dépendent de facteurs endogènes génétiques et biochimiques (ex. type de bois et espèce) ainsi que de facteurs exogènes biotiques et abiotiques tels que conditions de croissance et différents traitements reçus. De même, les terpènes présents au sein du bois peuvent varier considérablement notamment chez les pins. Ces composés ne sont pas distribués de façon homogène au sein du bois des essences résineuses. Ils sont stockés dans des endroits différents créant des sections plus riches en ces composés que d'autres (Pohleven et al. 2019) qui peuvent entraîner une variation dans les composés émis selon la section analysée.

L'information sur les fiches de données de sécurité (FDS) des composés identifiés montrent que certains d'entre eux peuvent être irritants pour les voies respiratoires, comme est le cas du méthylglyoxal et de l'acétone (FDS méthylglyoxal 2014; FDS acétone 2012). Cette dernière peut aussi provoquer des somnolences et vertiges en cas d'inhalation massive (INRS 2003) ce qui n'est pas le cas dans des mesures réalisées ici. Il serait intéressant ainsi d'évaluer si la présence de ces composés dans l'air ambiant contribue à l'augmentation de cas d'allergies, des rhinites, d'asthme ou au syndrome du bâtiment malsain. Les effets lors d'exposition brèves au furfural ou 2-furaldéhyde consistent en une irritation notamment des yeux et de la gorge. Ces manifestations survenaient chez des salariés exposés à une concentration de 200 mg/m³ (50 ppm) pendant 15 minutes. Il semble qu'aucun effet ne soit noté lors d'expositions à 40 mg/m³ (10 ppm) pendant 8 heures ou 80 mg/m³ (20 ppm) pendant 4 heures (INRS 2010).

Un autre aspect important à considérer lors de l'évaluation des émissions en COV des isolants bio-sourcés, qui pourrait avoir aussi un impact sur la santé des occupants, concerne la présence de produits antimicrobiens et anticryptogamiques dans ces matériaux. En effet, des additifs utilisés comme biocides, agents de conservation, retardateur des flammes, plastifiants, entre autres, sont souvent ajoutés aux matériaux afin d'assurer leur durabilité mais sont susceptibles d'entraîner l'émission de composés organiques semi-volatils (COsV) (Ghislain 2016). Les techniques mises en œuvre dans ce travail de thèse ne sont pas adaptées pour la mesure des COsV, toutefois, il serait intéressant de considérer la possibilité de mettre en place ou de développer une méthode pour identifier ce type de composés lors de l'évaluation des émissions des isolants bio-sourcés qui sont de manière générale traités afin d'éviter le développement de micro-organismes.

Ainsi, la caractérisation des COV majoritaires a mis en évidence que les 10 composés réglementaires analysés précédemment ne sont pas nécessairement représentatifs des émissions globales des matériaux. Ce constat est probablement une conséquence du fait que la liste de COV réglementaires a été établie à partir des résultats de la campagne nationale « Logements » qui date d'il y a plus de dix ans (1^{er} octobre 2003 au 21 décembre 2005) et qui a été réalisée sur des bâtiments construits entre 1871 à 2003 intégrant probablement très peu voire aucun matériau bio-sourcé. Toutefois, ces émissions majoritaires peuvent ne pas présenter de risque avéré pour la santé des occupants des bâtiments contrairement aux 10 COV réglementaires (ADEME 2017).

IV.4. Effet de la variation d'HR sur les émissions en COV majoritaires

L'HR peut influencer les émissions de polluants par les matériaux. Par exemple, les produits à base de ouate de cellulose peuvent émettre de l'ammoniac provenant des sels d'ammonium utilisés en tant qu'additifs dans ces produits lorsqu'ils sont exposés à des taux d'HR élevés (90 %) (ANSES 2014). L'émission de COV par les matériaux peut aussi être favorisée par l'HR. Le **Tableau 1-12** (cf. Chapitre 1, partie 5.1.3.3) résume quelques études qui montrent l'effet de l'HR sur les taux d'émission, les concentrations en chambre d'essai d'émission et les coefficients de partition des COV. Elles montrent que les différents essais menés concernant l'effet de l'HR sur les émissions des matériaux n'ont pas toujours abouti à des conclusions convergentes (Blondeau 2008) et ont mis en évidence que cet effet dépend de la combinaison matériau-COV (Lin et al. 2009 ; Liu and Little 2012). Par exemple Haghighat et De Bellis (1998) ont observé que le taux d'émission en COVT d'une peinture acrylique était plus élevé à 32 % d'humidité relative qu'à 62 % mais que celui du vernis augmentait avec le

niveau d'humidité ambiante. De même, cette étude a également révélé que les différents composés ne se comportaient pas tous de la même manière : les émissions en toluène, xylènes et tri-méthylbenzènes étaient plus importantes à 32 % d'humidité relative qu'à 62 % tandis que les taux d'émission de l'éthylbenzène et l'hexanal n'a pas montré des différences entre 32 % et 62 % (Blondeau et al. 2008 ; Blondeau 2009). Dans une autre étude, Fang et al. (1999) ont mesuré les émissions en COV en chambre d'essai d'émission CLIMPAQ de cinq matériaux de construction (moquette, revêtements de sol en PVC, mastic, vernis pour le sol et peinture pour les murs) dans trois conditions d'HR : 30 %, 50 % et 70 %. Pour le vernis et la peinture, les COVT ont augmenté significativement avec l'augmentation d'HR (peinture : 500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ à 30 % et 2000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ à 70 % et vernis : 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ à 30 % et 800 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ à 70 %, les deux résultats à 23 °C). Cependant, pour les autres matériaux l'HR n'a pas eu d'impact sur les concentrations de COV.

Par ailleurs, l'influence de l'HR sur l'émission de formaldéhyde par des produits en bois composite ou panneaux à base de bois contenant des résines UF a été largement étudiée puisque la présence d'une quantité importante de molécules d'eau dans l'air environnant le matériau entraîne l'hydrolyse de ce composé à la surface du matériau (Xiong et al. 2016 ; Liang et al. 2016 ; Frihart et al. 2010 ; Myers 1985). Par exemple, Myers (1985) a observé que l'émission en formaldéhyde d'un panneau à base de bois sans résine UF atteignait une valeur stable après 7 jours d'exposition à 80 % d'HR, tandis que l'émission de ce composé par un panneau de particules avec résine UF continuait à augmenter après 30 jours sans atteindre une concentration de stabilisation. L'étude menée par Andersen et al. (1975) a mis en évidence que le taux d'émission du formaldéhyde émis par un panneau de particules évalué en chambre d'émission a été deux fois plus important avec l'augmentation de l'HR (30 -70 %). Par ailleurs, Huang et al. (2015) ont analysé l'impact de l'HR sur la concentration de formaldéhyde d'un panneau MDF et ils ont observé que la concentration augmentait d'un facteur 12 quand l'HR variait de 20 ± 5 % à 85 ± 5 %.

Compte tenu des objectifs de cette thèse et notamment compte tenu du fait que les protocoles associés à la détermination de la potentialité des matériaux à être le siège du développement de microorganismes prennent en compte des niveaux d'HR très élevés (plus de 80 %), l'objectif de cette partie a été d'évaluer l'effet de ce paramètre sur les taux d'émission des COV des matériaux natifs. Cette évaluation a été réalisée sur 13 COV, qui ont été choisis parce qu'ils représentent des espèces globalement majoritaires, avec des comportements très différents et qui illustrent les comportements d'autres espèces présentant les mêmes types d'évolution. Ensuite, il a été choisi de diviser l'analyse en deux parties afin de pouvoir interpréter les résultats au regard de la variation de l'HR et des caractéristiques physico-chimiques des espèces, présentées dans le **Tableau 4-10**. Dans un premier temps, une

Tableau 4-10. Propriétés physico-chimiques des COV étudiés

(Sources des constantes de Henry : Sander (2015) ; source des autres informations : base de données Pubchem)

Composé	Formule chimique	Masse molaire (g/mol)	Pression de vapeur (mmHg à 25°C)	Point d'ébullition (°C)	Constante de Henry (mol.m ⁻³ .Pa ⁻¹)	Solubilité dans l'eau (mg/L à 25°C)
Formaldéhyde	CH ₂ O	30,03	3,89	-19,1	3,2 x 10 ¹	4 x 10 ⁷ à 20°C
Acétaldéhyde	C ₂ H ₄ O	44,05	902	20,1	1,3 x 10 ⁻¹	1 x 10 ⁶
Acétone	C ₃ H ₆ O	58,08	231	55,75	2,7 x 10 ⁻¹	1 x 10 ⁶
Acide acétique	CH ₃ COOH	60,05	15,7	117,9	4,0 x 10 ¹	1 x 10 ⁶
Méthylglyoxal	C ₃ H ₄ O ₂	72,06	26,7	72	3,2 x 10 ²	≥ 100 mg/ml à 17,2°C
Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96,08	2,21	161,7	7,2 x 10 ⁻²	7,4 x 10 ⁵
Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100,16	11,3	131	3,2 x 10 ⁻²	6 x 10 ³ à 20°C
Benzaldéhyde	C ₇ H ₆ O	106,12	1,27	179	3,8 x 10 ⁻¹	6 x 10 ³
Méthylacetophénone	C ₉ H ₁₀ O	134,17	0,22	226	3,8 x 10 ⁻¹	3,7 x 10 ² mg/L à 15°C
o-Cymène	C ₁₀ H ₁₄	134,22	1,5	178,1	9,0 x 10 ⁻⁴	23,3
D-limonène	C ₁₀ H ₁₆	136,23	1,98	176	4,8 x 10 ⁻⁴	13,8
Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142, 24	0,04	191	1,3 x 10 ⁻²	96
Vanillin	C ₈ H ₈ O ₃	152,15	1,18 x 10 ⁻⁴	285	4,7 x 10 ⁻³	1,1 x 10 ⁴

analyse qui explicite les comportements des espèces au moment de la variation de l'HR de 50 % à 85 % et dans un deuxième temps, une analyse de l'évolution des émissions lorsque l'HR est stabilisée à 85 %.

IV.4.1. Variation des taux d'émission des COV lors de l'évolution de l'humidité relative de 50% à 85 %

Lorsque l'HR varie de 50 % à 85 %, les molécules d'eau augmentent dans l'air environnant le matériau et cette augmentation correspond au passage d'une concentration en eau de 8,23 g/m³ à 17,78 g/m³ d'air sec. Les **Tableaux 4-11 à 4-13** présentent les taux d'émission des COVT et de COV individuels analysés à 50 % d'HR (28 jours) et à 85 % d'HR (après 3 jours à cette humidité relative) pour les trois matériaux étudiés.

Tableau 4-11. Taux d'émission des COV majoritaires émis par l'isolant A (fibres de bois) à 50 % d'HR (28 jours) et à 85 % d'HR (3 jours)

Prélèvement	J _{RH50%+28}			J _{RH85%+3}			Ratio J _{RH85%+3} / J _{RH50%+28}		
Essai	1	2	3	1	2	3	1	2	3
COVT	50,44	32,42	36,64	*	162,12	124,21	*	5,0	3,4
COV majoritaires									
Formaldéhyde	6,61	3,82	5,47	*	7,21	11,37	*	1,9	2,1
Acétaldéhyde	3,07	1,04	1,38	*	3,11	3,87	*	3,0	2,8
Acétone	2,16	1,59	2,05	*	3,51	1,62	*	2,2	0,8
Acide acétique	0,92	0,42	0,75	*	0,49	1,30	*	1,2	1,7
Méthylglyoxal	9,29	3,60	4,60	*	15,03	15,66	*	4,2	3,4
Furfural	5,41	2,24	4,01	*	11,20	6,47	*	5,1	1,6
Hexanal	0,59	0,21	0,02	*	4,90	5,42	*	15	24
Benzaldéhyde	0,19	0,16	0,07	*	5,93	4,74	*	37	68
Nonanal	1,26	0,13	0,16	*	1,24	1,41	*	9,5	8,8
Méthylacetophénone	0,14	0,02	0,10	*	0,26	0,84	*	13	8,4
COV dont les taux d'émissions deviennent quantifiables à 85 % d'HR									
o-Cymène	<LD	<LD	<LD	*	1,04	0,92	*	>260	>230
D-limonène	<LD	<LD	<LD	*	0,86	0,77	*	>215	>192
Vanillin	<LD	<LD	<LD	*	0,25	0,82	*	>63	>205

LD : 0,0004 µg/m²/h ; * : Non renseigné

Tableau 4-12. Taux d'émission des COV majoritaires émis par l'isolant B (fibres de bois + laine de verre) à 50 % d'HR (28 jours) et à 85 % d'HR (3 jours)

Prélèvement	J _{RH50%} +28			J _{RH85%} +3			Ratio J _{RH85%} +3/ J _{RH50%} +28		
Essai	1	2	3	1	2	3	1	2	3
COVT	24,46	28,94	22,52	37,42	61,35	47,74	1,5	2,1	2,1
COV majoritaires									
Formaldéhyde	3,33	3,61	4,14	10,58	6,95	7,41	3,2	1,9	1,8
Acétaldéhyde	0,46	0,39	0,77	1,60	1,12	1,97	3,5	2,9	2,6
Acétone	1,11	1,19	1,30	1,37	1,22	0,88	1,2	1,0	0,7
Acide acétique	1,09	0,96	1,19	2,38	2,41	2,13	2,2	2,5	1,8
Méthylglyoxal	4,90	4,85	5,45	10,75	9,22	7,05	2,2	1,9	1,3
Furfural	1,88	1,72	1,43	2,89	2,32	2,79	1,5	1,3	2,0
Hexanal	0,05	0,08	0,08	1,70	1,55	1,38	34	19	17
Benzaldéhyde	0,04	0,07	0,07	2,52	2,53	2,08	36	36	29
Nonanal	0,06	0,07	0,13	0,61	0,72	0,96	10	10	9,6
COV dont les taux d'émissions deviennent quantifiables à 85 % d'HR									
Vanillin	<LD	<LD	<LD	0,39	0,27	0,49	>97	>67	>122

LD : 0,0004 µg/m²/h

Tableau 4-13. Taux d'émission des COV majoritaires émis par l'isolant C (laine de verre) à 50 % d'HR (28 jours) et à 85 % d'HR (3 jours)

Prélèvement	J _{RH50%} +28	J _{RH85%} +3	Ratio J _{RH85%} +3/ J _{RH50%} +28
Essai	2	2	2
COVT	3,40	4,08	1,2
COV majoritaires			
Formaldéhyde	0,20	0,22	1,1
Acétaldéhyde	4,04	4,69	1,2
Acétone	0,15	0,12	0,8

LD : 0,0004 µg/m²/h

Les résultats montrent que la variation d'HR de 50 % à 85 % entraîne l'augmentation des taux d'émission des COVT. Dans le cas de l'isolant C (laine de verre), qui est un matériau considéré comme inerte, très peu émissif et sur lequel les moisissures ne se développent pas, les émissions sont très peu impactées par l'HR. Ainsi, Il est possible de constater que les COVT augmentent mais très légèrement pour ce matériau lorsque l'HR varie de 50 % à 85 % (de 3,40 µg/m²/h à 4,08 µg/m²/h). Quant aux isolants bio-sourcés, l'effet de l'HR sur les émissions est beaucoup plus important. L'impact sur les taux d'émission de COVT est

moins fort (augmentation d'un facteur 1,5-2,1) pour l'isolant B qui est un mélange des fibres de bois et laine de verre que pour l'isolant A qui est composé majoritairement de fibres de bois (augmentation est d'un facteur 3,4-5,0). Ainsi, l'analyse de l'effet de l'HR sur les émissions en COV individuels sera centrée sur les résultats de l'isolant A.

La variation d'HR a entraîné l'augmentation de taux d'émission de tous les COV individuels étudiés, ce qui est en opposition avec certaines études mentionnées précédemment (cf. partie 4) où il a été observé que l'HR pourrait avoir un impact différent selon le COV et/ou le matériau étudié. Nos résultats mettent en évidence que la variation d'HR de 50 % à 85 % a eu un impact relativement faible (augmentation d'un facteur 1 à 5) sur les taux d'émission du formaldéhyde, de l'acétaldéhyde, de l'acétone, de l'acide acétique, du méthylglyoxal et du furfural et un impact beaucoup plus important (facteur 8 à ≈ 260) sur les taux d'émission de l'hexanal, le benzaldéhyde, le nonanal, le méthylacetophénone, l'o-cymène, le D-limonène et la vanilline. L'interprétation des résultats va donc s'attacher à apporter des éléments d'interprétation pour expliquer les espèces identifiées comme faiblement influencées ou fortement influencées par l'effet de l'HR.

Dans un premier temps, pour **les espèces faiblement influencées**, il apparaît que de manière générale les interprétations qui peuvent être apportées sont que lorsque les concentrations en molécules d'eau augmentent significativement dans l'air environnant le matériau, elles entrent en compétition avec les COV antérieurement présents sur les sites d'adsorption à la surface de celui-ci. La compétition a lieu d'abord avec ces composés hydrophiles qui sont antérieurement adsorbés sur les sites du matériau pour lesquels les molécules d'eau ont plus d'affinité (Fang et al. 1999 ; Lin et al. 2009).

Dans le cadre de notre étude, les COV hydrophiles et les molécules d'eau entrent en compétition pour les sites d'adsorption disponibles à la surface du matériau pendant les 28 jours que le matériau a été exposé à 50 % puisque c'est déjà une ambiance contenant une quantité très importante de molécules d'eau. Ces composés correspondent au formaldéhyde, à l'acétaldéhyde, à l'acétone, à l'acide acétique, au méthylglyoxal et au furfural qui présentent les taux d'émission les plus élevés à cette humidité initiale (50 %). Ce sont des composés très légers et très volatils qui présentent des faibles masses molaires (entre 30,3 et 72 g/mol), des fortes pressions de vapeur (entre 3,89 et 902 mmHg à 25°C) et des faibles points d'ébullition (entre -19,1 et 117,9 °C), ce qui fait que la partition de ces molécules entre le matériau et l'air soit favorable à la phase gazeuse. Le formaldéhyde, l'acide acétique et le méthylglyoxal présentent des constantes de Henry élevées ($3,2 \times 10^2$, $4,0 \times 10^1$ et $3,2 \times 10^2$ mol.m⁻³. Pa⁻¹) et elles sont plus faibles pour l'acétaldéhyde et l'acétone ($1,3 \times 10^{-1}$ et $2,7 \times 10^{-1}$ mol.m⁻³. Pa⁻¹).

Pour résumer, il est possible d'indiquer que lorsque l'HR augmente à 85 %, les taux d'émission de ces composés (hydrophiles) varient moins comparativement aux autres espèces (plus hydrophobes) parce que l'équilibre phase adsorbée-phase gazeuse a déjà été impacté antérieurement et qu'ils ont été émis pendant 28 jours à RH = 50 %.

A noter que dans la bibliographie, plusieurs études portant le même type d'espèces ont reporté des résultats similaires. Ainsi, Liang et al. (2016) ont observé que la concentration de formaldéhyde émis par un panneau MDF (24,5 cm x 14 cm x 0,12 cm) en chambre d'émission (57 L) variait d'un facteur 1,3 lorsque l'HR varie de 50 ± 5 % à 80 ± 5 % d'HR. L'échantillon a été exposé 12 h à 20 ± 5 %, 12 h à 30 ± 5 % d'HR et 12 h à 50 ± 5 % avant que l'HR varie à 80 ± 5 %. Dans l'étude de Xu et Zhang (2011), l'effet de l'HR sur la concentration du formaldéhyde émis par du silicate de calcium en chambre d'essai d'émission (18 L) a été analysé. Ils ont observé que la concentration de ce composé a varié d'un facteur 1,04-1,07 lorsque l'HR a augmenté de 50 % à 80 % (essais séparés). Dans le cadre de notre étude, le taux d'émission du formaldéhyde a présenté une augmentation d'un facteur 1,9-2,1 suite à la variation de l'HR de 50 % à 85 %.

En ce qui concerne l'acétaldéhyde, Suzuki et al. (2014) ont évalué l'émission de ce composé par 6 panneaux à base de bois dans 3 conditions d'HR : 20, 50 et 80 % (28°C, chambre d'essai de 20 L). Ils ont observé que les taux d'émission ont été plus élevés à 80 % d'HR (entre 15 et 44 µg/m²/h) qu'à 50 % (entre 10 et 32 µg/m²/h) et 20 % (entre 9 et 21 µg/m²/h) pour tous les matériaux. Les taux d'émission ont varié d'un facteur 1,2 à 1,7 lorsque l'HR a augmenté de 50 % à 80 %. Ce qui reste relativement proche de ce qui a été observé dans le cadre de notre étude pour ce composé (augmentation du taux d'émission d'un facteur 2,8-3,0 entre 50 % et 85 % d'HR). Par ailleurs, Fang et al. (1999) ont observé que le taux d'émission de l'acétone, émis par du mastic et mesuré en chambre d'essai d'émission CLIMPAQ, a augmenté d'un facteur 1,3 lorsque l'HR a varié de 50 % à 70 % (23°C). Ce résultat est en accord avec les deux résultats de notre étude pour ce composé pour lequel les taux d'émission ont augmenté d'un facteur 2,2 (essai 2) et 0,8 (essai 3) avec la variation d'HR de 50 % à 85 %.

Dans un deuxième temps, lorsque la disponibilité de sites d'adsorption à la surface du matériau diminue en raison du nombre important de molécules d'eau présentes dans l'air à la surface du matériau, ces dernières vont entrer en compétition avec des COV plus hydrophobes et plus lourds qui étaient probablement plus fortement adsorbés à la surface du matériau et qui sont les **espèces fortement influencées** par l'effet de l'HR. Il s'agit des COV pour lesquels les taux d'émission étaient très faibles voire inférieurs à la LD lorsque le matériau a été exposé à un flux d'air à 50 % d'HR. Selon les résultats obtenus, il s'agit de l'hexanal, le

benzaldéhyde, le nonanal, le méthylacetophénone, l'o-cymène, le D-limonène et le vanillin et il est possible de constater que leurs taux d'émission sont fortement impactés par la variation d'HR (facteur 8 à ≈ 260). Ces composés présentent de masses molaires plus élevées (entre 100,16 et 152,15 g/mol), des faibles pressions de vapeur (entre $1,18 \times 10^{-4}$ à 11,3 mmHg à 25°C) et des points d'ébullitions élevés (131 à 285°C) et des plus faibles constantes de Henry (constantes de Henry entre $3,8 \times 10^{-1}$ et $4,7 \times 10^{-3} \text{ mol.m}^{-3} \cdot \text{Pa}^{-1}$).

Ainsi, une variation drastique de la concentration en molécules d'eau dans l'air comme c'est le cas quand l'HR passe de 50 % à 85 %, peut avoir un impact sur les propriétés d'adsorption des composés. Blondeau (2009) a observé que la quantité de COV adsorbées sur un échantillon de plancher était 30 % plus faibles à 80 % d'HR qu'en condition d'atmosphère sèche. En effet, l'HR peut voir une influence sur l'équilibre d'adsorption/désorption entre le COV et le matériau. Xu et Zhang (2011) ont évalué l'effet de l'HR (25 %, 50 %, et 80 %) sur le coefficient de partition (K_p) du toluène, qui est très hydrophobe, avec une constante de Henry de $1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.m}^{-3} \cdot \text{Pa}^{-1}$, sur des échantillons de silicate de calcium en chambre d'émission. Ils ont observé le K_p du toluène a diminué avec l'augmentation de l'HR de 25 % à 80 %. Cette hypothèse peut être avancée pour expliquer le comportement des composés hydrophobes dans notre étude.

En conclusion, la variation d'HR de 50 % à 85 % a un effet sur les taux d'émission des COV parce que les molécules d'eau rentrent en compétition avec les composés sur les sites d'adsorption présents à la surface du matériau. Cette compétition est plus importante sur les COV qui présentent des masses molaires élevées, des pressions de vapeur faibles et des point d'ébullition élevés comme le benzaldéhyde, l'hexanal et le nonanal, pour lesquels les taux d'émission ont augmenté de façon significative (facteur 8 à 68) entre $J_{RH50\%+28}$ et $J_{RH85\%+3}$, et des composés tels que l'o-cymène, le D-limonène et le vanillin pour lesquels les taux d'émission deviennent quantifiables à $J_{RH85\%+3}$ avec par conséquent des augmentations très importantes d'un facteur $>63-260$.

IV.4.2. Comportements des taux d'émission des COV durant 28 jours à 85 % d'HR

Dans cette partie, l'évolution des émissions pendant 28 jours à 85 % d'HR a été analysée. Selon les résultats, les émissions ont suivi trois comportements : augmentation graduelle, diminution progressive et augmentations-diminutions aléatoires (Tableaux 4-13 à 4-15).

Tableau 4-13. Taux d'émission ($\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) des COV à 85 % d'HR durant 28 jours – ISOLANT A

Humidité relative				50 %	85 %				
Prélèvement				J+28	J+3	J+7	J+14	J+28	
Augmentation graduelle	Acide acétique	Essai	1	0,92	*	3,91	6,02	8,41	
			2	0,42	0,49	3,28	8,25	10,24	
			3	0,75	1,32	2,26	9,46	12,42	
	Méthylglyoxal		1	9,29	*	20,21	21,43	22,27	
			2	3,61	15,03	21,43	23,55	24,39	
			3	4,61	15,66	16,48	23,84	24,12	
Diminution progressive	A partir de $J_{RH85\%}+7$	Formaldéhyde	1	6,61	*	4,38	4,24	3,18	
			2	3,82	7,21	6,84	3,85	2,95	
			3	5,47	11,37	8,41	6,33	3,73	
		Furfural	1	5,41	*	7,98	5,58	5,38	
			2	2,24	11,21	5,06	4,45	2,14	
			3	4,01	6,47	6,83	5,51	3,93	
		Hexanal	1	0,59	*	1,72	0,88	0,38	
			2	0,21	4,91	2,51	1,56	0,12	
			3	0,02	5,42	2,11	0,76	0,61	
		Benzaldéhyde	1	0,19	*	3,52	0,85	0,17	
			2	0,16	5,93	4,04	0,95	0,11	
			3	0,07	4,74	2,27	0,61	0,08	
	A partir de $J_{RH85\%}+14$	Acétaldéhyde	1	3,07	*	6,72	4,26	4,13	
			2	1,04	3,11	7,37	4,56	2,75	
			3	1,38	3,87	6,12	4,77	2,71	
		Acétone	1	2,16	*	3,66	1,91	0,19	
			2	1,59	3,51	6,96	1,16	0,22	
			3	2,05	1,62	5,68	3,35	0,93	
Augmentations-diminutions aléatoires	Méthylacétophénone	Essai	1	0,14	*	1,28	0,15	0,34	
			2	0,02	0,26	0,43	0,20	0,24	
			3	0,10	0,84	0,85	0,72	0,43	
	o-Cymène		1	<LD	*	1,35	0,32	0,45	
			2	<LD	1,04	1,58	0,38	1,19	
			3	<LD	0,92	1,19	0,54	1,17	
	D-limonène		1	<LD	*	1,08	0,79	0,72	
			2	<LD	0,86	0,76	0,82	0,76	
			3	<LD	0,77	0,98	1,02	0,16	
	Nonanal		1	1,26	*	2,31	1,22	1,54	
			2	0,13	1,24	1,32	0,86	1,08	
			3	0,16	1,41	2,04	1,43	1,53	
	Vanillin		1	<LD	*	1,19	1,02	1,12	
			2	<LD	0,25	0,41	0,25	0,31	
			3	<LD	0,82	1,13	0,38	0,48	

LD : 0,0004 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$

*Non renseigné

Tableau 4-14. Taux d'émission ($\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) de COV à 85 %d'HR durant 28 jours – ISOLANT B

Humidité relative				50 %	85 %				
Prélèvement				J+28	J+3	J+7	J+14	J+28	
Augmentation graduelle		Acide acétique	Essai	1	1,09	2,38	*	3,25	3,31
				2	0,96	2,41	3,35	3,93	4,23
				3	1,19	2,13	3,82	4,28	4,31
		Méthylglyoxal		1	4,91	10,75	*	13,38	17,84
				2	4,85	9,22	12,66	14,55	15,85
				3	5,45	7,05	9,27	10,48	12,03
Diminution progressive	A partir de $J_{RH85\%}+7$	Formaldéhyde	Essai	1	3,33	10,58	*	6,13	3,57
				2	3,61	6,95	3,42	3,14	1,85
				3	4,14	7,41	7,14	5,51	4,08
		Furfural		1	1,88	2,89	*	2,23	1,26
				2	1,72	2,32	1,16	1,91	1,17
				3	1,43	2,97	2,66	2,31	0,77
		Hexanal	Essai	1	0,05	1,71	*	0,84	0,45
				2	0,08	1,55	0,34	0,37	0,29
				3	0,08	1,38	0,55	0,29	0,18
		Benzaldéhyde	Essai	1	0,04	2,52	*	0,98	0,52
				2	0,07	2,53	1,27	0,86	0,12
				3	0,07	2,08	1,28	0,56	0,76
	A partir de $J_{RH85\%}+14$	Acétaldéhyde	Essai	1	0,46	1,61	*	1,85	1,21
				2	0,39	1,12	1,49	0,35	0,81
				3	0,77	1,77	1,93	1,29	0,96
		Acétone	Essai	1	1,11	1,37	*	0,29	0,09
				2	1,19	1,22	1,52	0,45	0,49
				3	1,32	0,88	1,43	1,29	1,16
Augmentations-diminutions aléatoires		Vanillin	Essai	1	<LD	0,39	*	0,51	0,46
				2	<LD	0,27	1,14	0,45	0,38
				3	<LD	0,49	1,88	1,25	1,07

LD : 0,0004 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$

*Non renseigné

Tableau 4-15. Taux d'émission ($\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) de COV à 85 % d'HR durant 28 jours – ISOLANT C

Humidité relative				50 %	85 %				
Prélèvement				J+28	J+3	J+7	J+14	J+28	
Diminution à partir de $J_{RH85\%}+7$	Formaldéhyde	Essai	1	0,20	*	*	*	*	
			2	0,22	0,22	0,17	0,09	0,05	
Diminution à partir de $J_{RH85\%}+14$	Acétaldéhyde	Essai	1	4,04	*	*	*	*	
			2	4,69	5,69	5,20	2,98	1,74	
	Acétone	Essai	1	0,15	*	*	*	*	
			2	0,12	0,25	1,03	0,14	0,09	

LD : 0,0004 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$

*Non renseigné

A. Augmentation graduelle :

Une ambiance à 85 % d'HR maintenue pendant 28 jours a eu un impact significatif sur les taux d'émission de l'**acide acétique** et du **méthylglyoxal** qui ont augmenté tout au long de l'essai. Ces résultats montrent que l'émission de ces composés qui sont les plus hydrophiles (40 et 320 $\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{Pa}^{-1}$) est favorisée lorsque l'HR se stabilise à 85 %. L'hypothèse la plus probable est que les molécules d'eau (très nombreuses dans l'air environnant le matériau) entrent en compétition avec les COV hydrophiles présents sur les sites d'adsorption potentiellement disponibles à la surface du matériau et entraîneraient le déplacement de l'équilibre d'adsorption vers la phase gazeuse sans « épuisement » de la source d'émission durant les 28 jours de l'essai.

B. Diminution progressive :

Les taux d'émission de 6 composés (**formaldéhyde, furfural, hexanal, benzaldéhyde, acétaldéhyde** et **acétone**) ont diminué lorsque le matériau a été exposé à 85 % d'HR.

Pour l'acétaldéhyde et l'acétone, les taux d'émission ont augmenté jusqu'à $J_{RH85\%}+14$ pour ensuite commencer à diminuer et la diminution entre $J_{RH85\%}+14$ et $J_{RH85\%}+28$ (fin de l'essai) a été beaucoup plus importante pour l'acétone (facteur 6-32) que pour l'acétaldéhyde (facteur 2,3-2,7). A 28 jours, les taux d'émission de l'acétaldéhyde ne reviennent pas à des valeurs similaires ou inférieures à celles mesurées à 50 % (28 jours), et le cas inverse a été observé pour l'acétone.

Les taux d'émission du formaldéhyde, du furfural, de l'hexanal et du benzaldéhyde ont atteints leurs valeurs maximales au jour 7 et ils commencent à diminuer jusqu'à des valeurs inférieures à celles mesurées à 50 % d'HR. Cette diminution entre $J_{RH85\%}+7$ et $J_{RH85\%}+28$ a été plus faible pour le formaldéhyde et le furfural (facteur 1 à 5) que pour l'hexanal et le benzaldéhyde (facteur 9 à 59).

A l'exception du formaldéhyde, ces composés présentent des constantes de Henry relativement proches et intermédiaires (entre $1,3 \times 10^{-1}$ et $7,2 \times 10^{-2} \text{ mol.m}^{-3} \cdot \text{Pa}^{-1}$) par rapport aux valeurs des autres composés suivis, mais l'acétaldéhyde et l'acétone ont des solubilités dans l'eau très supérieures ($1 \times 10^6 \text{ mg/L}$) à celles du furfural, de l'hexanal et du benzaldéhyde ($7,4 \times 10^5$, 6×10^3 et $3,7 \times 10^2 \text{ mg/L}$), ce qui pourrait expliquer le fait que ces deux composés soient émis pendant une durée plus longue (jusqu'à 14^{ème} jour).

Comme le formaldéhyde est un COV très hydrophile, avec une constante de Henry de $32 \text{ mol.m}^{-3} \cdot \text{Pa}^{-1}$, on pourrait s'attendre à ce que l'évolution de l'émission suive un comportement proche de celui observé pour l'acide acétique et le méthylglyoxal, à savoir une augmentation graduelle et assez constante. Or, le formaldéhyde a une solubilité dans l'eau qui est 40 fois plus élevée que celle de l'acide acétique et du méthylglyoxal. Ainsi, il est probable qu'une partie soit solubilisée au sein des molécules d'eau probablement présentes sous forme de film à la surface du matériau. Blondeau (2009) et Bouilly et al. (2006) ont observé que certains polluants tels que le formaldéhyde et l'acétone pouvaient s'absorber sur la phase liquide de l'eau et que ce phénomène dépend de la quantité d'eau condensée et de la solubilité des espèces dans l'eau.

C. Augmentations-diminutions aléatoires :

L'impact de l'HR à 85 % maintenu durant 28 jours a eu un impact moins important sur la méthylacétophénone, l'o-cymène, le D-limonène, le nonanal et le vanillin. Les taux d'émission mesurés pour ces composés ont montré des comportements relativement aléatoires avec des augmentations et diminutions plus ou moins importantes (facteur 0,7 à 6) au cours des 28 jours. Les taux d'émission sont cependant restés très faibles pour tous les composés (entre $0,16$ à $2,04 \mu\text{g/m}^2/\text{h}$). Ces composés qui sont très hydrophobes, avec de constantes de Henry très faibles (entre $1,3 \times 10^{-2}$ à $9 \times 10^{-4} \text{ mol.m}^{-3} \cdot \text{Pa}^{-1}$) à l'exception du méthylacétophénone ($3,8 \times 10^{-1} \text{ mol.m}^{-3} \cdot \text{Pa}^{-1}$) qui semblent ne pas être très affectés par la présence de nombreuses molécules d'eau dans l'air et à la surface du matériau en opposition à ce qui a pu être observé pour des composés suivant les comportements présentés précédemment.

Les études expérimentales sur l'effet de l'HR sur les émissions de COV portent surtout sur la mesure des concentrations ou des taux d'émission à différents niveaux d'HR sans analyser leurs évolutions à des valeurs d'HR élevées pendant de périodes longues. Pourtant, les résultats obtenus dans cette étude montrent que l'HR peut impacter les taux d'émission des COV différemment lorsque les émissions mesurées immédiatement après la variation et lorsque leur évolution dans le temps est évaluée.

IV.4.3. Suivi des cinétiques d'émissions de 3 COV

Afin de suivre de manière bien plus précise l'évolution des émissions des matériaux lors de la variation de l'humidité relative de l'air environnant le matériau, les taux d'émission de 3 COV (acide acétique, furfural et cymène) ont été suivis en continu à l'aide d'un l'analyseur automatique (chromatotec AIRMOVOC C₆C₁₂). Ces composés ont été choisis parce qu'ils appartiennent à des familles chimiques différentes, présentant ainsi des caractéristiques chimiques très différentes, et parce qu'ils ont mis en évidence des comportements qui diffèrent lorsque l'évolution des émissions a été évaluée à partir des prélèvements ponctuels. Les **Figures 4-1** et **4-2** montrent les résultats obtenus pour les deux isolant bio-sourcés. Des difficultés ont été rencontrées lors de l'intégration des pics chromatographiques correspondant à l'acide acétique, c'est pourquoi la cinétique de ce composé n'a pas pu être présentée pour l'isolant B.

Ces résultats montrent que les émissions de ces 3 composés suivent des cinétiques différentes. D'une part, le taux d'émission de l'acide acétique augmentent pendant 28 jours et d'autre part, les taux d'émission du furfural et de l'o- cymène augmentent puis diminuent. La cinétique du furfural est pourtant beaucoup plus rapide que celle de l'o-cymène parce que le taux d'émission du furfural augmente de manière très importante (facteur 17) en 3 jours puis diminue très rapidement pendant 11 jours avant d'atteindre une concentration qui ne diminue plus que très progressivement ($\approx 0,7 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{jour}$) à partir du 14^{ème} jour sans cependant revenir à la valeur du taux d'émission quantifiée après 28 jours d'exposition à 50 % d'HR. L'o-cymène, quant à lui, présente une cinétique moins intense et plus lente parce que le taux d'émission atteint la valeurs maximal ($0,6 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) en plus de temps (16 jours).

L'observation de l'évolution de ces concentrations indicatrices des taux d'émission des matériaux semblent mettre en évidence un « épuisement » de ces matériaux pour des espèces telles que le furfural, l'o-cymène mais montrent également que pour des espèces comme l'acide acétique les émissions se poursuivent à des niveaux importants pendant une durée relativement longue.

Les études portant sur l'effet de l'HR sur les émissions en COV et l'ensemble de résultats de notre étude montrent que différents mécanismes peuvent se mettre en place lorsque les molécules d'eau et les COV interagissent et que cela dépend à la fois du matériau, mais aussi du COV et probablement aussi des valeurs du taux d'humidité. En conséquence, l'analyse globale des phénomènes mis en place devient très complexe et il ne semble pas possible de

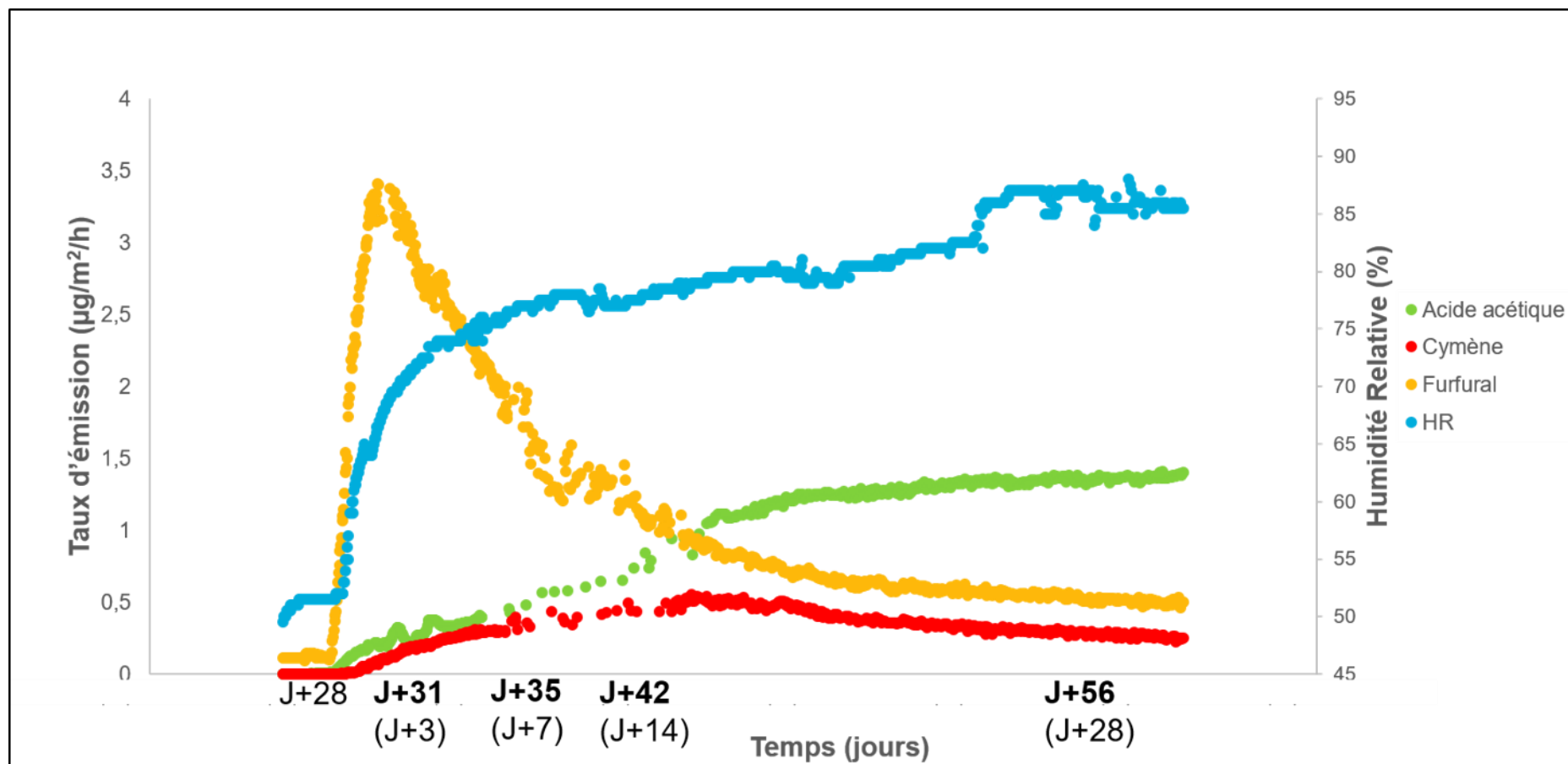


Figure 4-2. Cinétique de l'émission de l'acide acétique, du furfural et du cymène – Isolant A (fibres de bois)

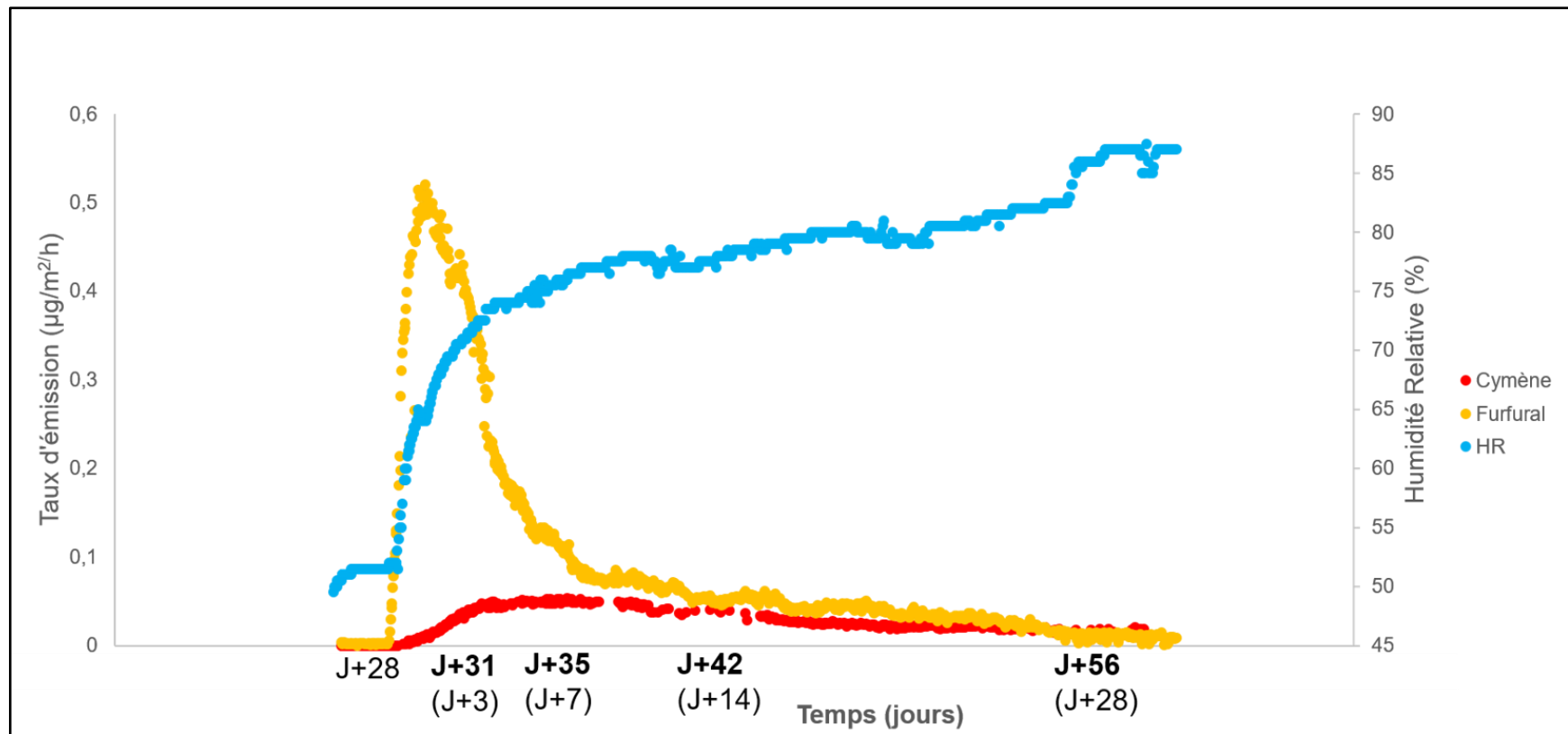


Figure 4-3 Cinétique de l'émission du furfural et du cymène – Isolant B (fibres de bois + laine de verre)

mettre en place des modélisations « simples » des phénomènes observés qui pourraient permettre de prévoir l'évolution de ces taux d'émission en fonction des paramètres environnementaux tels que certains auteurs le suggèrent. Ainsi, certains auteurs considèrent que la vapeur d'eau pourrait et devrait être considérée comme une espèce (polluante) à part entière et non pas comme un paramètre environnemental (Blondeau 2009).

IV.5. Conclusions

Dans ce chapitre dédié spécifiquement à l'étude des émissions de COV de deux matériaux biosourcés en comparaison avec les matériaux conventionnels telle que les laines minérales, en premier lieu, les COVT et les 10 COV réglementaires définis dans l'arrêté du 19 avril de 2011 relatif à l'étiquetage des émissions des matériaux ont été analysés. Les résultats ont mis en évidence que les taux d'émission des COVT mesurés pour l'isolant A, qui est un matériau composé majoritairement de fibres de bois, ont été supérieurs (entre 32 et 50 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) à ceux de l'isolant B qui est un mélange de fibres de bois et de laine de verre (entre 22 et 24 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). Quant à l'isolant C (laine de verre) les émissions en COVT ont été très faibles (3,4 et 3,7 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). Ces résultats montrent que les isolant bio-sourcés sont plus émissifs que la laine de verre mais les valeurs en COVT obtenus pour ces matériaux restent cependant très faibles vis-à-vis de la valeur limite pour l'obtention de la note globale « A+ » de l'étiquetage (478 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). En ce qui concerne les 10 COV réglementaires, seuls le formaldéhyde et l'acétaldéhyde ont été détectés pour les trois matériaux. Les taux d'émissions de l'acétaldéhyde ont été très faibles (entre 0,46 et 4,04 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) vis-à-vis de la valeur limite de la note « A+ » de l'étiquetage (96 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). En revanche, les taux d'émission du formaldéhyde, mesurés pour l'isolant A (fibres de bois), ont été légèrement supérieurs (entre 5,09 et 6,61 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) à la valeur limite de la note « A+ » pour ce composé (5 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$), ce qui affecte la note globale « A+ » pour ce matériau. Pour l'isolant B (fibres de bois + laine de verre) et l'isolant C (laine de verre), les taux d'émission ont été inférieurs à 5 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$ (entre 0,20 et 4,14 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$). Ils sont donc classés « A+ ». Les notes globales des trois matériaux sont en accord avec celles présentées sur leurs fiches techniques.

Ces résultats ont également mis en évidence une variabilité des résultats entre les essais d'un même lot du matériau probablement engendrée par les délais très importants entre les essais (entre 2 mois et 11 mois). Compte tenu de la durée très longue des manipulations, une expérience pour évaluer la variabilité amenée par ces écarts temporels n'a pas pu être mise en place mais ceci aurait été important pour évaluer cette variabilité. Ainsi, il s'avère judicieux de réaliser les essais consécutivement pour réduire les différences des résultats que les écarts temporels peuvent entraîner.

En second lieu, les COV majoritairement émis par les matériaux et d'autres COV d'intérêt ont été caractérisés. Les résultats ont mis en évidence que les émissions majoritaires des matériaux bio-sourcés correspondent à des COV de C_1 et C_{11} avec une prédominance des composés appartenant à la famille des aldéhydes. Les taux d'émission des composés ont varié entre 0,01 et 9,29 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$. En ce qui concerne la laine de verre, seuls 3 COV ont été identifiés : le formaldéhyde, l'acétaldéhyde et l'acétone, à des taux d'émission entre 0,20 et 4,04 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$. Ces résultats reflètent que les émissions majoritaires de ces matériaux ne correspondent pas aux 10 composés réglementaires, ce qui montre que ces composés ne sont pas nécessairement une bonne référence pour évaluer les émissions en COV des matériaux bio-sourcés. C'est pourquoi il serait important de considérer la possibilité d'adapter la réglementation existante aux émissions effectives des matériaux bio-sourcés tout en gardant à l'esprit le potentiel impact sanitaire des espèces d'intérêt.

Enfin, l'effet de la variation d'HR de 50 % à 85 % sur les émissions COV a été évalué. L'impact immédiat (3 jours après la variation de 50 % à 85 % d'HR) a été analysé et il a été observé que les taux d'émission des COVT augmentent pour les trois matériaux. Quant aux COV individuels, ils ont montré un comportement identique lorsque l'HR évolue de 50 % à 85 %. C'est-à-dire que pour toutes les espèces et tous les matériaux il a été toujours observé une augmentation de taux d'émission donc un déplacement de l'équilibre vers la phase gazeuse lorsque la concentration de molécules d'eau dans l'air a doublé. Cette augmentation a été plus importante (facteur 8 à ≈ 260) sur les taux d'émission des COV les plus hydrophobes que sur ceux des COV hydrophiles (facteur 1 à 5). Ces résultats montrent que les molécules d'eau entrent en compétition préférentiellement avec les COV les plus hydrophobes probablement parce que les sites d'adsorption sont potentiellement moins disponibles compte tenu que l'échantillon a déjà été soumis pendant 28 jours à un environnement à 50 % d'HR où la quantité de molécules d'eau dans l'air environnant le matériau était déjà à un niveau de l'ordre de 8 g/m^3 d'air sec. Lorsque l'HR est maintenue à 85 % durant 28 jours, les émissions ont suivi trois comportements : augmentation graduelle, diminution progressive et augmentations-diminutions aléatoires. Dans ce cas, il a été constaté que l'émission des espèces telles que l'acide acétique et le méthylglyoxal se poursuit tout au long de l'essai (28 jours) et que l'émission d'autres composés comme le furfural, l'acétaldéhyde, l'acétone, l'hexanal, et le benzaldéhyde commence à montrer une décroissance au 7^{ème} ou 14^{ème} jour. Ces résultats mettent clairement en évidence la complexité des phénomènes élémentaires mis en jeu pour expliquer le phénomène global « d'émission » d'un matériau et le fait qu'il est impératif pour comprendre et modéliser l'émission d'un matériau d'avoir une approche non seulement « matériau dépendant » mais aussi « COV dépendant » intégrant des caractéristiques propres à chaque espèce.

Afin de suivre plus précisément les cinétiques d'émission des matériaux au regard de la variation de l'HR de l'air environnant le matériau, les taux d'émission de l'acide acétique, du furfural et de l'o-cymène ont été mesurés à l'aide d'un analyseur automatique. Les résultats ont mis en évidence que l'acide acétique (très hydrophile) suit un profil d'émission d'augmentation sans décroissance alors que le furfural (moyennement hydrophile) et l'o-cymène (hydrophobe) présentent des cinétiques de croissance puis décroissance. Pour le furfural la décroissance a été plus rapide et plus intense que pour l'o-cymène.

IV.6. Références

ADEME

2017 Comparaison Des Émissions de COV Dans l'air Intérieur Par Les Produits Biosourcés Utilisés Dans Le Bâtiment.

Andersen, Ib, G.R. Lundqvist, and L. Mølhave

1975 Indoor Air Pollution Due to Chipboard Used as a Construction Material. *Atmospheric Environment* (1967) 9(12): 1121–1127.

ANSES

2014 Avis de l'ANSES Relatif à Une Proposition de Restriction Des Sels d'ammonium Utilisés Dans La Fabrication de Ouates de Cellulose. <https://www.anses.fr/fr/system/files/REACH2014re0001.pdf>.

ASPA

2007 Le Formaldéhyde, Un Poison Domestique? Association Pour La Surveillance et l'étude de La Pollution Atmosphérique En Alsace. http://www.atmo-alsace.net/medias/produits/Le_formaldehyde_un_pois.pdf.

Baumann, Melissa G D, and Stuart A Batterman

1999 Terpene Emissions from Particleboard and Medium-Density Fiberboard Products. *FOREST PRODUCTS JOURNAL* 49(1): 8.

Blondeau, P

2009 Caractérisation et Modélisation Des Transports de Polluants Dans Les Environnements Intérieurs. Rapport HDR. Université de la Rochelle. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00351567/document>.

Blondeau, P, A Tiffonnet L, F Allard, and F Haghighat

2008 Physically-Based Modelling of the Material and Gaseous Contaminant Interactions in Buildings: Models, Experimental Data and Future Developments. *Advances in Building Energy Research*: 57–94.

Bouilly, C, F Allard, P Blondeau, et al.

2006 A Physically-Based Analysis of the Interactions between Humidity and VOCs in Building Materials. *In* . Proceedings of the Healthy Buildings International Conference.

Bulian, Franco, and Cristiano Fragassa

2016 VOC Emissions from Wood Products and Furniture: A Survey about Legislation, Standards and Measures Referred to Different Materials. *FME Transaction* 44(4): 358–364.

Commission Européenne

2007 Report N°26. Impact of Ozone-Initiated Terpene Chemistry on Indoor Air Quality and Human Health. European Commission- Joint Research Centre - Institute for Health and Consumer Protection. Physical and Chemical Exposure Unit. <http://web.jrc.ec.europa.eu/pce/hei08-ecareps.html>.

Fang, L, G Clausen, and O Fanger

1999 Impact of Temperature and Humidity on Chemical and Sensory Emissions from Building Materials. *Indoor Air*: 193–201.

FCBA

2013 Caractérisation Des Émissions de COV et de Formaldéhyde Par Des Panneaux à Base de Bois Représentatifs Des Productions Françaises. Etude “UIPP ISO 16000.”

[https://www.codifab.fr/media/download-](https://www.codifab.fr/media/download-file?media_nid=1038&media_file_uri=public%3A//secured/rapport_iso_16000_emissions_panneaux_v2.pdf&media_file_mimetype=application/pdf)

[file?media_nid=1038&media_file_uri=public%3A//secured/rapport_iso_16000_emissions_panneaux_v2.pdf&media_file_mimetype=application/pdf](https://www.codifab.fr/media/download-file?media_nid=1038&media_file_uri=public%3A//secured/rapport_iso_16000_emissions_panneaux_v2.pdf&media_file_mimetype=application/pdf).

FDS acétone

2012 Fiche de Données de Sécurité de l'acétone. Centres Antipoison et Toxicovigilance. Paris.

[http://www.centres-](http://www.centres-antipoison.net/paris/DIU_Tox_Med_2017_2018/20171208/DIU_Tox_Med_2017_18_S_Cavezza_FDS_Acetone.pdf)

[antipoison.net/paris/DIU_Tox_Med_2017_2018/20171208/DIU_Tox_Med_2017_18_S_Cavezza_FDS_Acetone.pdf](http://www.centres-antipoison.net/paris/DIU_Tox_Med_2017_2018/20171208/DIU_Tox_Med_2017_18_S_Cavezza_FDS_Acetone.pdf).

FDS méthylglyoxal

2014 Fiche de Données de Sécurité Du Méthylglyoxal Selon 1907/2006/CE, Article 31. Matériel de Laboratoire En France Carl Roth.

https://www.carlroth.com/downloads/sdb/fr/6/SDB_6399_FR_FR.pdf.

FFB

2018 Rapport - QAI: Enjeux et Bonne Pratiques Pour Les Métiers Du Bâtiment.

http://www.occitanie.ffbatiment.fr/Files/pub/Fede_N00/FFB_PUBLICATION_3349/eff5c3ff-13d5-47fd-a1b6-f414b4ab3c64/PJ/Guide-qualite-air-interieur.pdf.

Frihart, C, J Wescott, M Birkeland, and K Gonner

2010 Formaldehyde Emissions Form ULEF- and NAF-Bonded Commercial Hardwood Plywood as Influenced by Temperature and Relative Humidity. *In* . Proceeding or the International Convention of Society of Wood Science and Technology and United Nations Economic Commision for Europe-Timber Comittee. October 11-14, Geneva, Switzerland.

Ghislain, Mylène

2016 Thèse - Développement d'un Outil Innovant de Mesure in-Situ de Composés Organiques Semi-Volatils Emis Par Les Matériaux - Contribution à l'évaluation de La Qualité de l'air Intérieur. Université de Pau et des Pays de l'Adour.

Haghighat, Fariborz, and Lisa De Bellis

1998 Material Emission Rates: Literature Review, and the Impact of Indoor Air Temperature and Relative Humidity. *Building and Environment* 33(5): 261–277.

Harb, P., N. Locoge, and F. Thevenet

2018 Emissions and Treatment of VOCs Emitted from Wood-Based Construction Materials: Impact on Indoor Air Quality. *Chemical Engineering Journal* 354: 641–652.

Huang, H, F Haghighat, and P Blondeau

2006 Volatile Organic Compound (VOC) Adsorption on Material: Influence of Gas Phase Concentration, Relative Humidity and VOC Type. *Indoor Air*(16): 236–247.

Huang, Shaodan, Jianyin Xiong, and Yinping Zhang

2015 The Impact of Relative Humidity on the Emission Behaviour of Formaldehyde in Building Materials. *Procedia Engineering* 121: 59–66.

INRS

2003 Fiche Toxicologique N°3: Acétone. Edition 2003.

<http://monsieur.bareilles.free.fr/5eme/solvants/acetone-ft3.pdf>.

2009 Le Nouveau Système de Classification et d'étiquetage Des Produits Chimiques. Dossier Médico-Technique.

2010 Fiche Toxicologique. 2-Furaldéhyde.

http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_40.

Journal officiel de la république française n°0111 du 13 mai 2011, texte 15, arrêté du 19 avril 2011

2011 Arrêté Du 19 Avril 2011 Relatif à l'étiquetage Des Produits de Construction Ou de Revêtements de Mur Ou de Sol et Des Peintures et Vernis Sur Leurs Émissions de Polluants Volatils. <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000023991852&categorieLien=id>.

Koivula, Minna, Hanna-Riitta Kymäläinen, Jari Virta, et al.

2005 Emissions from Thermal Insulations—Part 2: Evaluation of Emissions from Organic and Inorganic Insulations. *Building and Environment* 40(6): 803–814.

Le Thanh, Kim

2015 Thèse - Espèces Condensables Issues de Torrefaction de Biomasses Lignocellulosiques: Caractérisation Aux Échelles Laboratoire et Pilote. Université de Toulouse. <https://agritrop.cirad.fr/582103/1/These%20LeThanh.pdf>.

Liang, Weihui, Mengqiang Lv, and Xudong Yang

2016 The Effect of Humidity on Formaldehyde Emission Parameters of a Medium-Density Fiberboard: Experimental Observations and Correlations. *Building and Environment* 101: 110–115.

Lin, Chi-Chi, Kuo-Pin Yu, Ping Zhao, and Grace Whei-May Lee

2009 Evaluation of Impact Factors on VOC Emissions and Concentrations from Wooden Flooring Based on Chamber Tests. *Building and Environment* 44(3): 525–533.

Liu, Z, and JC Little

2012 Materials Responsible for Formaldehyde and Volatile Organic Compounds (VOC) Emissions. *In Toxicity of Building Materials*. 1st edition P. 512.

Manninen, Anne-Marja, Pertti Pasanen, and Jarmo K. Holopainen

2002 Comparing the VOC Emissions between Air-Dried and Heat-Treated Scots Pine Wood. *Atmospheric Environment* 36(11): 1763–1768.

Maskell, D, C.F Da Silva, K Mower, et al.

2015 Properties of Bio-Based Insulation Materials and Their Potential Impact on Indoor Air Quality. First International Conference on Bio-Based Building Materials. https://purehost.bath.ac.uk/ws/portalfiles/portal/108856257/Properties_of_bio_based_insulation_materials_and_their_potential_impact_on_indoor_air_quality.pdf.

MTES

2019 Rapport: Dispositifs d'étiquetage: Bonnes Pratiques et Écueils à Éviter. Cas Des Produits Polluant l'air Intérieur. <https://www.ecologique-solidaire.gouv.fr/sites/default/files/Th%C3%A9ma%20-%20Dispositifs%20d%E2%80%99%C3%A9tiquetage.pdf>.

Myers, George E

1985 The Effects of Temperature and Humidity on Formaldehyde Emission from UF-Bonded Boards: A Literature Critique 35(9): 12.

OQAI

2002 Hierarchisation Sanitaire Des Paramètres Dans Les Bâtiments Par l'OQAI. Rapport Final.

2007 Campagne Nationale Logements. Etat de La Qualité de l'air Dans Les Logements Français. Rapport Final. http://www.oqai.fr/userdata/documents/Document_133.pdf.

Pohleven, Jure, Michael Burnard, and Andreja Kutnar

2019 VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS EMITTED FROM UNTREATED AND THERMALLY MODIFIED WOOD - A REVIEW. *Wood and Fiber Science* 51(3): 231–254.

Règlement n° 1272

2008 Règlement N° 1272/2008 Du 16/12/08 Relatif à La Classification, à l'étiquetage et à

l'emballage Des Substances et Des Mélanges, Modifiant et Abrogeant Les Directives 67/548/CEE et 1999/45/CE N° 1907/2006. https://aida.ineris.fr/consultation_document/30200.

Risholm-Sundman, M., M. Lundgren, E. Vestin, and P. Herder
1998 Emissions of Acetic Acid and Other Volatile Organic Compounds from Different Species of Solid Wood. *Holz Als Roh- Und Werkstoff* 56(2): 125–129.

Roffael, Edmone
2006 Volatile Organic Compounds and Formaldehyde in Nature, Wood and Wood Based Panels. *Holz Als Roh- Und Werkstoff* 64(2): 144–149.

Sander, R.
2015 Compilation of Henry's Law Constants (Version 4.0) for Water as Solvent. *Atmospheric Chemistry and Physics* 15(8): 4399–4981.

Sassoli, M, C Taiti, W Guidi Nissim, et al.
2017 Characterization of VOC Emission Profile of Different Wood Species during Moisture Cycles. *IForest - Biogeosciences and Forestry* 10(3): 576–584.

Suzuki, Masaki, Hiroshi Akitsu, Kohta Miyamoto, Shin-ichiro Tohmura, and Akio Inoue
2014 Effects of Time, Temperature, and Humidity on Acetaldehyde Emission from Wood-Based Materials. *Journal of Wood Science* 60(3): 207–214.

Wang, Kai-li, Bo Wang, Ruibo Hu, et al.
2019 Characterization of Hemicelluloses in *Phyllostachys Edulis* (Moso Bamboo) Culm during Xylogenesis. *Carbohydrate Polymers* 221: 127–136.

Xiong, J., P Zhang, S Huang, and Y. Zhang
2016 Comprehensive Influence of Environmental Factors on the Emission Rate of Formaldehyde and VOCs in Building Materials: Correlation Development and Exposure Assessment. *Environmental Research*: 734–741.

Xu, Jing, and Jianshun S. Zhang
2011 An Experimental Study of Relative Humidity Effect on VOCs' Effective Diffusion Coefficient and Partition Coefficient in a Porous Medium. *Building and Environment* 46(9): 1785–1796.

Yrieix, Christophe, Alina Dulaurent, Caroline Laffargue, et al.
2010 Characterization of VOC and Formaldehyde Emissions from a Wood Based Panel: Results from an Inter-Laboratory Comparison. *Chemosphere* 79(4): 414–419.

Yrieix, Christophe, François Maupetit, and Olivier Ramalho
2012 Rapport- Determination of VOC Emissions from French Wood Products. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00688527/document>.

Zhang, Jijuan, Feifei Song, Jing Tao, Zhongfeng Zhang, and Sheldon Q. Shi
2018 Research Progress on Formaldehyde Emission of Wood-Based Panel. *International Journal of Polymer Science* 2018: 1–8.

Zhang, Jinsong, and Qingyan Chen
2002 Effects of Environmental Conditions on the VOC Sorption by Building Materials - Part I: Experimental Results (RP-1097): 21.

Chapitre 5. Identification des COV associés au développement de moisissures

V.1.Introduction

L'évaluation de la contamination fongique dans les environnements intérieurs est très importante puisque la présence de moisissures peut dégrader la qualité de l'air et éventuellement impacter la santé des occupants. Cependant, les méthodes fréquemment utilisées permettent uniquement la détection de contaminations visibles et donc globalement à des stades très avancés de développement. C'est pourquoi d'autres approches se basant sur l'analyse des molécules « marqueurs » du développement fongique telles que l'ergostérol, les β -glucanes ou les COVm ont été développées. La présence de ces molécules dans les environnements intérieurs pourraient indiquer la présence des contaminations fongiques cachées (croissance derrière une cloison ou un meuble, ou dans les systèmes de ventilation par exemple) ou récentes sans signe visible de développement sur les surfaces et peu de spores dans l'air (Moularat et al. 2011 ; Lacaze et al. 2019).

Les COV émis par les moisissures sont issus du métabolisme primaire ou secondaire et appartiennent à des nombreuses familles chimiques : alcènes, alcools, aldéhydes, cétones, composés aromatiques, esters et terpènes. L'émission de ces composés joue un rôle important dans les interactions des moisissures avec leur habitat naturel puisque ces molécules peuvent être impliquées dans la communication moisissures – moisissures, moisissures – bactéries, moisissures – plantes entre autres (Cottier et Mühlschlegel, 2012). Des nombreux chercheurs se sont intéressés à l'identification de ces composés à partir des échantillons contaminés artificiellement en laboratoire et/ou des prélèvements réalisés dans des habitations pouvant présenter une contamination fongique (cf. Chapitre 1, partie 5.2.1).

Concernant *Aspergillus niger* (souche utilisée en tant qu'agent de contamination dans ces travaux), les émissions correspondent principalement à des composés C_8 tels que le 1-octen-3-ol, le 3-octanone et le 3-octanol (Fiedler et al. 2001). Dans l'étude de Matysik et al. (2009) les COV émis par une souche d'*Aspergillus niger* sur milieu de culture ont été caractérisés et 9 composés ont été identifiés : 2-méthylfurane, 3-méthylfurane, 2-méthyl-1-propanol, 3-méthyl-1-butanol, 2-méthyl-1-butanol, 1-octen-3-ol, 2-pentanone, cyclohexanone et ethyl acetate. Des hydrocarbures et des composés terpeniques ont été également identifiés dans d'autres études concernant la caractérisation des émissions de cette souche.

Dans ce chapitre, l'identification de COV pouvant être associés au développement d'*Aspergillus niger* sur les isolants bio-sourcés a été réalisée. Tout d'abord, la description de la méthodologie développée pour cette identification sera décrite et explicitée. Ensuite, les résultats obtenus à partir de la recherche des 14 COVm par leurs temps de rétention et leurs ions spécifiques et par superposition de chromatogrammes des échantillons des matériaux

non contaminés et des matériaux sur lesquels le développement de moisissures est avéré seront présentés. Enfin, une comparaison entre la chambre d'émission CLIMPAQ, utilisée pour l'évaluation des émissions en COV des matériaux natifs, et la chambre d'exposition dédiée à l'évaluation de la croissance de moisissures et la caractérisation de COVm sera réalisée.

V.2. Développement d'une méthodologie d'identification des COV d'origine fongique

V.2.1. Système expérimental

Un préleveur automatique SyPAC (TERA-Environnement) a été associé au système expérimental d'exposition des matériaux destiné à l'évaluation de la résistance de ces derniers au développement de moisissures, décrit dans le **Chapitre 3** (partie 3.1) (Figure 5-1). L'HR et la température ont été maintenues à $85 \% \pm 5$ et $26^{\circ}\text{C} \pm 2$, respectivement (valeurs préconisées dans la méthode d'essai développée par (Le Bayon et al. 2015)). La chambre d'exposition a été balayée en continu avec de l'air zéro (600 mL/min) durant tout l'essai. Ce choix a été fait suite à un essai préliminaire pour quantifier les COV dans la chambre d'émission sans balayage d'air zéro qui a conduit à l'obtention de chromatogrammes très chargés révélateurs de la présence de nombreux COV dans la chambre d'émission.

Un cristalliseur rempli d'eau a été placé à l'intérieur de l'enceinte pour maintenir l'HR à la valeur indiquée précédemment. Dans la suite du chapitre, ce système expérimental qui permet à la fois l'ensemencement des matériaux par aérosolisation sèche et l'échantillonnage des COVm, sera appelé « chambre d'essai d'émission COVm ».

V.2.2. Déroulement de l'essai

L'essai est composé de trois étapes principales : **conditionnement** du matériau, **ensemencement** du matériau et période de **croissance fongique** (Figure 5-2).

- **Conditionnement de l'échantillon (18 jours)** : l'objectif de cette première partie de l'essai était de caractériser les COV émis par les matériaux en absence de moisissures. Pour ce faire, des prélèvements à J+3, J+7 et J+14 ont été réalisés durant cette phase.

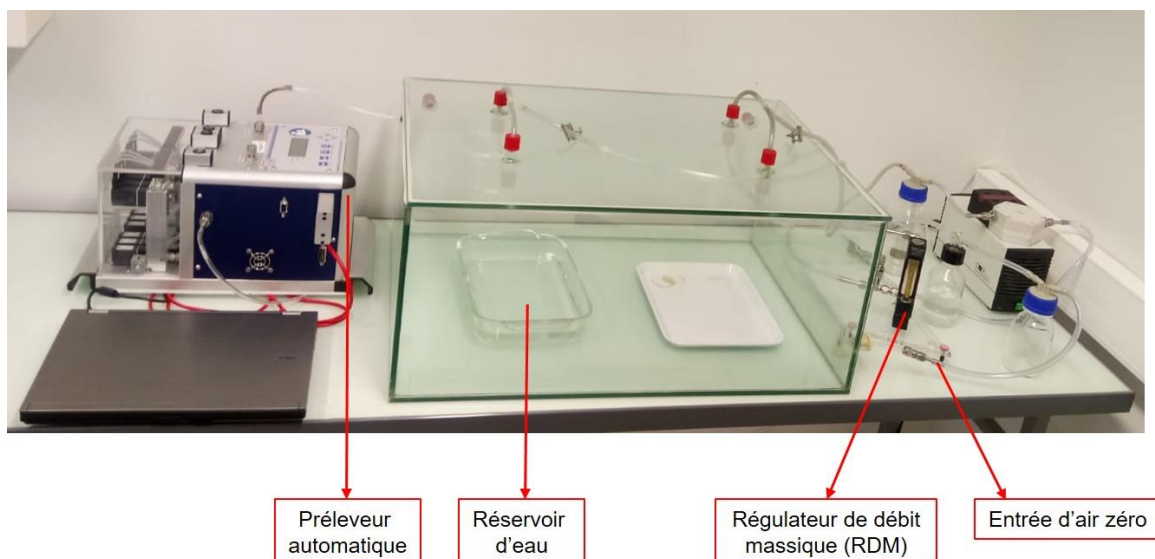


Figure 5-1. « Chambre d'essai d'émission COVm » : système expérimental destinée à l'évaluation de COV d'origine microbien

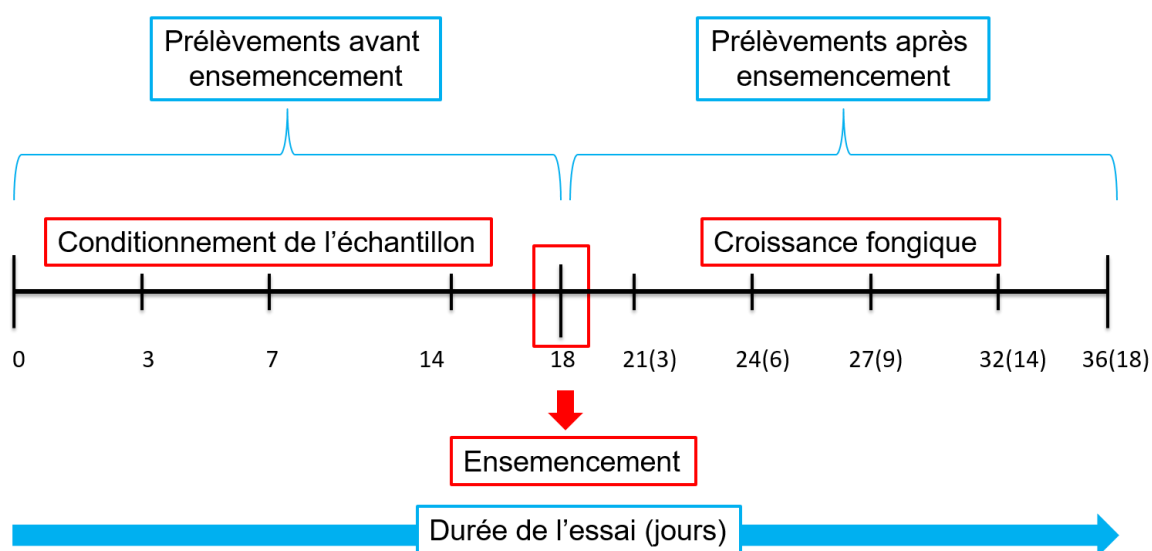


Figure 5-2. Déroulement de l'essai (36 jours) pour évaluer les COV associés au développement de moisissures. Jours après l'ensemencement en parenthèse.

Ces temps de prélèvements ont été choisis afin de rester en accord avec ce qui a été réalisé lors de la caractérisation de COV émis par les matériaux non ensemencés à 85 % d'HR dans la chambre d'essai d'émissions CLIMPAQ (cf. Chapitre 4). Un prélèvement a été également réalisé au dernier jour de cette étape de conditionnement (J+18). Ce sont les chromatogrammes obtenus pour ce prélèvement qui ont été utilisés par la suite pour la comparaison avec les chromatogrammes des matériaux sur

lesquelles le développement des colonies a été observé. Ils ont été choisis parce que ce sont les derniers chromatogrammes obtenus durant le conditionnement du matériau. Afin de vérifier s'ils sont représentatifs des émissions, l'ensemble de chromatogrammes obtenus à J+3, J+7 et J+14 a été évalué et il a été observé qu'ils présentent une réelle cohérence en termes d'espèces identifiées et de taux d'émission quantifiés avec la mesure à J+18. La seule observation a été une diminution des concentrations représentative de la diminution qui est observée lors de toute mise en conditionnement d'un matériau dans une chambre d'exposition.

- **Ensemencement de l'échantillon par aérosolisation sèche** : le matériau a été contaminé par aérosolisation sèche des spores suivant les étapes décrites dans le **Chapitre 3**, partie 3.3.
- **Croissance des colonies (18 jours)** : pendant cette période de développement des colonies, cinq prélèvements ont été réalisés à 3, 6, 9, 14 et 18 jours après l'ensemencement. L'objectif était de prélever à différents moments de la croissance (germination, développement du mycélium et sporulation) pour élargir les possibilités d'identifier des COV microbiens. Les colonies d'*Aspergillus niger*, lorsqu'elles se sont développées, ont acquis la coloration noire typique de la phase de sporulation après une semaine d'incubation.

V.2.3. Démarche analytique

Les 14 COVm ciblés (cf. Chapitre 2, partie 5) ont été recherchés spécifiquement sur les chromatogrammes de matériaux sans contamination correspondant à la première partie de l'essai (J+3, J+7 et J+14) parce qu'il était primordial d'évaluer, dans un premier temps, si ces COVm sont ou non émis par les matériaux natifs. Dans un deuxième temps, la recherche a été mise en place sur les chromatogrammes obtenus pour les matériaux présentant un développement fongique qui correspondent à la seconde partie de l'essai (J+21, J+24, J+27, J+32 et J+36).

Par la suite, l'analyse a été réalisée par superposition de chromatogrammes. Pour ce faire, les chromatogrammes associés aux émissions des matériaux sans contamination obtenus lors des prélèvements réalisés au jour 18 de conditionnement (J+18) ont été superposés avec tous ceux obtenus aux différents moments de croissance (J+21, J+24, J+27, J+32 et J+36) afin d'identifier des potentiels « nouveaux » composés ou bien des composés dont les concentrations augmentent de façon très significative (facteur 10 ou plus).

V.3. Identification des émissions en COV associées à la croissance d'*Aspergillus niger* sur les isolants bio-sourcés

V.3.1. Identification de 14 COV d'origine fongique à partir des temps de rétention et ions spécifiques

La recherche des 14 COVm ciblés réalisée sur les chromatogrammes relatifs aux matériaux sans développement fongique obtenus lors des essais dans la chambre d'essai d'émission COVm, n'a conduit à la détection d'aucun de ces 14 composés.

Ainsi, afin de vérifier que ces composés ne sont effectivement pas émis par les matériaux natifs, une recherche a été effectuée sur les chromatogrammes des matériaux obtenus lors de essais mis en place dans la chambre d'essai d'émission CLIMPAQ, présentés dans le **Chapitre 4** (partie 4, émissions des matériaux à 85 % d'HR). 5 composés ont été identifiés : le 1-butanol, le 2-hexanone, le 2-heptanone, le 2-nonanone et le bornéol). Les **Tableaux 5-1** et **5-2** présentent les concentrations ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) de ces composés, mesurés sur les 3 essais de l'isolant A (fibres de bois) et les trois essais de l'isolant B (fibres de bois + laine de verre). Il est important à noter que parfois l'identification, par recherche à partir du spectre de masse, pour les pics chromatographiques correspondant aux temps de rétention de ces 5 COVm conduisait au nom exact du composé recherché mais parfois elle conduisait uniquement à l'identification des composés de structures chimiques très proches. Par ailleurs, une reconstruction des chromatogrammes sur les ions spécifiques de ces 14 COVm a été réalisée. A partir de cette reconstruction, il a été possible de détecter ces 5 composés sur certains essais où ils n'étaient pas présents lorsqu'ils ont été recherchés sur la base de leur temps de rétention sur le chromatogramme reconstruit à partir du courant ionique total. De plus, Il est à noter que les autres 9 COVm visés n'ont pas pu être mis en évidence même en mettant en œuvre cette recherche sur la base de leurs ions spécifiques. Cependant, la quantification ne se faisant qu'à partir du signal FID en équivalent toluène compte tenu de la diversité des espèces (cf. Chapitre 2, partie 4.3.3.2), un composé visible à partir d'une recherche en ions spécifiques sur les chromatogrammes associés à la détection en spectrométrie de masse peut devenir « visible » mais rester inférieur à la LD. Dans ce cas, l'appellation « VIS<LD » qui veut dire « visible en ions spécifiques mais inférieur à la LD » a été utilisée dans les tableaux.

Tableau 5-1. Concentrations ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) des COVm caractérisés sur les essais des matériaux « natifs » dans la chambre d'émission CLIMPAQ

Essai	1				2				3			
Prélèvement	J+3	J+7	J+14	J+28	J+3	J+7	J+14	J+28	J+3	J+7	J+14	J+28
1-butanol	*	0,032	0,015	0,019	0,014	0,011	VIS<LD**	VIS<LD	VIS<LD	VIS<LD	VIS<LD	VIS<LD
2-hexanone	*	0,015	0,043	0,008	0,016	0,023	0,026	0,014	0,035	0,046	0,025	0,008
2-heptanone	*	0,145	0,147	0,069	0,141	0,014	Abs	Abs	0,436	0,026	VIS<LD	VIS<LD
2-nonanone	*	0,065	0,044	0,038	0,259	0,026	0,299	0,019	0,309	0,162	0,027	0,010
Bornéol	*	1,414	0,308	0,437	0,093	0,026	0,100	0,256	0,036	0,159	0,021	0,012

*Non renseigné ; **Visible en ions spécifiques mais inférieur à la LD ; Abs : Absent ; LD : $0,001 \mu\text{g}/\text{m}^3$

Tableau 5-2. Concentrations ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) des COVm caractérisés sur les essais des matériaux « natifs » dans la chambre d'émission CLIMPAQ

Essai	1				2				3			
Prélèvement - Jour	J+3	J+7	J+14	J+28	J+3	J+7	J+14	J+28	J+3	J+7	J+14	J+28
1-butanol	0,056	0,044	0,021	0,006	0,011	*	0,007	VIS<LD	0,026	0,014	0,007	VIS<LD
2-hexanone	0,014	0,007	VIS<LD	VIS<LD	Abs	*	0,007	Abs	Abs	Abs	0,008	0,012
2-heptanone	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	*	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Bornéol	0,193	0,043	0,013	0,008	0,237	*	0,020	0,131	0,059	0,033	0,019	0,011

*Non renseigné ; Visible en ions spécifiques mais inférieur à la LD; Abs : Absent ; LD ; LD : $0,001 \mu\text{g}/\text{m}^3$

Certains de ces 5 composés ont été également associés aux émissions des matériaux de construction en absence de moisissures dans d'autres études. Ainsi, dans l'étude de Koivula et al. (2005), les COV émis par des matériaux bio-sourcés à base de paille, lin, chanvre et bois recyclé ont été caractérisés. Le 2-heptanone et le 2-hexanone ont été identifiés sur les émissions des échantillons des matériaux à base de bois recyclé. Par ailleurs, le bornéol est un COV qui peut être émis par le bois (Baumann et Batterman, 2000). Le 1-butanol a été caractérisé à partir des émissions d'un panneau en bois ($5,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$) à 28 jours d'exposition en cellule d'émission FLEC. De plus, d'autres composants des environnements intérieurs peuvent aussi être à l'origine des composés associés au métabolisme fongique. Par exemple, le 1-butanol a été détecté parmi les COV émis par trois ordinateurs portables ($16 - 466 \mu\text{g}/\text{m}^3$) et un téléphone portable ($49 \mu\text{g}/\text{m}^3$) dans l'étude de Funaki et al. (2003) et de manière générale, c'est un composé qui peut être associé à des nombreuses sources en air intérieur. De plus, d'autres organismes tels que les bactéries peuvent émettre également du bornéol ainsi que du 2-hexanone (Garcia-Alcega et al. 2017).

Lorsque tous les chromatogrammes relatifs aux matériaux natifs à la fois dans chambre d'essai d'émission COVm et dans la chambre d'essai d'émission CLIMPAQ ont été analysés, la recherche de ces 14 COVm ciblés sur la base de leurs temps de rétention et ions spécifiques, a été mise en place sur les chromatogrammes des matériaux présentant un développement fongique (deuxième partie des essais présentés dans ce chapitre mis en place dans la chambre d'essai d'émission COVm). Cette recherche n'a pas abouti à la détection de ces 14 composés sur ces chromatogrammes associés matériaux sur lesquels un développement a eu lieu. Probablement les couples moisissure/matériau étudiés n'entraînent pas nécessairement l'émission de ces COV malgré le fait qu'ils soient souvent associés au développement d'*Aspergillus niger* ou bien à la présence d'une contamination fongique générale dans des environnements (cf. Chapitre 2, partie 5).

Ces résultats reflètent la difficulté de l'établissement d'une empreinte chimique fongique basée sur l'émission de COV, d'abord parce que les composés émis par une combinaison moisissure/matériau peuvent s'avérer très spécifiques, et ensuite parce que d'autres sources telles que les matériaux de construction eux-mêmes peuvent être à l'origine de l'émission de COV potentiellement associés au métabolisme fongique.

V.3.2. Identification des COV d'origine fongique par superposition de chromatogrammes

Comme cela a été mentionné dans le **Chapitre 2** (partie 5), la démarche analytique par comparaison de chromatogrammes consiste à superposer les chromatogrammes des matériaux natifs et des matériaux avec développement de moisissures pour identifier les COV qui peuvent être associés au métabolisme fongique. Cette analyse permet de déterminer les « nouveaux » composés qui apparaissent et les composés (émis aussi par le matériau natif) dont la concentration augmente très significativement lorsque les moisissures se développent sur le matériau.

Ainsi, à partir de la mise en place de cette démarche d'analyse, 15 COV de C₆ à C₁₀ (4 alcanes, 5 alcènes, 2 diènes, 1 terpène, 1 acide carboxylique 1 aldéhyde et 1 alcool) ont été identifiés (Tableau 5-3). 12 de ces composés représentent de « nouveaux » COV qui sont apparus lorsqu'il y avait développement de moisissures et qui étaient absents sur les chromatogrammes à J+18. Il a été vérifié que ces composés ont été également absents à J+3, J+7 et J+14. Les concentrations de ces « nouveaux » composés ont été comprises entre 0,005 et 0,329 µg/m³. Les autres trois espèces (méthyl hexane, diméthyl heptène et 2-éthyl-1-hexanol) ont été détectées sur les essais des matériaux avant contamination et leur concentration a augmenté de manière très significative (facteur 10-500) lorsque le développement fongique a eu lieu. Leurs concentrations sur les chromatogrammes des matériaux présentant un développement de colonies ont été comprises entre 0,035 et 6,990 µg/m³. Pour ces composés, des concentrations avant ensemencement, à J+3, J+7 et J+14, étaient comprises entre 0,014 et 1,045 µg/m³.

Sur la totalité des 14 COV, 5 de ces composés ont été détectés sur les **trois essais** mis en place pour l'isolant A (fibres de bois), 2 composés sur les **deux essais** mis en place pour l'isolant B (fibres de bois + laine de verre) et 5 composés sur l'ensemble des essais des deux isolants.

Tableau 5-3. Concentrations ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) de 14 COVm potentiellement microbiens identifiés dans la chambre COVm

Temps de rétention (minutes)	Composé	Formule chimique	Isolant	Concentration avant l'ensemencement				Concentration après l'ensemencement				
				J+3	J+7	J+14	J+18	J+21	J+24	J+27	J+32	J+36
11,6	Méthyl pentène	C_6H_{12}	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	0,281±0,038	0,081±0,205	<LD
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
17,8	3-Méthyl hexane	C_7H_{16}	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
			B (n=2)	1,045±0,059	0,436±0,014	0,072±0,009	0,014±0,005	0,173±0,065	0,418±0,092	6,990±0,121	0,230±0,084	0,067±0,004
18,3	Diméthyl cyclopentane	C_7H_{14}	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	0,005±0,002	<LD	<LD
18,5	Méthyl heptène	C_8H_{16}	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	<LD	0,322±0,011	0,016±0,009	0,009±0,006
24,6	Méthyl heptène	C_8H_{16}	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	0,019±0,023	0,101±0,015	<LD	<LD
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	<LD	0,010±0,002	<LD	<LD
24,9	Méthyl hexadiène	C_7H_{12}	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	<LD	0,088±0,011	<LD	<LD
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	0,010	0,073±0,038	<LD	<LD
25,4	Méthyl cyclohexène	C_7H_{12}	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	0,068±0,001	0,130±0,012	<LD	<LD
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	<LD	0,061±0,031	<LD	<LD
25,5	Méthyl heptane	C_8H_{18}	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	0,019±0,021	0,329±0,016	<LD	<LD
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	<LD	0,016±0,009	<LD	<LD
25,7	Diméthyl hexadiène	C_8H_{14}	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	<LD	0,019±0,012	<LD	<LD
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
31,3	Triméthyl cyclohexane	C_9H_{16}	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	<LD	0,300±0,102	0,019±0,009	Abs
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Tableau 5-3. Concentrations ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) de 14 COVm potentiellement microbiens identifiés dans la chambre COVm (suite)

Temps de rétention (minutes)	Composé	Formule chimique	Isolant	Concentration avant l'ensemencement				Concentration après l'ensemencement				
				J+3	J+7	J+14	J+18	J+21	J+24	J+27	J+32	J+36
32,1	2,4-Diméthyl 1-heptène	C_9H_{18}	A (n=3)	0,175±0,007	0,098±0,015	0,018±0,006	0,015±0,010	0,035±0,009	0,081±0,005	1,511±0,126	1,145±0,112	0,411±0,063
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
47	2 éthyl -1 hexanol	$\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}$	A (n=3)	1,028±0,022	0,713±0,120	0,678±0,098	0,412±0,025	1,928±0,008	2,030±0,265	4,122±0,078	0,169±0,096	0,117±0,085
			B (n=2)	0,546±0,128	0,236±0,010	0,211±0,136	0,198±0,039	0,824±0,025	1,580±0,085	3,097±0,115	2,045±0,169	0,130±0,023
52,7	Linalol	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	0,039±0,011	0,189±0,007	<LD	<LD
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
57,9	Acide octanoïque	$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_2$	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	0,029±0,022	0,075±0,112	<LD	<LD
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
61	Diméthyl benzaldéhyde	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}$	A (n=3)	Abs	Abs	Abs	Abs	<LD	<LD	<LD	<LD	0,032±0,006
			B (n=2)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Abs : Absent ; LD : 0,001 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

Trois extraits de chromatogrammes (Figures 5-3 à 5-5) qui illustrent parfaitement les résultats qui ont été obtenus à partir de la superposition de chromatogrammes du matériau avant et après développement fongique soit lorsque des « nouveaux » composés ont été identifiés soit lorsque les concentrations augmentent drastiquement.

La **Figure 5-3** présente deux COV : le triméthyl cyclohexane (TR = 31,33 minutes) et le 2,4-diméthyl-1-heptène (TR = 32,12 minutes) identifiés sur un des chromatogrammes correspondant à J+27, soit 9 jours après l'ensemencement sur l'isolant A (fibres des bois). Le triméthyl cyclohexane n'était pas présent sur les chromatogrammes du matériau avant ensemencement mais il est détecté sur les chromatogrammes correspondant à 3, 6, 9 et 14 jours de croissance (soit J+21, J+24, J+27 et J+32). Il a été quantifiable à 9 (J+27) et 14 (J+32) jours de croissance et entre ces deux jours sa concentration diminue d'un facteur 16. A 18 jours (J+36) de croissance il n'est plus détecté. Le 2,4-diméthyl-1-heptène, quant à lui, est émis par le matériau natif (isolant A) et sa concentration augmente très significativement dans la deuxième partie de l'essai correspondant à la croissance fongique. Le pic numéro 2 montre le cas où l'augmentation a été la plus importante (facteur 100).

Ce résultat a été choisi parce qu'il montre une bonne reproductibilité compte tenu qu'il est présent sur les trois essais de l'isolant A (fibres de bois) et parce qu'il présente les deux résultats des COV potentiellement microbien obtenus par superposition de chromatogrammes, donc un « nouveau » COV et un COV dont la concentration augmente d'une manière très significative.

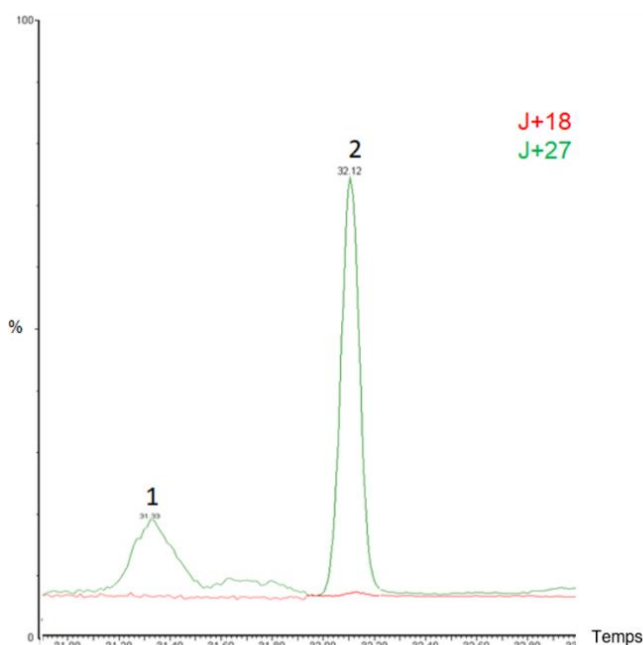


Figure 5-3. COVm identifiés à 31, 33 et 32,12 minutes sur les chromatogrammes obtenus des essais de l'isolant A

La **Figure 5-4** est un résultat obtenu sur les deux essais de l'isolant B (fibres de bois + laine de verre). Le composé 1 correspond au méthyl hexane (TR = 17,8 minutes) qui a été détecté sur les chromatogrammes relatifs aux émissions du matériau natif et dont la concentration a augmenté très significativement sur les chromatogrammes du matériau avec développement fongique. Dans ce cas, la concentration a augmenté d'un facteur 500 entre le jour 18 avant ensemencement (en rouge) et le jour 9 de croissance, soit J+27 (en vert). Le composé 2 est le diméthyl cyclopentane (TR = 18,3 minutes), qui a montré un comportement différent du triméthyl cyclohexane (composé 1 de la figure précédente) parce qu'il n'a pas été détecté dans les premiers jours de croissance (J+21 et J+24), il est quantifié uniquement à J+27 tandis qu'à J+32 et J+36 il n'est plus quantifiable mais continue à être détecté. Enfin, le pic 3 correspond au méthyl heptène (TR = 18,5), qui a été détecté sur tous les chromatogrammes après l'ensemencement, mais il n'a été quantifiable qu'à partir de J+27.

Ce résultat est important parce qu'il est reproductible sur deux essais (isolant B) et parce que il présente un très bon exemple des COV pour lesquels la concentration augmente très drastiquement (facteur 500 en 9 jours) lorsque les moisissures se développent sur le matériau.

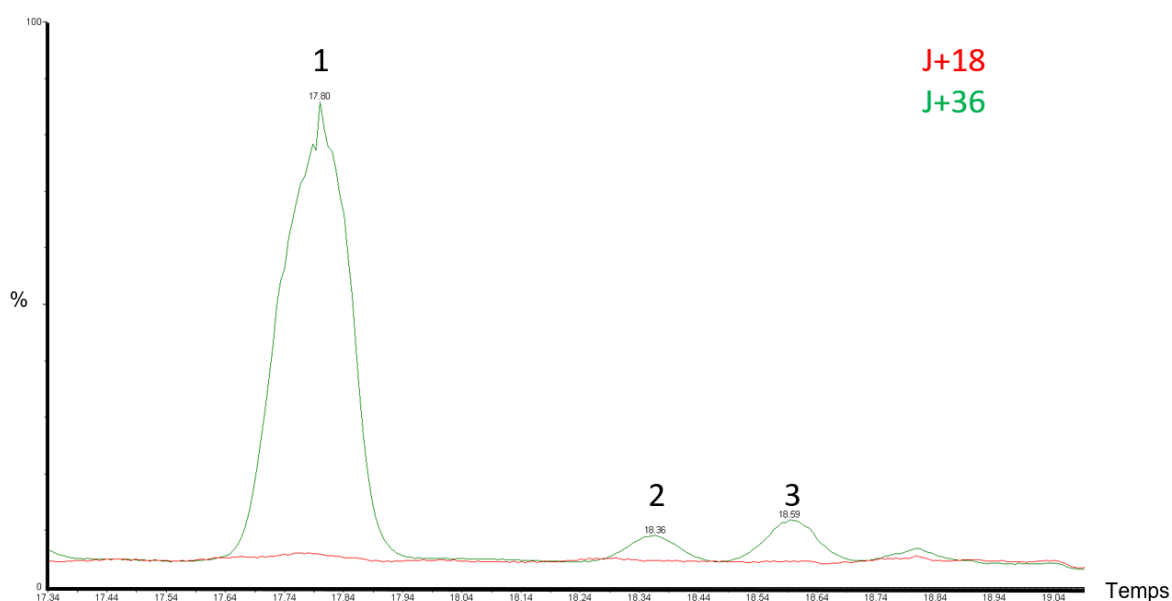


Figure 5-4. COVm identifiés à 17,8, 18,3 et 18,5 minutes sur les chromatogrammes obtenus des essais de l'isolant B

Enfin, la **Figure 5-5** présente 5 composés (méthyl heptène, méthyl hexadiène, méthyl cyclohexène, méthyl heptane et diméthyl hexadiène) qui correspondent à des « nouveaux » composés, à savoir qu'ils n'ont pas été détectés sur les chromatogrammes des matériaux avant contamination mais qu'ils apparaissent sur les chromatogrammes relatifs aux matériaux

sur lesquels une croissance fongique a été observée. Cette figure permet de mettre en évidence l'apparition de composés qui présentent une très bonne reproductibilité étant donné qu'ils ont été observés sur tous les essais (isolant A=3 et isolant B=2) et de plus ce sont des composés émis durant toutes les étapes de la croissance d'*Aspergillus niger* puisqu'ils ont été détectés sur tous les prélèvements.

Ce résultat a été choisi parce qu'il est très robuste puisqu'il a été obtenu sur les essais des deux matériaux (soit 5 essais) et parce qu'il présente une zone où 5 COV (C_7 - C_8) potentiellement microbiens ont été identifiés.

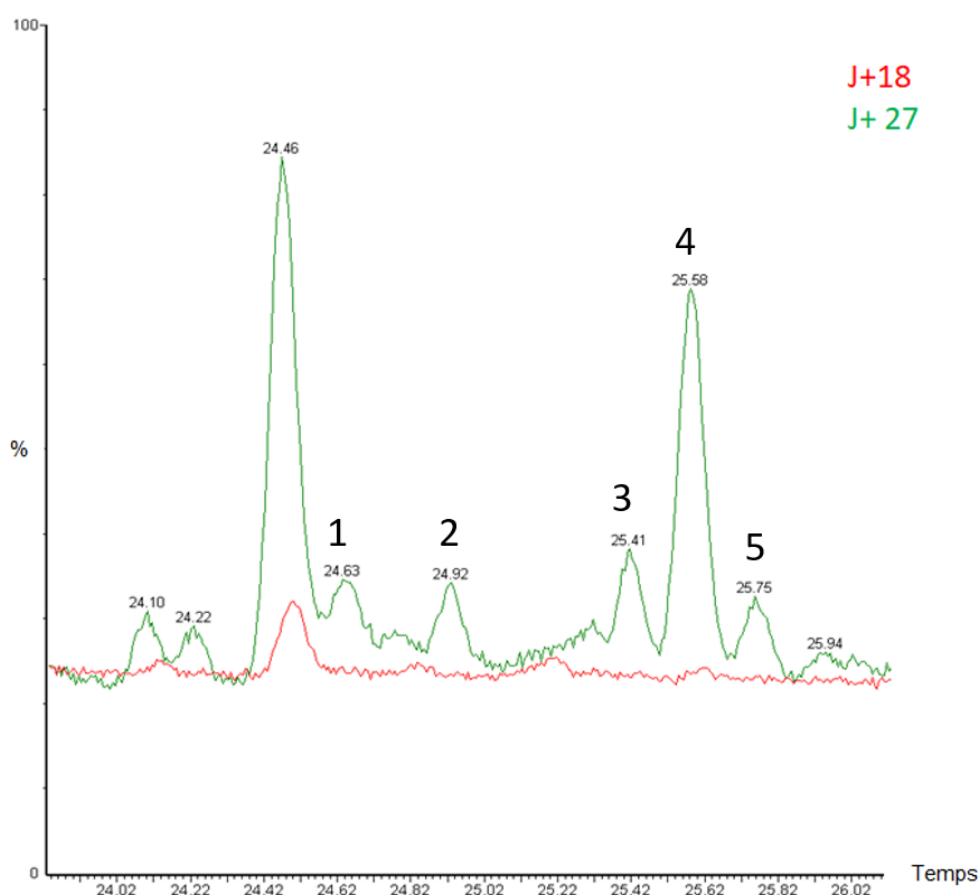


Figure 5-5. COV identifiés à 24,6, 24,9, 25,4, 25,5, et 25,7 sur les essais des isolants A et B

Ces résultats montrent que certains des COV potentiellement microbiens identifiés dans cette étude représentent des traceurs « robustes » du développement fongique parce qu'ils étaient présents sur tous les essais des deux isolant comme les 5 « nouveaux » composés présentés dans la figure précédente et le 2-éthyl-1-hexanol. En revanche, d'autres COV ont été trop peu reproductibles pour être considérés comme des traceurs issus du développement de moisissures comme par exemple le diméthyl cyclopentane et le diméthylbenzaldéhyde qui ont été identifiés une seule fois et à des concentrations très faibles (0,005 et 0,032 $\mu\text{g}/\text{m}^3$).

Des composés appartenant à ces mêmes familles chimiques (alcane, alcène, diène, acides carboxyliques, terpènes, alcools et aldéhydes) ont été également identifiés dans d'autres études portant sur la caractérisation de COV d'origine fongique.

Ainsi, par exemple, Moularat et al. (2008) ont utilisé la même démarche d'analyse par superposition de chromatogrammes dans leur étude qui portait sur la caractérisation des COV en chambre d'essai d'émission (300 mL) par 3 espèces de moisissures (*Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor* et *Penicillium brevicompactum*) sur 5 matériaux : toile de verre, fibre de verre, papier peint, dalle de plafond et plaque de plâtre pendant 7 jours. Afin d'assurer un renouvellement d'air « propre » (20 h^{-1}) dans la chambre, une chaîne de filtration composée de charbon actif, d'un tube TENAX et d'un filtre anti particulaire (HEPA) a été placée en amont de la chambre (la description de la chambre d'émission a été trouvée dans le document de Joblin 2012). 18 COV ont été émis par *Aspergillus niger* dont 1 diène (le 1,3-octadiène) et 1 alcène (le 2-heptène). Les concentrations de ces deux composés ont été quantifiées sur deux matériaux : toile de verre et fibre de verre. Elles étaient de $2,09 \mu\text{g}/\text{m}^3$ pour le 1,3-octadiène et <LD pour 2- heptène lorsque la souche s'est développée sur la fibre de verre et de $24,9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ pour le 1,3-octadiène et $41,75 \mu\text{g}/\text{m}^3$ pour 2-heptène quand le support de croissance était la toile de verre. Ils ont aussi observé que le 2-éthyl-1-hexanol était émis par les matériaux natifs et que sa concentration augmentait d'un facteur 2 à 6 en présence de moisissures. Dans notre étude, ce composé a augmenté d'un facteur 10 pour l'isolant A (fibres de bois) et d'un facteur 16 pour l'isolant B (fibres de bois + laine de verre) entre le chromatogramme correspondant à J+18 avant contamination et celui relatif aux matériaux avec développement fongique qui présentait le taux d'émission le plus élevé pour ce composé (J+27). Schleibinger et al. (2005) ont également identifié ce composé dans leur étude relative à la caractérisation de 18 COV en chambre d'essai d'émission par 4 espèces de moisissures (*Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus versicolor*, *Eurotium amstelodami* et *Chaetomium globosum* à des taux d'émission très faibles ($0,006$ à $0,06 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$).

Une autre partie de l'étude de Moularat et al. (2008) présentée précédemment était dédiée à l'analyse des émissions d'*Aspergillus niger* durant 25 jours. Les COV ont été prélevés par échantillonnage passif sur des tubes mis en place initialement et prélevés à différents moments de croissance. Dès le deuxième jour de croissance, 5 composés ont été détectés et au 8^{ème} jour tous les composés (12) identifiés étaient quantifiables. Ces résultats sont en accord avec ce qui a été observé lors de ce travail de thèse parce que 11 des 15 COV ont été détectés à 3 jours de croissance (J+27) et à 9 jours de croissance (J+27) 13 composés étaient quantifiables (sauf le diméthyl benzaldéhyde).

Dans l'étude de Siddiquee et al. (2015), des alcanes de C₇ à C₂₅, avec une prédominance des espèces C₁₂-C₁₆, ont été les composés majoritairement émis par une souche d'*Aspergillus niger* se développant sur du bouillon pomme de terre (« PDB » pour potato dextrose broth). L'analyse de COV a été réalisée à l'aide d'un GC/MS et en utilisant deux colonnes capillaires (non polaire et de polarité moyenne). Ils ont identifié le 2-méthyl hexane qui est un composé très proche du 3-méthyl hexane, identifié dans notre étude, et le 1,3,5-triméthyl cyclohexane, composé qui a été proposé par la bibliothèque NIST pour l'identification du triméthyl cyclohexane dans notre étude. Par ailleurs, Joblin (2012) a caractérisé les COV émis par *Aspergillus sydowii*, *Penicillium solitum*, *Penicillium brevicompactum*, *Trichoderma komingii* et *Ulocladium alternariae* sur des échantillons de lin. Le 4-méthyl-1-heptène a été identifié et ce composé correspondait souvent à l'identification obtenue par comparaison avec la bibliothèque spectral NIST pour le méthyl heptène identifié dans le cadre de notre étude.

L'acide octanoïque a été identifié dans nos résultats et ce composé a été reporté dans l'article de revue de Korpi et al. (2009), qui présente une liste exhaustive des COV d'origine microbienne identifiés dans des nombreuses études menées au laboratoire. Il a été également caractérisé dans l'étude de Claeson et al. (2002) portant sur les émissions de 5 espèces de moisissures (*Aspergillus versicolor*, *Fusarium culmorum*, *Penicillium chrysogenum*, *Ulocladium botrytis* et *Wallemia sebi*) sur milieu de culture (MEA). De même, il est possible de retrouver ce composé ainsi que le méthyl heptane et le 2-éthyl-1-hexanol lorsqu'une recherche sur la base de données mVOC 2.0 est réalisée. Cette base de données a été développée par Lemfack et al. (2018) et compile les COV associés au métabolisme de 500 espèces de bactéries et champignons reportés dans des nombreuses études.

Pour conclure, il apparaît aux travers des résultats obtenus sur ce support particulier (fibres de bois) contaminé par une seule souche (*Aspergillus niger*) que plusieurs espèces, telles que le méthyl heptène, le méthyl hexadiène, le méthyl cyclohexène, le méthyl heptane, le diméthyl hexadiène et le 2-éthyl-1-hexanol puissent être considérées comme des traceurs « robustes » du développement fongique tandis que d'autres semblent plus aléatoires et dépendent plus du support ou éventuellement des traitements associés à ce support comme le diméthyl cyclopentane et le diméthyl benzaldéhyde. Ainsi, même si les composés identifiés comme étant émis exclusivement par des moisissures dans d'autres études tels que le 1-octen-3-ol et le 1,3-octadiène n'ont pas été détectés dans cette étude, des espèces très proches en termes de structure chimique (2-éthyl-1-hexanol, méthyl hexadiène et diméthyl hexadiène) ont été mesurées, et de manière générale les familles chimiques des COVm (alcanes, alcènes, diènes, terpènes, acides, alcools et aldéhydes) retrouvés dans notre étude correspondent bien aux familles chimiques reportées antérieurement dans la littérature. Par ailleurs, la durée de la période de croissance a permis la détection de composés durant toutes

les phases de croissances, dès la germination jusqu'à la sporulation puisqu'au bout d'une semaine il était possible d'observer les spores (noires) à l'œil nu, ce qui veut dire que les colonies ont atteint la phase de sporulation. Dans l'étude de Moularat et al. (2008), ils ont observé les spores à l'œil nu à 3-5 jours de croissance.

Quant à la méthodologie déployée, nous avons opté pour le choix d'un système d'exposition dynamique des émissions associées aux matériaux, ce qui diffère de la plupart des études de la bibliographie. Ce choix a été fait afin de limiter les contaminations possibles provenant de l'air du laboratoire et pour se rapprocher d'une situation plus réelle comme celle d'une habitation dans laquelle existe un renouvellement d'air en continu. De même, il était important de se positionner dans les conditions comparables à celles employées pour l'évaluation des COV émis par les matériaux sans contamination (Chapitre 4).

V.4. Comparaison des chambres d'émission

Comme cela a été mentionnée dans la partie 2.2, des prélèvements ont été réalisés à J+3, J+7 et J+14 avant l'ensemencement afin de comparer les composés identifiés et leur taux d'émission avec les résultats obtenus dans la chambre CLIMPAQ (cf. Chapitre 4). Lors de la confrontation des résultats, une cohérence sur les espèces identifiées a été trouvée, en revanche, des écarts parfois très significatifs des taux d'émissions des composés ont été observés. Les **Tableaux 5-4** et **5-5** présentent les résultats obtenus pour les deux matériaux bio-sourcés.

Ces résultats montrent que les taux d'émission mesurés sont sensiblement plus élevés dans la chambre d'essai d'émission CLIMPAQ que dans la chambre d'essai d'émission COVm. Il est à noter que les écarts les plus significatifs concernent le formaldéhyde (50-80 %), l'acétaldéhyde (44-93 %), l'acétone (50-86 %), l'acide acétique (79-98 %), le méthylglyoxal (61-73 %) et le furfural (66-73 %). A l'exception du furfural, ces composés sont très hydrophiles, présentant des constantes de Henry très fortes (cf. Chapitre 4, Tableau 4-12), et donc la première hypothèse qui pourrait expliquer les écarts entre les émissions évaluées dans les deux chambres d'essai porte sur le moyen de maintenir le taux d'humidité relative à une valeur relativement haute ($\approx 85\%$). Dans le cas de la chambre CLIMPAQ, l'air zéro à l'humidité souhaitée est obtenu par la régulation de deux débits d'air, l'un sec et l'autre saturé en humidité, avant son arrivée dans la chambre d'exposition tandis que dans la chambre COVm, le taux d'humidité relative est obtenu grâce à la mise en place au sein de la chambre d'un cristalliseur rempli d'eau.

Tableau 5-4. Comparaison des taux d'émission ($\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) de 12 COV, obtenus sur la chambre d'émission CLIMPAQ et la chambre d'émission destinée à évaluer la résistance des matériaux au développement fongique – ISOLANT A

Prélèvement			J+3		J+7		J+14	
Système expérimental			CLIMPAQ	COVm	CLIMPAQ	COVm	CLIMPAQ	COVm
Formaldéhyde	Essai	1	*	*	4,38	*	4,24	*
		2	7,21	2,08	6,84	2,07	3,85	1,22
		3	11,37	2,22	8,41	3,02	6,33	0,85
Acétaldéhyde	Essai	1	*	*	6,72	*	4,26	*
		2	3,11	0,19	7,37	0,20	4,56	0,22
		3	3,87	0,22	6,12	0,91	4,77	0,93
Acétone	Essai	1	*	*	3,66	*	1,91	*
		2	3,51	0,51	6,96	0,73	1,16	0,85
		3	1,62	0,81	5,68	0,12	3,35	1,23
Acide acétique	Essai	1	*	<LD	3,91	<LD	6,02	<LD
		2	0,49	0,10	3,28	0,25	8,25	0,37
		3	1,32	0,25	2,26	0,50	9,46	0,73
Méthylglyoxal	Essai	1	*	*	20,21	*	21,43	*
		2	15,03	5,03	21,43	7,36	23,55	8,21
		3	15,66	4,35	16,48	6,32	23,84	7,21
Furfural	Essai	1	*	2,35	7,98	2,27	5,58	1,92
		2	11,21	3,02	5,06	1,47	4,45	1,00
		3	6,47	2,48	6,83	1,98	5,51	1,23
Hexanal	Essai	1	*	<LD	1,72	<LD	0,88	<LD
		2	4,91	4,03	2,51	2,01	1,56	1,05
		3	5,42	4,07	2,11	2,03	0,76	1,08
Benzaldéhyde	Essai	1	*	3,98	3,52	3,72	0,85	0,95
		2	5,93	4,02	4,04	3,98	0,95	0,89
		3	4,74	4,36	2,27	3,25	0,61	0,87
o-Cymène	Essai	1	*	1,79	1,35	0,76	0,32	0,28
		2	1,04	0,94	1,58	1,03	0,38	0,73
		3	0,92	1,00	1,19	1,05	0,54	0,51
D-limonène	Essai	1	*	0,95	1,08	1,29	0,79	0,67
		2	0,86	0,64	0,76	0,52	0,82	0,22
		3	0,77	0,51	0,98	0,28	1,02	0,97
Nonanal	Essai	1	*	1,67	2,31	1,73	1,22	1,45
		2	1,24	0,90	1,32	0,80	0,86	0,62
		3	1,41	1,16	2,04	1,42	1,43	1,23
Vanillin	Essai	1	*	<LD	1,19	<LD	1,02	<LD
		2	0,25	<LD	0,41	<LD	0,25	<LD
		3	0,82	<LD	1,13	<LD	0,38	<LD

*Non renseigné

LD : 0,0004 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$

Tableau 5-5. Comparaison des taux d'émission ($\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$) de 12 COV, obtenus sur la chambre d'émission CLIMPAQ et la chambre d'émission destinée à évaluer la résistance des matériaux au développement fongique – ISOLANT B

Prélèvement			J+3		J+7		J+14	
Système expérimental			CLIMPAQ	COVm	CLIMPAQ	COVm	CLIMPAQ	COVm
Formaldéhyde	Essai	1	10,58	3,02	*	2,42	6,13	1,38
		2	6,95	3,47	3,42	2,91	3,14	1,54
		3	7,41	*	7,14	*	5,51	*
Acétaldéhyde	Essai	1	1,61	0,52	*	0,28	1,85	0,32
		2	1,12	0,63	1,49	0,42	0,35	0,55
		3	1,77	*	1,93	*	1,29	*
Acétone	Essai	1	1,37	0,19	*	0,22	0,29	0,10
		2	1,22	0,26	1,52	0,37	0,45	0,26
		3	0,88	*	1,43	*	1,29	*
Acide acétique	Essai	1	2,38	0,06	*	0,58	3,25	1,01
		2	2,41	0,11	3,35	0,51	3,93	0,93
		3	2,13	*	3,82	*	4,28	*
Méthylglyoxal	Essai	1	10,75	3,23	*	4,25	13,38	5,02
		2	9,22	2,47	12,66	4,98	14,55	5,42
		3	7,05	*	9,27	*	10,48	*
Furfural	Essai	1	2,89	2,09	*	1,22	2,23	0,86
		2	2,32	1,99	1,16	1,01	1,91	0,53
		3	2,97	*	2,66	*	2,31	*
Hexanal	Essai	1	1,71	1,07	*	0,26	0,84	0,12
		2	1,55	1,10	0,34	0,21	0,37	0,25
		3	1,38	*	0,55	*	0,29	*
Benzaldéhyde	Essai	1	2,52	1,35	*	0,66	0,98	0,55
		2	2,53	1,25	1,27	0,96	0,86	0,68
		3	2,08	*	1,28	*	0,56	*
Vanillin	Essai	1	0,39	<LD	*	<LD	0,51	<LD
		2	0,27	<LD	1,14	<LD	0,45	<LD
		3	0,49	*	1,88	*	1,25	*

*Non renseigné

LD : $0,0004 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$

Pour l'évaluation de la résistance des matériaux au développement fongique, ce moyen de maintenir l'HR dans la chambre est tout à fait valable et n'a pas montré d'inconvénients particuliers. En revanche, pour la caractérisation de COVm, la présence d'eau liquide à l'intérieur de la chambre a probablement eu un impact sur les concentrations mesurées dans l'air de cette chambre, en particulier pour les COV hydrophiles qui pourraient se solubiliser dans l'eau. La deuxième hypothèse est que les COV se soient adsorbés sur les parois en verre de la chambre ou l'ensemble des connections, ce qui peut entraîner aussi une diminution de leurs concentrations.

Une expérience pour vérifier la première hypothèse a donc été mise en place. Pour ce faire, le même cristalliseur utilisé dans la chambre d'émission COVm a été placé dans la chambre CLIMPAQ. Un blanc « chambre + cristalliseur » a été réalisé afin d'évaluer le niveau de contamination en termes de concentrations en COV présents avant introduction du matériau (isolant A, fibres de bois, matériau le plus émissif) et afin de corriger éventuellement les résultats des prélèvements réalisés à la suite de l'introduction du matériau testé. Un échantillon de l'isolant A a été exposé durant 18 jours et 1 prélèvement a été réalisé à J+5, J+10, J+14 et J+18. A la fin du prélèvement à J+18, le cristalliseur a été retiré de la chambre et les deux débits d'air ont ensuite été régulés pour continuer à maintenir un HR de 85 %. Un dernier prélèvement a été réalisé 24h après (J+19). La **Figure 5-13** résume les différentes étapes de l'essai.

La **Figure 5-14** montrent les résultats de l'expérience. Les composés présentés ont été choisis parce qu'ils ont de caractéristiques physico-chimiques très différentes et parce qu'ils ont montré des comportements très différents au regard de l'HR (cf. Chapitre 4, partie 4). Ces résultats mettent en évidence que les composés présentent des profils d'émission plus ou moins « habituels », atteignant un régime quasi stationnaire après 18 jours sous balayage d'air zéro. A la suite du retrait du cristalliseur d'eau, il est possible de constater une augmentation des concentrations mesurées pouvant être considérées comme taux d'émission de certains composés. Cette augmentation est plus importante pour le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, l'acétone et est moins marquée pour le furfural et le benzaldéhyde. Les taux d'émission de l'hexanal, du o-cymène et du D- limonène n'ont pas été affectés par le retrait du cristalliseur. Ces résultats sont en cohérence avec ce qui a été présenté précédemment dans le **Tableau 5.5** parce que les espèces les plus impactées dans cette expérience (formaldéhyde, acétaldéhyde, acétone et furfural), sont des espèces qui montrent des écarts importants entre les deux chambres d'essai d'émission.

L'hypothèse d'un impact de la présence d'eau liquide dans la chambre sur les composés les plus hydrophiles a été en partie corroborée par cette expérience puisqu'effectivement les concentrations mesurées pour le formaldéhyde et l'acétaldéhyde ont augmenté d'un facteur 8 et 12, respectivement, 24 h après le retrait du cristalliseur d'eau. De même, un impact mais moins marqué sur les concentrations mesurées pour l'acétone (facteur 3), le furfural (facteur 1,4) et le benzaldéhyde (facteur 4) a été observé.

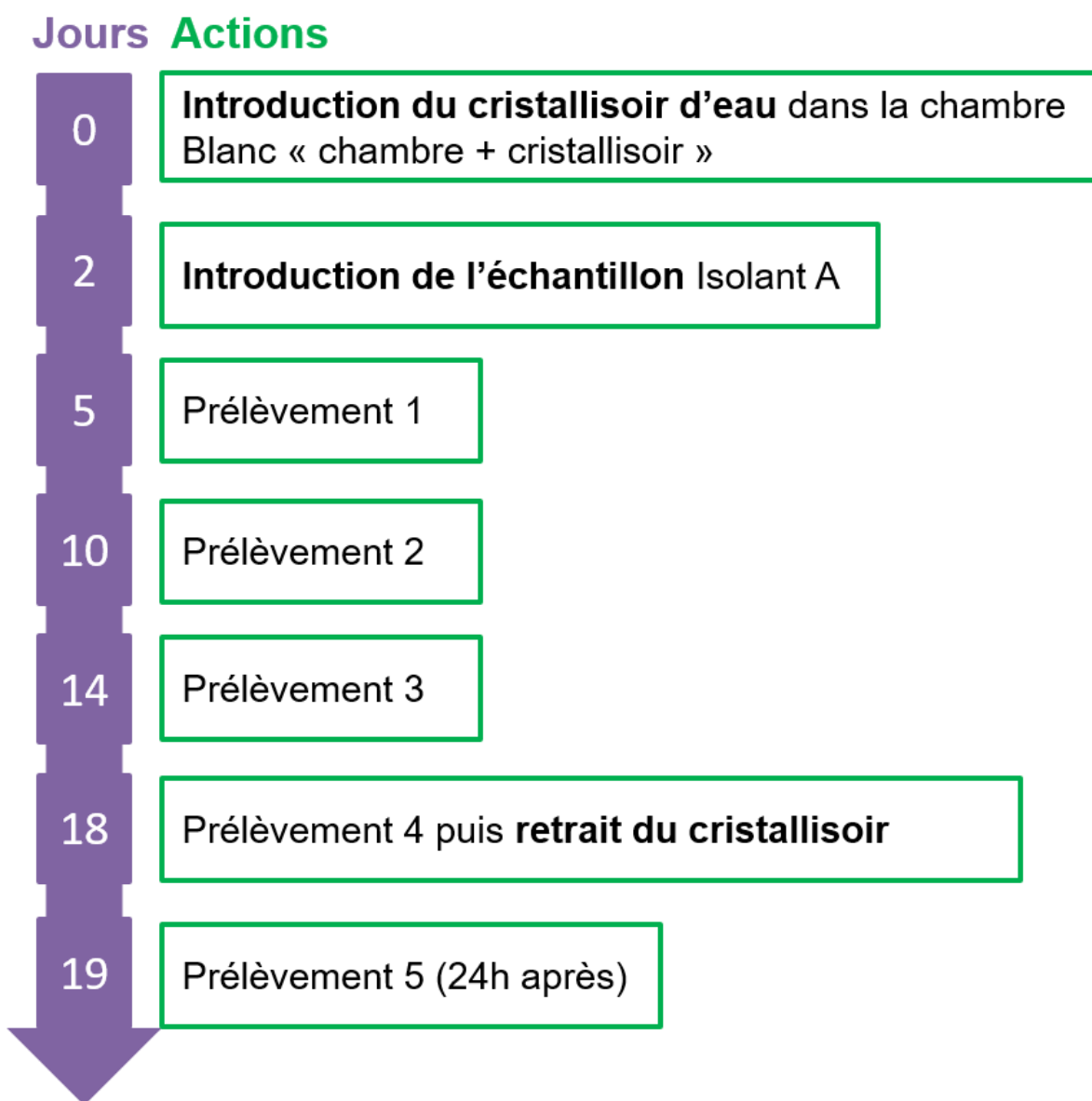


Figure 5-13. Etapes de l'expérience mise en place pour évaluer l'impact du cristalliseur d'eau dans la chambre d'exposition destinée à la caractérisation de COVm

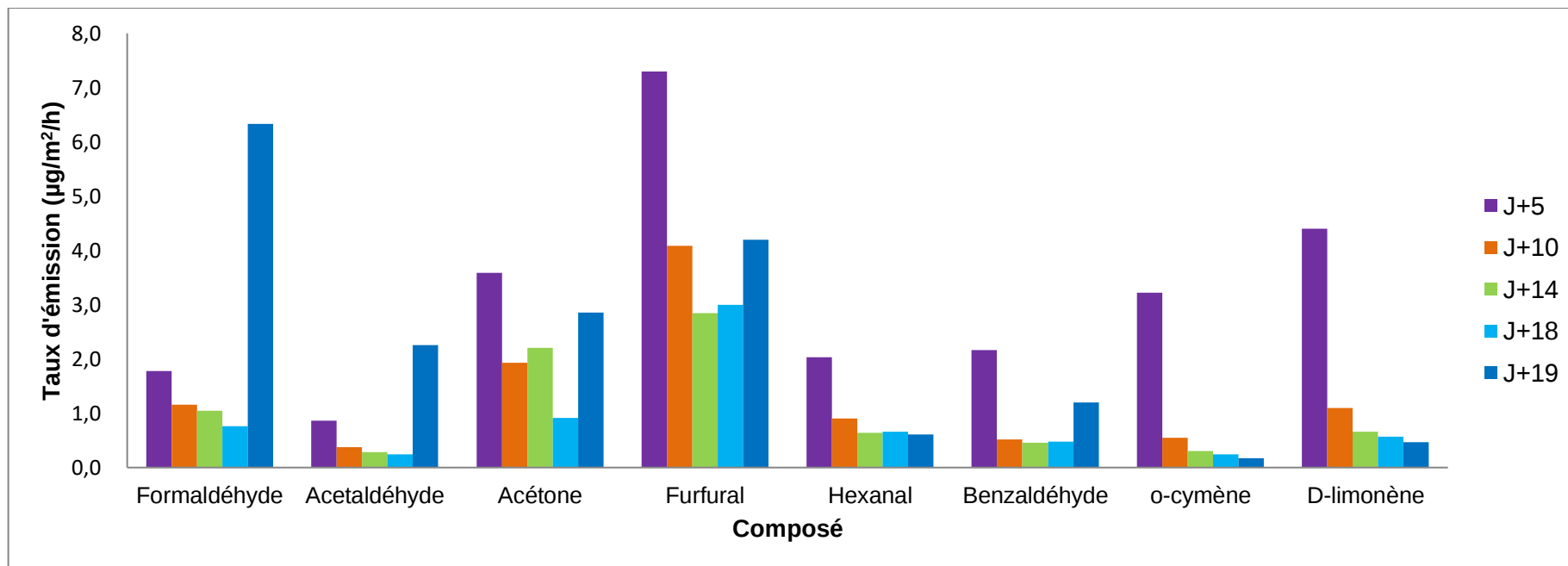


Figure 5-14. Effet du cristalliseur d'eau dans la chambre d'essai d'émission CLIMPAQ sur les taux d'émission des COV

Enfin, les composés très hydrophobes comme l'o-cymène et le D-limonène n'ont pas montré d'augmentation des taux d'émission lorsque le cristalliseur d'eau a été enlevé de la chambre. Ainsi, il s'avère que la méthodologie mise en œuvre pour réguler l'HR au sein de la chambre d'exposition des matériaux est cruciale si on cherche à évaluer les émissions de ces matériaux et qu'il est nécessaire de mettre en place un autre moyen de maintenir l'HR dans la chambre que la mise en place d'un récipient contenant de l'eau liquide. Ceci est d'autant plus important que de nombreux composés hydrophiles, tels que les alcools et les cétones, sont fréquemment identifiés comme des COV émis par des moisissures comme il cela a été mentionné précédemment.

Un troisième fait qui pourrait expliquer les résultats différents entre les deux chambres d'exposition est que probablement la chambre décrite précédemment (cf. partie 2.1) soit moins étanche que la chambre CLIMPAQ. Une expérience pour vérifier ce fait n'a pas été réalisée en raison de la durée très longues des autres expériences, mais il s'avère important de vérifier l'étanchéité de la chambre afin de bien s'assurer que les concentrations mesurées pendant l'essai sont « correctes » et représentatives des émissions associées au matériau testé.

V.5. Conclusions

Au travers des résultats présentés dans la première partie de ce chapitre et qui correspondent à la recherche de 14 COVm sur les chromatogrammes associés aux matériaux natifs, il semble très ambitieux de conclure qu'un composé est typique du développement fongique parce qu'il peut être émis aussi par le matériau en absence de moisissures. De plus, dans certaines études, les COV associés au développement fongique sont caractérisés à partir de la croissance de moisissures sur des milieux de culture. Or, les manipulations sur ces milieux peuvent être difficilement généralisables à la réalité concernant les matériaux de construction. C'est pourquoi il est important d'être vigilant aux conclusions réalisées à partir des résultats des émissions en COVm se développant sur de milieux synthétiques parce des COV dits « traceurs » du métabolisme fongique peuvent éventuellement provenir d'autre sources lorsqu'il s'agit d'un environnement intérieur.

Quant aux résultats liés à l'identification de COVm par superposition de chromatogrammes, le système qui a été mis en œuvre dans le cadre de ce travail de thèse, avec de matériaux réelles et sur des conditions environnementales proches de celles pouvant être rencontrées *in situ*, semble montrer qu'il est très compliqué d'établir une empreinte COVm universelle liée au développement fongique. D'un côté parce que les matériaux natifs peuvent émettre eux-mêmes un très grand nombre de composés à des concentrations beaucoup plus importantes, et d'autre côté parce que ces émissions peuvent être extrêmement variables en

fonction d'un paramètre crucial qui est l'HR. Pour les matériaux bio-sourcés natifs évalués dans ce travail de thèse, la gamme de concentrations des émissions, lorsqu'ils ont été exposés à 85 % d'HR, a été de 0,10 à 60,5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (cf. chapitre 4, partie 4.2), alors que pour les COVm les concentrations restent beaucoup plus faibles (entre 0,005 et 6,990 $\mu\text{g}/\text{m}^3$). Malgré ces faits, il a été possible d'identifier 15 COVm, mais le bruit de fond amené par les émissions des matériaux natifs et l'HR reste tellement important que la caractérisation de COVm peut s'avérer très difficile. Ainsi, la démarche d'identification de COVm par superposition de chromatogrammes peut poser beaucoup de questions quant à la robustesse de ce qui est détecté.

Enfin, une comparaison des taux d'émission de COV émis par l'isolant A (fibres de bois) mesurés dans la chambre CLIMPAQ et ceux mesurés dans la chambre COVm a été réalisée. Des écarts importants (50-93 %) ont été observés pour le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, l'acétone, l'acide acétique, le méthylglyoxal et le furfural. Hormis le furfural, ces espèces sont très hydrophiles et donc les écarts entre les chambres ont été probablement entraînés par les différents moyens de maintenir l'HR qui d'un côté est la régulation des débits d'air sec et air humide pour la chambre CLIMPAQ et d'autre côté est la mise en place d'un cristalliseur rempli d'eau dans la chambre COVm. Afin de vérifier cette hypothèse, un cristalliseur d'eau a été placé dans la chambre CLIMPAQ pour maintenir l'HR à 85 % et les émissions COV d'un échantillon de l'isolant A (fibres de bois) ont été évaluées durant 19 jours. Des prélèvements ont été réalisés à J+5, J+10, J+14 et J+18 puis le cristalliseur a été retiré. L'HR a été maintenue à 85 % en régulant à nouveau les débits d'air sec et humide et un dernier prélèvement a été fait 24 h (J+19) après que le prélèvement à J+18 a été réalisé. Il a été observé que les concentrations du formaldéhyde, de l'acétaldéhyde, de l'acétone ont augmenté fortement (facteur 4-12) lorsque le cristalliseur d'eau a été retiré de la chambre CLIMPAQ. Ces espèces ont également celles qui ont présenté des écarts importants lors de la comparaison entre les deux chambres, ce qui corrobore en partie l'hypothèse que le moyen de maintenir l'HR dans la chambre peut impacter les concentrations des espèces hydrophiles.

V.6. Références

Baumann, Lorenz, and Zhang Batterman
2000 ALDEHYDE EMISSIONS FROM PARTICLEBOARD AND MEDIUM DENSITY FIBERBOARD PRODUCTS: 8.

Claeson, Anna-Sara, Jan-Olof Levin, Göran Blomquist, and Anna-Lena Sunesson
2002 Volatile Metabolites from Microorganisms Grown on Humid Building Materials and Synthetic Media. J. Environ. Monit. 4(5): 667–672.

Cottier, Fabien, and Fritz A. Mühlschlegel
2012 Communication in Fungi. International Journal of Microbiology 2012: 1–9.

Fiedler, Klaus, Edgar Schütz, and Stefan Geh

2001 Detection of Microbial Volatile Organic Compounds (MVOCs) Produced by Moulds on Various Materials. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 204(2–3): 111–121.

Funaki, Rika, Shin-ichi Tanabe, Hiroshi Tanaka, and Takafumi Nakagawa

2003 Measurements of Chemical Emission Rates from Portable PC and Electronic Appliances. *Journal of Asian Architecture and Building Engineering* 2(2): b55–b59.

Garcia-Alcega, Sonia, Zaheer Ahmad Nasir, Robert Ferguson, et al.

2017 Fingerprinting Outdoor Air Environment Using Microbial Volatile Organic Compounds (MVOCs) – A Review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 86: 75–83.

Joblin, Yaël

2012 Thèse-Elaboration d'un Microsystème d'analyse de l'air Destiné à La Détection Rapide d'un Développement Fongique Dans Les Espaces Clos. Université Paris-Est. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00696618/document>.

Koivula, Minna, Hanna-Riitta Kymäläinen, Jari Virta, et al.

2005 Emissions from Thermal Insulations—Part 2: Evaluation of Emissions from Organic and Inorganic Insulations. *Building and Environment* 40(6): 803–814.

Korpi, Anne, Jill Järnberg, and Anna-Liisa Pasanen

2009 Microbial Volatile Organic Compounds. *Critical Reviews in Toxicology* 39(2): 139–193.

Lacaze, Isabelle, Rukshala Anton, and Stéphane Moularat

2019 Détection Précoce Des Infestations Fongiques et Entomologiques Dans Les Environnements Intérieurs. Communication Présentée Lors Des Rencontres Thématiques de l'Arsag Du 3 Mai 2018, Insectes et Moisissures : Une Course Aux Armements. CSTB.

Le Bayon, Isabelle, Marjorie Draghi, M Prénac, et al.

2015 Development of a Laboratory Test Method to Assess the Resistance of Bio-Based Insulation Materials against Moulds. *In* . Clermont-Ferrand, France.

Lemfack, Marie C, Bjoern-Oliver Gohlke, Serge M T Toguem, et al.

2018 MVOC 2.0: A Database of Microbial Volatiles. *Nucleic Acids Research* 46(D1): D1261–D1265.

Matysik, Silke, Olf Herbarth, and Andrea Mueller

2009 Determination of Microbial Volatile Organic Compounds (MVOCs) by Passive Sampling onto Charcoal Sorbents. *Chemosphere* 76(1): 114–119.

Moularat, S, E Robine, O Ramalho, and M Oturan

2008 Detection of Fungal Development in a Closed Environment through the Identification of Specific VOC: Demonstration of a Specific VOC Fingerprint for Fungal Development. *Science of The Total Environment* 407(1): 139–146.

Moularat, Stéphane, Marion Hulin, Enric Robine, Isabella Annesi-Maesano, and Denis Caillaud

2011 Airborne Fungal Volatile Organic Compounds in Rural and Urban Dwellings. *Science of The Total Environment* 409(11): 2005–2009.

Moularat, Stéphane, Enric Robine, Olivier Ramalho, and Mehmet A. Oturan

2008 Detection of Fungal Development in Closed Spaces through the Determination of Specific Chemical Targets. *Chemosphere* 72(2): 224–232.

Nicolle, Jérôme, Valérie Desauziers, Pierre Mocho, and Olivier Ramalho

2009 Optimization of FLEC®-SPME for Field Passive Sampling of VOCs Emitted from Solid Building Materials. *Talanta* 80(2): 730–737.

Schleibinger, H., D. Laußmann, C. Brattig, et al.

2005 Emission Patterns and Emission Rates of MVOC and the Possibility for Predicting Hidden Mold Damage? *Indoor Air* 15: 98–104.

Siddiquee, Shafiquzzaman, Sujjat Al Azad, Fatimah Abu Bakar, Laila Naher, and S. Vijay Kumar

2015 Separation and Identification of Hydrocarbons and Other Volatile Compounds from Cultures of *Aspergillus Niger* by GC–MS Using Two Different Capillary Columns and Solvents. *Journal of Saudi Chemical Society* 19(3): 243–256.

Conclusions générales et perspectives

Ce travail de thèse a pour objectif l'étude de la potentialité des isolants bio-sourcés et conventionnels à être le siège de développement de moisissures et l'impact sur la qualité de l'air intérieur en termes des émissions en COV et COV microbiens. Tout d'abord l'étude bibliographique a permis d'exposer les différentes filières d'isolants bio-sourcés qui se sont développées en France depuis 2010 telles que la laine de bois, la ouate de cellulose, la laine de chanvre... et qui ont représenté 5 % du marché de l'isolation en France en 2017. De même, les caractéristiques principales de ce type des matériaux telles que leurs performances thermiques et leur comportement hygrothermique ont été décrites. Cet état de l'art a mis en évidence les risques de l'utilisation des isolants bio-sourcés qui sont : l'apport potentiel initial de microorganismes, le fait que la matière première soit bio-sourcée et puisse répondre aux besoins nutritionnels de moisissures, et la possibilité d'une accumulation d'humidité au sein de ces matériaux, entraînée par leur propriété hygrothermique. Enfin, les impacts potentiels sur la qualité de l'air intérieur et sur la santé des occupants ont été présentés.

Concernant l'évaluation de la résistance des matériaux au développement fongique, deux isolants bio-sourcés et un isolant minéral conventionnel fréquemment utilisés dans la rénovation et la construction de bâtiments ont été utilisés comme matériaux « typiques » permettant de répondre au questionnement de ce projet vis-à-vis de la croissance d'*Aspergillus niger*.

Sur le plan méthodologique, deux éléments essentiels ont été étudiés :

La technique d'ensemencement a été évaluée parce que très fréquemment un spray liquide est employé pour contaminer les échantillons dans les méthode d'essai visant à évaluer la résistance des matériaux au regard de moisissures. Or l'utilisation d'un inoculum liquide peut avoir un effet sur l'activité de l'eau nécessaire pour la germination de spores, ce qui peut impacter la croissance fongique. De plus, le fait de rajouter de l'eau liquide peut entraîner une réaction entre cette dernière et les produits antifongiques au sein du matériau pouvant empêcher le développement des colonies. Ainsi, nous avons employé un ensemencement par aérosolisation sèche afin d'éviter les inconvénients mentionnés précédemment et parce que c'est une technique plus proche des conditions réelles auxquelles sont confrontés les matériaux de construction surtout lors du stockage et dans les chantiers de construction.

L'évaluation du développement fongique a été également évalué. Pour ce faire, deux méthodes d'essai ont été mises en place. La première, développée par Le Bayon et al. (2015) et la deuxième, qui correspond à une « nouvelle » méthode développée dans cette thèse. Ces

deux méthodes sont composées d'une première étape d'évaluation visuelle du développement fongique (présence/absence des colonies visibles) puis une deuxième étape qui porte sur la quantification de la croissance par dénombrement des UFC au début (T_0) et à la fin du test (T_4).

Sur le volet de la « qualification » des matériaux à être le siège de microorganismes, les résultats ont montré une variabilité des réponses pour l'évaluation visuelle comme pour l'évaluation quantitative selon les matériaux et selon les différentes méthodes mises en œuvre. Quatre situations ont été identifiées :

- Présence des colonies visibles et nombres des UFC à T_0 et à T_4 significativement supérieur.
- Absence de colonies visibles et nombre des UFC à T_0 et à T_4 significativement plus faible.
- Absence de colonies visibles et nombre des UFC à T_0 et à T_4 significativement supérieur.
- Absence de colonies visibles et nombre des UFC à T_0 et à T_4 non significativement différent.

Ces résultats mettent en évidence l'importance de l'étape quantitative de la croissance dans les méthodes d'essai puisque l'évaluation visuelle est très sujette à erreur et donc un résultat basé uniquement sur cette inspection visuelle peut conduire à des fausses interprétations. Les résultats ont également mis en évidence que la quantification du développement par dénombrement des UFC à T_0 et à T_4 peut également entraîner une variabilité des résultats et que notamment un résultat montrant un nombre des UFC à T_0 et à T_4 quasiment égal rend très difficile la classification du matériau en « résistant » ou « non résistant » vis-à-vis de moisissures. La variabilité de ces résultats reflète la complexité d'établir une méthode d'essai pour évaluer la résistance des matériaux bio-sourcés au développement de moisissures. L'hétérogénéité en termes de la distribution des produits traitants et de la matière première (fibres de bois par exemple) peut avoir une influence sur le comportement des différents morceaux d'un même lot de matériau face à la croissance fongique.

Ainsi, il serait important d'approfondir dans la compréhension du cas de figure où les UFC calculés après la période d'incubation (à T_4) sont quasiment les mêmes qu'au début du test (à T_0) afin de déterminer comment faut-il classer un matériau lorsque l'on obtient ce résultat à partir de l'évaluation quantitative de la croissance fongique. De plus, il serait intéressant d'identifier si la différenciation de classification est véritablement liée à la méthode d'ensemencement, ce qui permettrait de faire évoluer ces méthodes dans le sens où les matériaux seraient testés dans des conditions plus proches de la réalité.

Enfin, au regard des résultats obtenus dans ce travail de thèse il serait important d'étudier dans quelle mesure il serait intéressant de limiter l'utilisation des isolants bio-sourcés dans la fabrication des parois des pièces dans lesquelles les taux d'humidité sont susceptibles de dépasser 70 % et d'atteindre des températures élevées comme c'est le cas des cuisines et des salles de bain.

Concernant la caractérisation des émissions en COV des matériaux natifs en absence de moisissures, des essais de 28 jours en chambre d'émission CLIMPAQ à des conditions réglementées ($T^\circ = 23 \pm 2^\circ\text{C}$, $\text{RH} = 50 \pm 5\%$ et vitesse de l'air = $0,22 \pm 0,5 \text{ m/s}$) ont été mis en place. Les COV réglementaires, les COV majoritaires et certains COV d'intérêt ont été caractérisés. Les résultats ont mis en évidence que les matériaux testés sont très peu émissifs en ce qui concerne les 10 COV réglementaires. Seuls le formaldéhyde et l'acétaldéhyde ont présentés des taux d'émissions supérieurs à la limite de détection. Des valeurs très faibles vis-à-vis de la valeur limite pour la note « A+ » ont été obtenues pour l'acétaldéhyde. En revanche, pour le formaldéhyde, les taux d'émission ont été supérieurs à la valeur limite acceptée pour la note « A+ » sur les essais de l'isolant A (fibres de bois), ce qui conduit à son classement en « A ». Pour l'isolant B (fibres de bois + laine de verre) et l'isolant C (laine de verre), les taux d'émission permettent de les classer en « A+ ». Pour les trois matériaux, la note globale des émissions a été en cohérence avec celles de leurs fiches techniques. Quant aux COVT, les taux d'émission ont été inférieurs à la valeur limite de la note « A+ » pour les trois matériaux, mais les isolants bio-sourcés restent plus émissifs que l'isolant minéral.

Quant aux COV majoritairement émis par les matériaux, les résultats ont mis en évidence que les matériaux émettent principalement des aldéhydes. Dans le cas de la laine de verre, les aldéhydes émis correspondent au formaldéhyde et acétaldéhyde et pour les isolants bio-sourcés d'autres aldéhydes très souvent associés aux émissions des matériaux à base de bois tels que l'hexanal, le furfural, le benzaldéhyde, le décanal, l'octanal et le nonanal ont été identifiés. D'autres espèces typiques du bois tels que l'acide acétique, l' α -pinène, et le 4-terpinéol ont également été détectées pour les deux matériaux bio-sourcés. Ces résultats confirment que les 10 COV réglementaires ne sont pas représentatifs des émissions majoritaires des matériaux.

Par ailleurs, l'effet de l'humidité relative sur les taux d'émission a été étudiée notamment lors de son augmentation à $85 \pm 5 \%$ et de son maintien pendant 28 jours.

Cet effet a été analysé au regard de :

A) Effet de l'HR 3 jours après la variation de 50 % à 85 % :

Les résultats ont démontré que cette variation d'humidité de 50 % à 85 % favorise l'émission des COV puisqu'une augmentation des taux d'émission de tous les COV a été observée. Cette augmentation a été plus importante pour les espèces hydrophobes qui avaient été quantifiées à 50 % d'HR tels que le benzaldéhyde, l'hexanal, le nonanal et le méthylacétophenone et pour des composés comme le o-cymène, le D-limonène et le vanillin, pour lesquels les taux d'émission étaient inférieurs à la LD à 50 % d'HR (28 jours) et qui sont devenus quantifiables à 85 % d'HR que pour les espèces hydrophyles. En effet, les taux d'émission des espèces plus hydrophiles telles que le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, l'acide acétique et le méthylglyoxal ont augmenté d'un facteur 1-5 lors de la variation d'humidité.

Ces résultats mettent en évidence que lorsque les concentrations en molécules d'eau dans l'air augmentent, elles entrent en compétition sur les sites d'adsorption avec les COV à la surface du matériau. Les molécules d'eau ont tendance à s'adsorber sur les sites d'adsorption et vont ainsi entrer en compétition d'abord avec les COV plus hydrophiles qui sont antérieurement adsorbés sur ces sites. Ainsi, l'émission de COV hydrophiles va être favorisée dans un premier temps lorsque le matériau est exposé à une HR = 50 % ce qui correspond à une concentration de $8,23 \text{ g/m}^3$ d'air sec. Ensuite, lorsque l'HR augmente à 85 %, l'émission de COV hydrophobes est favorisée compte tenu du fait que le nombre de molécules d'eau est doublé ($17,48 \text{ g/m}^3$ d'air sec) dans l'air environnant le matériau. Cette variation entraîne alors une augmentation très significative de leur taux d'émission.

B) Evolution des émissions des COV lorsque l'HR a été maintenue à 85 % pendant 28 jours

L'évolution de COV présentant des caractéristiques chimiques très différentes a été analysée. Trois comportements ont été observés : diminution progressive, augmentation graduelle et augmentations-diminutions aléatoires. Il a été observé que lorsque l'HR est maintenue à 85 % durant une période relativement longue, les taux d'émission des composés très hydrophiles tels que l'acide acétique et le méthylglyoxal augmentent durant tout l'essai, alors que les taux d'émission des composés plus hydrophobes montrent une diminution progressive ou des augmentation-diminutions lors de différents prélèvements.

Par ailleurs, les taux d'émission de 3 COV (acide acétique, furfural et o-cymène) ont été mesurés de façon continue à l'aide d'un analyseur automatique afin de suivre très précisément l'évolution des concentrations de ces composés dans le temps. Ces résultats mettent en évidence un « épuisement » des matériaux pour des COV comme le furfural et l'o-cymène mais montrent que l'émission d'autres espèces comme l'acide acétique peut se poursuivre durant une durée plus longue et à des concentrations relativement élevées.

Ainsi, il serait important d'évaluer l'intérêt de faire évoluer la réglementation relative à l'étiquetage des matériaux de construction qui existe aujourd'hui parce qu'elle ne semble pas judicieuse lorsqu'il s'agit de matériaux bio-sourcés. Certains experts des instances gouvernementales ont ainsi proposé lors des interviews réalisés pour l'étude de l'ADEME (2017) qu'il serait important d'augmenter les substances analysées et de les ajuster en fonction de la catégorie du produit de construction ainsi que la possibilité de se tourner vers une seconde version de l'étiquette sanitaire plus complète avec la prise en compte du développement de microorganismes, la présence de cyanures ou bien de dérivés benzoïques.

Il serait également intéressant d'essayer de comprendre de manière plus précise l'effet de l'humidité sur les émissions en COV des matériaux de construction parce que l'impact de cette variable est très peu renseigné à l'heure actuelle dans la bibliographie. Or, dans des pièces telles que la salle de bain et la cuisine, dans lesquelles les taux d'humidité sont très importants, cela peut éventuellement avoir une influence importante sur les COV émis par les matériaux.

Quant à la caractérisation des émissions en COV d'origine fongique, des échantillons des matériaux bio-sourcés présentant un développement fongique ont été évalués. Une analyse spécifiquement centrée sur 14 COV identifiés de manière très précise comme étant des traceurs du développement de micro-organismes dans des études précédentes reportées dans la littérature associée a été effectuée. 5 de ces COV ont été détectés sur les essais des matériaux natifs en absence de moisissures qui ont été évaluées dans la chambre CLIMPAQ. Ce résultat met en évidence que certains de COV qui sont considérés comme « traceurs » du métabolisme fongique dans certaines études peuvent provenir de sources telles que les matériaux de construction eux-mêmes.

La deuxième analyse a été effectuée par superposition de chromatogrammes des matériaux sans contamination fongique et des matériaux avec développement fongique. Cette analyse a permis l'identification de 15 COV associés au métabolisme fongique. Les COV potentiellement d'origine fongique identifiés dans notre étude appartiennent aux familles chimiques (alcane, alcène, diène, terpène, acide carboxylique, aldéhyde et alcool) identifiées dans d'autres études. La démarche d'analyse par superposition de chromatogrammes peut cependant remettre en question la robustesse de l'identification des

composés parce que le bruit de fond amené par les émissions des matériaux natifs et en particulier lorsque les matériaux sont exposés à une humidité élevée est très important. Ce poserait question par conséquent sur la robustesse de la détection de contaminations fongiques cachées ou précoces dans les environnements intérieurs.

Par ailleurs, les concentrations des COV dans la chambre d'émission CLIMPAQ et dans la chambre COVm ont été comparées. Des écarts importants ont été observés pour certains composés tels que le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, l'acétone, l'acide acétique et le méthylglyoxal. Afin d'identifier si ces différences pouvaient provenir du moyen de maintenir l'HR qui diffère dans les deux chambres, une expérience a spécifiquement été mise en place et a permis de montrer que la présence d'eau liquide au sein la chambre « COVm » a pu être à l'origine des écarts rencontrés entre les concentrations parce que les COV très hydrophiles se sont potentiellement solubilisés dans l'eau. Ainsi il est très important d'être vigilant à la façon de maintenir l'humidité lorsque les COVm sont caractérisés, d'autant plus que ces composés sont très fréquemment des alcools ou de cétones, espèces particulièrement solubles.

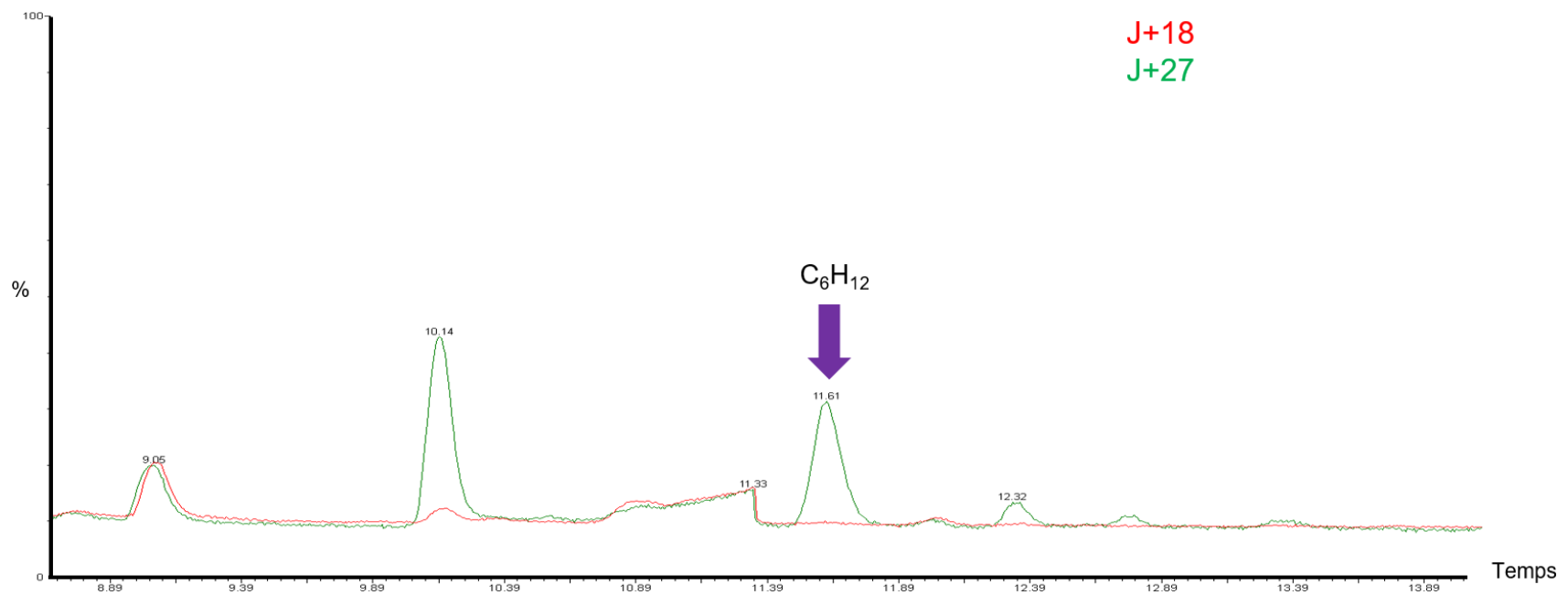
Au travers de ce travail de thèse et de la difficulté qui a été la nôtre d'identifier de COVm dans la chambre expérimentale utilisée, il serait intéressant de développer un protocole permettant de réduire le volume de la chambre expérimentale, ce qui permettrait d'obtenir une concentration plus importante de COVm dans l'enceinte, tout en mettant en place un balayage d'air zéro à faible débit afin d'éviter la rétrodiffusion de l'air intérieur vers la chambre d'évaluation. Il serait aussi très important d'être vigilant afin de maintenir une HR importante dans l'enceinte sans introduction d'eau liquide à l'intérieur du dispositif expérimental. En développant cette méthodologie, il serait intéressant également d'identifier à nouveau des COVm qui ne semblent pas aussi universels du développement fongique que certaines études bibliographiques semblent l'avoir indiqué.

Ainsi, ce travail de thèse a permis de définir un protocole expérimental permettant d'une part de modifier les techniques d'ensemencement initialement prévues dans les normes, et d'autre part d'identifier les COV microbiens dans des conditions d'évaluation dynamiques proches des conditions qui sont utilisées pour évaluer les émissions des matériaux et non pas dans des conditions statiques utilisées dans la plupart des études et qui s'éloignent très largement des conditions d'utilisation des matériaux en air intérieur dans des bâtiments.

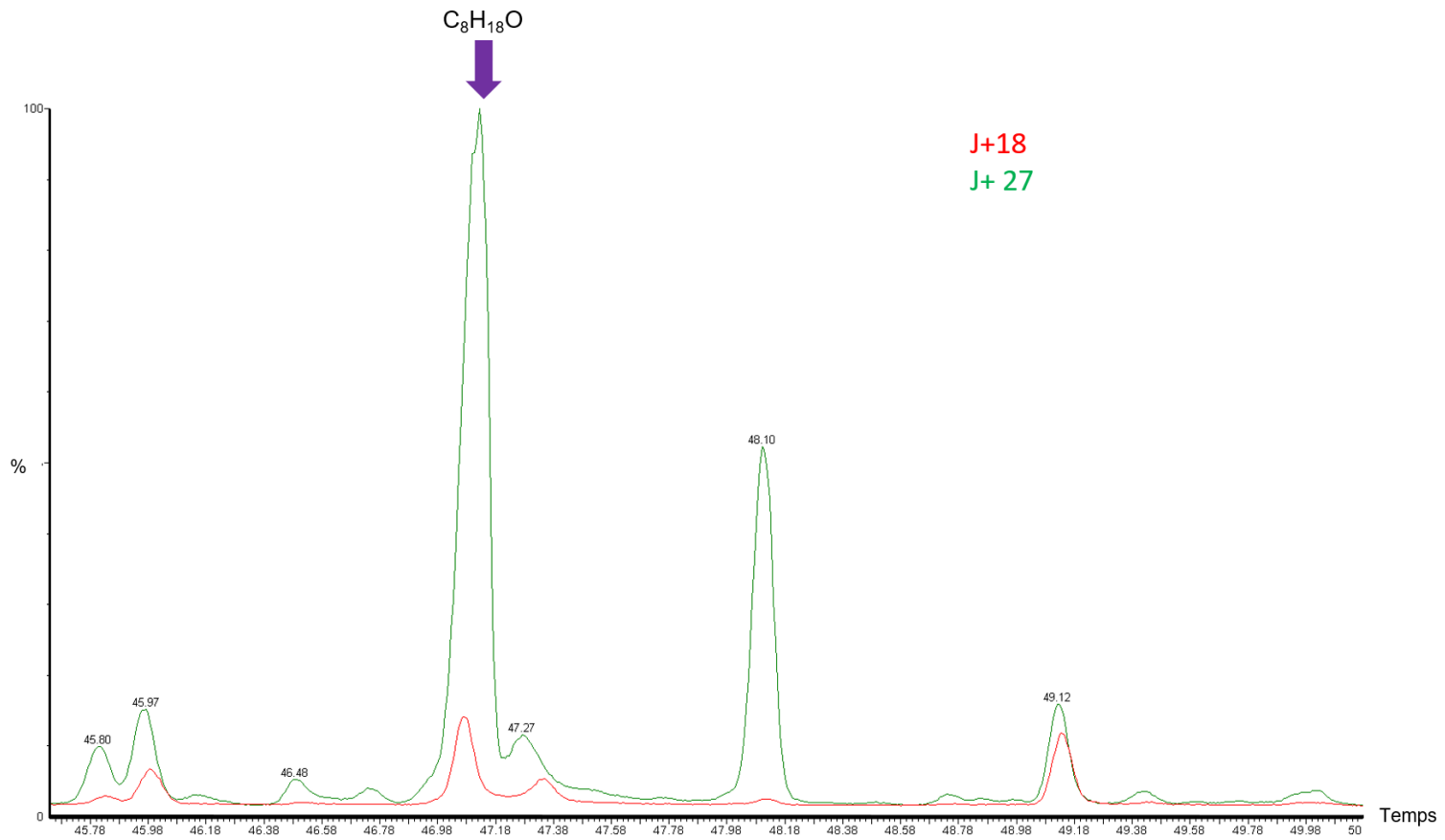
Annexes

1. Autres exemples de COV d'origine fongique identifiés par superposition des chromatogrammes des matériaux avant contamination et des matériaux présentant un développement fongique.

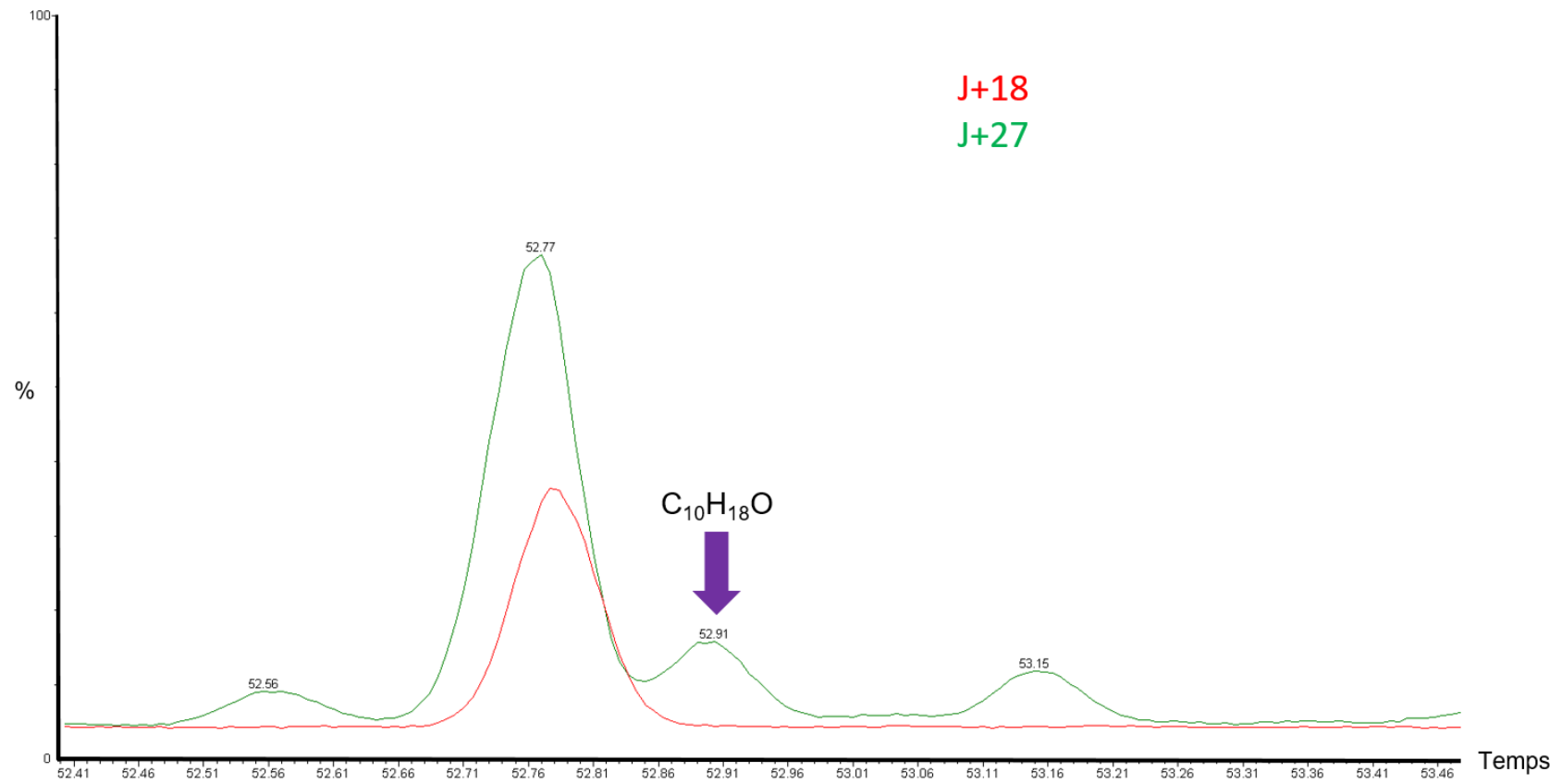
A. Le méthyl pentène (C_6H_{12}) : COVm identifié à 11,6 minutes sur chromatogrammes à J+27 après contamination des essais de l'isolant A (fibres de bois).



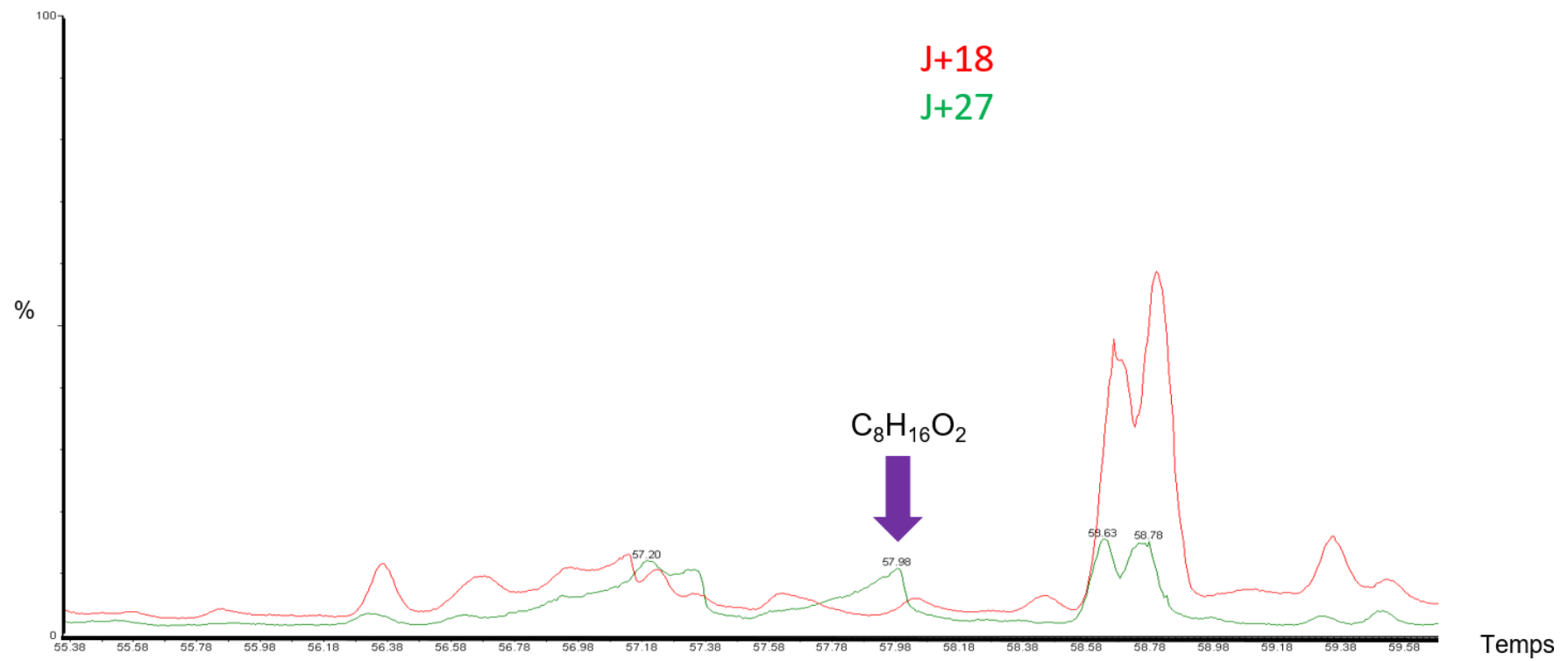
B. Le 2 éthyl -1 hexanol ($C_8H_{18}O$) : COVm identifié à 47 minutes sur chromatogrammes à J+27 après contamination des essais des isolants A (fibres de bois) et B (fibres de bois + laine de verre).



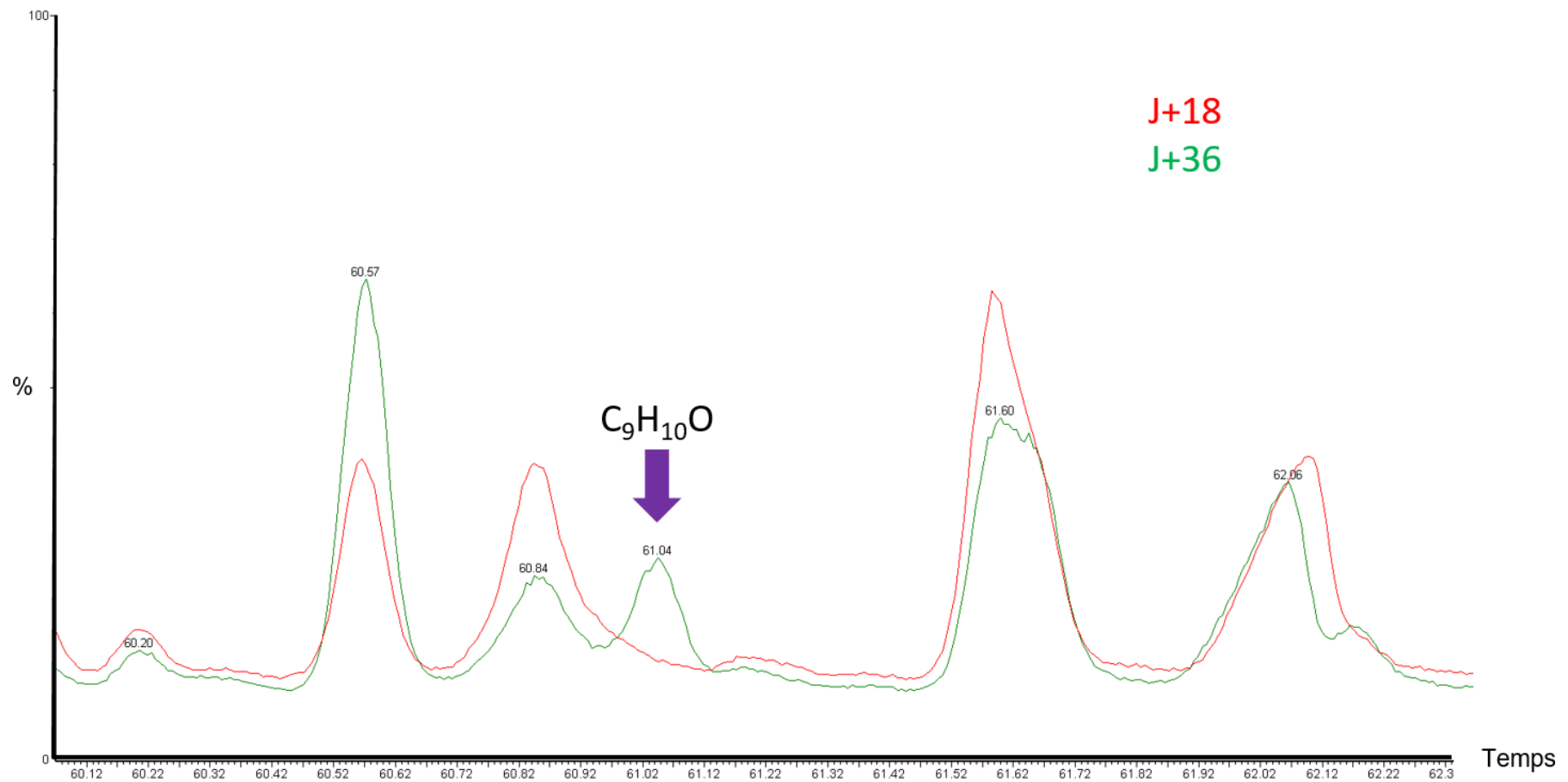
C. Le Linalol ($C_{10}H_{18}O$) : COVm identifié à 52,9 minutes sur chromatogrammes à J+27 après contamination des essais de l'isolant A (fibres de bois).



D. L'acide octanoïque ($C_8H_{16}O_2$) : COVm identifié à 57,9 minutes sur chromatogrammes à J+27 après contamination des essais de l'isolant A (fibres de bois).



E. Le diméthyl benzaldéhyde ($C_9H_{10}O$) : COVm identifié à 61 minutes sur chromatogrammes à J+36 après contamination des essais de l'isolant A (fibres de bois).



Titre : Etude de la potentialité du développement de microorganismes sur des matériaux d'isolation bio-sourcés et conventionnels utilisés dans la rénovation de bâtiments : impacts sur la qualité de l'air intérieur

Mots clés : matériaux bio-sourcés, développement fongique, qualité de l'air intérieur, composés organiques volatils

Résumé : Dans le contexte des transitions énergétique et environnementale, la réduction de la demande énergétique des bâtiments est devenue un des objectifs majeurs pour la société. Une des solutions possibles pour atteindre cet objectif est l'utilisation de matériaux bio-sourcés dans de rénovation énergétique de l'habitat et dans les constructions neuves répondant aux normes BBC. Or, compte tenu les isolants bio-sources sont hygrothermiques, il est important de veiller à ce que l'humidité ne s'accumule au sein de ce type de matériaux car cela peut favoriser le développement fongique et impacter la qualité de l'air intérieur.

Ce travail de thèse a eu pour objectif d'une part d'étudier la potentialité de différents matériaux d'isolation (matériaux bio-sourcés / matériaux conventionnels)

et d'autre part d'évaluer les émissions en COV de ces matériaux en absence et présence de moisissures.

Les résultats ont mis en évidence une variabilité des réponses des matériaux bio-sourcés face à la croissance fongique. Ensuite, ils ont révélé que les isolants bio-sourcés de l'étude sont peu émissifs en ce qui concerne les COV réglementaires et que d'autres composés sont majoritairement émis par ces matériaux. De même, une influence de l'HR élevée sur les émissions en composés organiques volatils (COV) des matériaux natifs a été observée. Enfin, 15 COV potentiellement microbiens (COVm) ont été identifiés comme pouvant être associés à la croissance d'*Aspergillus niger*.

Title : Study of the potential of the development of microorganisms on bio-based and conventional insulation materials used in the renovation of buildings : impacts on indoor air quality

Keywords : bio-based materials, fungal development, indoor air quality, volatile organic compounds

Abstract : In an ecological and environmental transition context, enhancing building energy efficiency has become a major objective for the society. One possible solution to reach this goal is the use of bio-based insulation materials in building retrofitting and new low energy constructions. However, as they are hygroscopic, it is important to avoid humidity accumulation within these materials because it may promote mould growth and influence volatile organic compounds (VOC) emissions from materials, degrading indoor's air quality.

This thesis aimed to assess the potentiality of bio-based and conventional insulation materials

to mould growth and to study VOC emissions from non-contaminated and contaminated materials.

The results showed a variety of responses from the materials to mould growth. Regarding VOC emissions, the studied materials are low emissive when it comes to regulatory compounds but other VOC are emitted from these materials. In addition, an influence of high relative humidity on VOC emission was observed. Thereafter, 15 microbial VOC (mVOC) associated with *Aspergillus niger* growth, were identified.