HAL
open science

Un nouveau test d'évaluation de la biodégradabilité dans le sol – Travaux de normalisation en cours

Marie-Christine Cecutti

To cite this version:

Marie-Christine Cecutti. Un nouveau test d'évaluation de la biodégradabilité dans le sol – Travaux de normalisation en cours. Oléagineux, Corps Gras, Lipides, 2003, 10 (5-6), pp.354-359. 10.1051/ocl.2003.0354 . hal-02092799

HAL Id: hal-02092799

https://hal.science/hal-02092799v1

Submitted on 8 Apr 2019

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

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

Open Archive Toulouse Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: http://oatao.univ-toulouse.fr/23545

Official URL: https://doi.org/10.1051/ocl.2003.0354

To cite this version:

Cecutti, Marie-Christine *Un nouveau test d'évaluation de la biodégradabilité dans le sol -- Travaux de normalisation en cours.* (2003) Oléagineux, Corps gras, Lipides, 10 (5-6). 354-359. ISSN 1258-8210

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

Un nouveau test d'évaluation de la biodégradabilité dans le sol -- Travaux de normalisation en cours

Auteur(s) : Christine CECUTTI , Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle -- UMR 1010 INRA \INPT-ENSIACET 118, route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex 04 Téléphone : 05-62-88-57-31 Télécopie : 05-62-88-57-30 <Christine.Cecuttiensiacet.fr> .

Author(s) : Christine CECUTTI

Résumé : Biodégradabilité primaire (disparition d'un composé parent), biodégradabilité ultime (stade terminal de la transformation du composé), écotoxicité, bio-accumulation autant d'outils à notre disposition pour évaluer l'impact environnemental des composés chimiques. Néanmoins, les problématiques ne sont pas les mêmes en milieu aqueux et en milieu sol. Le travail présenté dans cet article compare et cherche les correspondances entre les comportements dans les deux milieux pour valider un nouveau test d'évaluation de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques en milieu sol.

Summary : Primary biodegradability (analysis of disappearance of original compounds), ultimate biodegradability (complete mineralisation of organic material), ecotoxicity and bio-storage tests so many tools to assess the impact of chemicals on the environment. However, environmental hazards of organic compounds differ in aqueous and in soil medium. This article compares the chemical behaviour in both media in order to set up a new ultimate biodegradability test in soil.

Mots-clés : biodégradabilté primaire, biodégradabilité ultime, sol, migration, normalisation, méthode d'essai, huiles d'origine végétale.

Keywords : primary biodegradability, ultimate biodegradability, soil, migration, standards, vegetable based oils.

ARTICLE

Auteur(s) : Christine CECUTTI

Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle – UMR 1010 INRA/INPT-ENSIACET 118, route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex 04
Téléphone : 05-62-88-57-31
Télécopie : 05-62-88-57-30
<Christine.Cecutti@ensiacet.fr>

Pour évaluer l'impact des produits chimiques sur l'environnement, nous disposons de différents tests selon que l'on se situe en milieu aqueux ou en milieu sol. Dans les deux cas on utilise des tests

http://dx.doi.org/10.1051/ocl.2003.0354

d'évaluation de la biodégradabilité et des tests d'écotoxicité envers les organismes environnants. La biodégradabilité est le paramètre le plus utilisé mais l'écotoxicité donne une information complémentaire indispensable sur les propriétés inhérentes à la substance. À ces deux critères on peut également ajouter la notion de bio-accumulation évaluée généralement à l'aide du coefficient de partage octanol/eau.

Actuellement les tests d'écotoxicité qui font référence pour évaluer l'impact environnemental d'une substance sont les lignes directrices OCDE 201, 202 et 203 [1-3], qui représentent le milieu aquatique à travers les algues, les daphnies et les poissons.

Dans le sol on regarde le plus souvent l'impact sur les vers de terre et les micro-organismes du sol [4, 5]. Dans ce milieu complexe on doit également prendre en compte le paramètre de migration des composés au travers des différentes couches de sol. En premier lieu lorsqu'un produit est déposé sur le sol, il faut savoir s'il pénètre dans le sol ou s'il est entraîné par les eaux de ruissellement vers les cours d'eau, auquel cas il conviendra d'étudier sa biodégradation en milieu aqueux et de s'assurer qu'il n'est pas toxique envers les organismes vivant dans les rivières. En revanche si le composé pénètre dans le sol, un suivi spatio-temporel permet de contrôler sa dégradation dans le temps et dans l'espace, une migration trop rapide avec les eaux de drainage conduisant à une pollution des eaux souterraines et des nappes phréatiques. Si au contraire il reste adsorbé sur les particules de sol et dans la mesure où il est biodégradable, il pourra être transformé par les micro-organismes du sol et ne causera pas de dégâts environnementaux.

Pour évaluer la biodégradabilité dans l'eau, on dispose de tests reconnus, telles les lignes directrices de la série OCDE 301 [6] et plus particulièrement le test OCDE 301B ou la norme NF EN 29439 [7]. Mais pour ce qui est du sol, du fait de la nature différente et complexe de ce milieu, les tests réalisés dans l'eau ne sont pas forcément les mieux adaptés et la biodégradabilité peut être différente. En effet dans le sol, les substrats sont beaucoup moins disponibles et accessibles car c'est un milieu solide, ils peuvent s'adsorber aux particules de sol ; de plus le sol est moins bien oxygéné, et enfin les micro-organismes sont différents.

Il existe des normes qui citent des méthodes possibles pour évaluer la biodégradabilité dans le sol mais sans donner de détails [8]. Les seuls tests vraiment reconnus font appel à l'utilisation de molécules marquées radio-activement et il n'existe pas de test de référence simple à mettre en œuvre pour mesurer la biodégradabilité des substances chimiques dans le sol. C'est à ce niveau que se situent les travaux de recherche et développement menés dans le laboratoire de chimie agro-industrielle (LCA), afin de mettre au point une méthode expérimentale d'évaluation de la biodégradabilité ultime dans les sols, utilisable aussi facilement que le test OCDE 301B. Mais l'étape préliminaire pour arriver aux données de biodégradabilité ultime a été l'étude de la biodégradabilité primaire des composés dans le sol.

Biodégradabilité primaire des huiles dans le sol

Nos travaux de recherche ont porté sur l'étude de dérivés d'huiles utilisés dans deux domaines distincts : les produits phytosanitaires et l'exploitation forestière. Dans le premier cas il s'agissait d'huiles adjuvantes pour produits pesticides, et dans le cas de l'exploitation forestière nous avons étudié le comportement de lubrifiants utilisés comme fluides hydrauliques sur des machines de type porteurs, abatteuses, etc... Bien que ces domaines d'application soient très différents, ils présentent

le point commun d'employer des dérivés d'huiles qui, de par leur utilisation normale, sont amenés à être en contact avec le sol et sont donc susceptibles de provoquer des dégâts au niveau de l'environnement.

Les produits

Les adjuvants phytosanitaires

Les adjuvants phytosanitaires sont des substances dépourvues d'activité phytopharmaceutique mais capables d'améliorer les qualités techniques des matières actives phytosanitaires, lorsqu'elles sont ajoutées en mélange extemporané aux produits de traitement. Il existe quatre principaux types d'adjuvants : les tensioactifs, les solvants, les humectants et les huiles, et c'est sur cette dernière catégorie qu'ont porté nos travaux. Les huiles adjuvantes sont traditionnellement formulées sur des bases d'huiles d'origine pétrochimique mais, depuis une dizaine d'années, de nouveaux produits dérivés d'huiles végétales sont apparus en substitution des huiles adjuvantes classiques. Ces huiles de nouvelle génération présentent l'avantage d'être issues de ressources renouvelables et sont attendues pour présenter des propriétés environnementales intéressantes tant au niveau de leur biodégradabilité dans les milieux naturels, sol et eau, qu'au niveau de leur absence de toxicité envers l'homme et envers les organismes vivants en général. Un exemple type de ces huiles adjuvantes dérivées des huiles végétales est l'oléate de méthyle ou ester méthylique de l'acide oléique de formule développée :

$CH_3OCO(CH_2)_7CH = CH(CH_2)_7CH_3$

et nous l'avons utilisé comme molécule modèle pour nos études de biodégradabilité dans le sol [9-11].

Les lubrifiants en exploitation forestière

En exploitation forestière on utilise plusieurs catégories de lubrifiants pour des applications différentes : des huiles de chaîne pour graisser les chaînes des tronçonneuses, des huiles deux temps pour les moteurs des petits engins et des fluides hydrauliques pour les grosses machines type porteurs, abatteuses, tracteurs etc... Nous nous sommes intéressés plus particulièrement à cette dernière catégorie d'huiles car elle a un impact environnemental important : on utilise en France environ 3 000 tonnes par an de fluides hydrauliques pour les engins forestiers. Or on estime que le taux de perte des fluides hydrauliques dans l'environnement, quelles que soient les applications, se situe entre 15 et 30 % du volume total ; ces pertes résultent essentiellement des ruptures accidentelles des flexibles, qui sont inhérentes au fonctionnement des machines et peuvent donc conduire, dans le cas qui nous intéresse, au rejet de 900 tonnes de fluides hydrauliques dans le sol. L'impact écologique est non négligeable car on sait qu'il suffit d'un litre de lubrifiant pour polluer un million de litres d'eau potable. Là encore, l'utilisation de fluides hydrauliques formulés sur base végétale en substitution des fluides traditionnels d'origine pétrolière peut répondre au souci de protection environnementale en permettant de réduire les risques de pollution du sol, des eaux souterraines et des eaux de ruissellement. Nous avons étudié trois de ces biolubrifiants formulés à partir d'esters d'huiles végétales issues du colza et/ou du tournesol oléique : un ester de TMP

(triméthylolpropane) et deux HETG (fluides hydrauliques sur base d'huiles végétales). Une étude comparative a également mis en évidence les différences des qualités environnementales entre ces trois biolubrifiants et un fluide hydraulique classique d'origine pétrolière.

Méthodologie

Pour les deux applications, phytosanitaire et foresterie, la démarche scientifique visait à réaliser les études en se rapprochant le plus possible des conditions réelles d'utilisation de ces composés dérivés d'huiles végétales. Pour cela nous avons réalisé une étude complète de la biodégradabilité dans le sol sur le terrain, en plein champ et en lysimètres, avant de la transposer à l'échelle du laboratoire, dans le but d'arriver à la mise au point d'un test simple d'évaluation de la biodégradabilité. La méthodologie utilisée a porté sur le contrôle des paramètres suivants : le choix des concentrations étudiées, la nature des sols et les différentes conditions climatiques. Les études ont été réalisées dans un premier temps en plein champ puis en lysimètres ou colonnes de sol.

Les concentrations étudiées

Le choix des concentrations a été guidé par le souci de se situer dans les conditions réelles d'utilisation.
Pour les adjuvants phytosanitaires nous avons travaillé aux doses d'homologation, soit 2 L/ha. Pour les fluides hydrauliques nous avons choisi une quantité d'huile correspondant à la quantité déversée sur le sol à la suite à une rupture accidentelle des flexibles des machines forestières, soit 10 L/m^2.

Des sols et des climats différents

À travers le choix des sols et des climats régnant sur les sites de prélèvement, nous avons cherché à couvrir le plus possible toutes les situations réelles d'utilisation des produits. Au total quatre sols très différents provenant de régions éloignées les unes des autres et sous des climats différents ont été étudiés.
L'étude de l'oléate de méthyle dans le sol a été réalisée sur deux sols français caractéristiques : un sol du Sud-Ouest (région toulousaine) classiquement utilisé pour la culture du maïs, et un sol du Nord (région de Laon) destiné à la culture de la betterave, car l'huile adjuvante est essentiellement utilisée avec des bouillies herbicides pour ces deux types de culture. Les deux sols choisis sont donc représentatifs des domaines d'utilisation de l'adjuvant. Les biolubrifiants hydrauliques ont été étudiés dans des sols de forêts présentant des caractéristiques pédologiques différentes : un sol argileux de forêt de feuillus (département de l'Ariège) et un sol sableux de forêt de conifères (région des Landes). Le deuxième cas était particulièrement intéressant à étudier car il représentait une situation à haut risque environnemental du fait que la nappe phréatique se trouve à seulement 70 cm de profondeur : nous nous situions ainsi dans des conditions maximales de migration des produits dans le sol grâce à la nature sableuse du sol très perméable et donc également dans des conditions maximales de risque de pollution des eaux souterraines toutes proches de la surface.

Études en plein champ et en colonnes de sol

Le suivi de la biodégradabilité primaire des huiles dans le sol a été réalisé en plein champ par carottage mais surtout en lysimètres ou colonnes de sol non perturbé de 70 cm de hauteur et de 20 cm de diamètre, prélevés dans le champ puis transportés au laboratoire pour la suite de l'étude.

Dans les deux cas les produits étudiés sont déposés sur le sol aux concentrations choisies et des prélèvements et analyses des échantillons du sol sont réalisés au cours du temps. La pluviosité mesurée sur le terrain en plein champ est scrupuleusement reproduite sur les lysimètres au laboratoire grâce à un système d'arrosage automatique. La *figure 1* résume la méthodologie employée sur les lysimètres.

Les prélèvements et analyses de sol sur les lysimètres sont réalisés par découpage des colonnes de terre les unes après les autres aux intervalles de temps choisis pour l'étude. L'expérience est donc destructrice, et chaque lysimètre, à un temps donné de l'expérience, est découpé en tranches d'épaisseur variant de 2,5 à 10 cm selon la profondeur. Chaque tranche de terre est ensuite analysée séparément : les produits organiques sont retirés de la terre par extraction solide-liquide puis identifiés et quantifiés par des analyses chromatographiques en phase liquide ou gazeuse.

Une grille située en bas des colonnes permet la récupération des eaux de drainage dans lesquelles on contrôle aussi la teneur en produits organiques. On peut ainsi vérifier si les produits ont migré au-delà de 70 cm de profondeur et s'ils présentent un risque pour les eaux souterraines, notamment dans le cas du sol sableux.

Cette étude en lysimètres permet de suivre à la fois la migration des produits dans l'espace et leur disparition dans le temps. Il s'agit là de l'évaluation de la biodégradation primaire : on observe dans le temps la disparition du composé parent. Mais la technique décrite ici peut être appliquée également aux produits issus de la dégradation si on connaît leur nature, et on accède alors à un bilan complet du devenir du produit dans le sol. Ce travail a été réalisé pour l'oléate de méthyle, mettant ainsi en évidence le caractère totalement biodégradable du composé [9].

Résultats et discussion

La *figure 2* présente un exemple de résultats obtenus sur l'étude de l'adjuvant phytosanitaire, oléate de méthyle, en lysimètres. Les courbes en trois dimensions montrent à la fois la disparition progressive de l'huile au cours du temps et sa migration en profondeur dans le lysimètre. On constate la dégradation totale de l'oléate de méthyle 60 jours après son dépôt sur le sol et une migration sur les 20 premiers centimètres de profondeur, ce qui n'est guère surprenant car il s'agit d'un composé lipophile qui a donc tendance à ne pas être trop entraîné par les eaux de percolation. Le même type de courbe permet de suivre le devenir des biolubrifiants hydrauliques dans le sol argileux *(figure 3)* et sableux *(figure 4)*. On voit dans les deux cas la dégradation presque totale des dérivés d'huiles après 120 jours d'expérimentation. La migration des produits n'excède pas 50 centimètres de profondeur, même en sol sableux perméable [12].
En conclusion sur ces études du devenir des huiles d'origine végétale dans les sols, on peut dire que les taux de biodégradabilité primaire, dans les conditions d'utilisation des produits, sont de l'ordre de :

– 84 % pour les biolubrifiants hydrauliques en conditions extrêmes (déversement important sur un sol sableux) après 120 jours ;

– et 100 % pour la molécule modèle, l'adjuvant phytosanitaire oléate de méthyle, après 60 jours. Ces valeurs obtenues en lysimètres ont été confirmées par les mesures réalisées par carottage en plein champ. On a également montré que la migration des produits dans le sol n'excède pas 70 cm de

profondeur, même dans un sol sableux, et que dans ces conditions il n'y a pas de risque de pollution des eaux souterraines. Les données recueillies sur la biodégradabilité primaire des huiles dans le sol ont constitué les fondements du travail entrepris sur la mise au point d'une méthode simple permettant d'accéder à l'évaluation, cette fois, de la biodégradabilité aérobie ultime dans les sols.

Biodégradabilité ultime des huiles en milieu sol

Méthodologie

L'objectif était d'élaborer une nouvelle méthode en milieu sol qui viendrait compléter les tests d'évaluation de la biodégradabilité en milieu aqueux connus et reconnus des lignes directrices OCDE de la série 301. Le travail a été orienté dès le début vers la mise au point d'une méthode permettant de mesurer le stade ultime de la biodégradation aérobie des composés par mesure du CO_2 produit au stade ultime de leur transformation. Nous avons dans un premier temps cherché à corréler les résultats de biodégradabilité primaire en lysimètres avec la biodégradabilité ultime correspondante. Pour ce faire, nous avons imaginé un dispositif permettant de mesurer le dégagement de CO_2 au dessus des lysimètres, comme le montre la *photographie 1*. Le CO_2 dégagé était recueilli dans une cage en plastique transparent imperméable aux gaz, puis piégé et dosé dans des solutions de baryte selon le principe du test de Sturm. Ce dispositif a permis d'évaluer une biodégradation ultime de l'oléate de méthyle de l'ordre de 70 % correspondant à la totale biodégradabilité primaire en lysimètres.
Puis dans un deuxième temps nous avons imaginé un montage expérimental sur le même principe, mais plus petit et plus simple à mettre en œuvre (*photographie 2*) et nous avons travaillé les conditions opératoires de ce test jusqu'à obtention du même taux de biodégradation ultime de 70 % pour l'oléate de méthyle. Le test est là encore basé sur le même principe du test de Sturm modifié utilisé dans le protocole OCDE 301B ; mais dans ce nouveau test les réacteurs d'essai ne contiennent pas d'eau inoculée avec des micro-organismes provenant de stations d'épuration, mais simplement du sol naturel avec ses micro-organismes d'origine. Tout un travail de mise au point de ce test a été réalisé et a permis l'étude de l'évaluation de la biodégradabilité ultime des dérivés d'huiles végétales dans le sol.

Résultats et discussion

Les mêmes composés que précédemment ont été analysés : d'une part l'oléate de méthyle, qui a servi à valider le test par rapport aux expériences de biodégradabilité primaire, et d'autre part les biolubrifiants hydrauliques. Sur la *figure 5* on peut voir la comparaison des cinétiques de biodégradation ultime de l'huile adjuvante en milieu sol selon le nouveau test et en milieu liquide selon la ligne directrice OCDE 301B. On observe que les cinétiques de biodégradation suivent les mêmes tendances en milieu sol et en milieu liquide, confirmant le caractère facilement biodégradable de l'oléate de méthyle. D'autre part le taux de biodégradation en fin de test est plus faible en milieu sol (70 %) qu'en milieu liquide (82 %). Ceci peut s'expliquer par le fait que dans le sol le substrat est moins bio-disponible envers les micro-organismes car il s'adsorbe aux particules solides. D'autre part, dans ce milieu, l'aération et donc l'oxygénation sont moindres qu'en milieu liquide sous agitation et ces conditions sont moins favorables pour une biodégradation aérobie. Enfin une partie du composé biodégradé est transformée en biomasse et cette part de carbone organique ne peut être quantifiée en milieu sol. Une fois la méthode validée avec l'oléate de méthyle, des mesures identiques ont été réalisées pour évaluer la biodégradabilité ultime des lubrifiants

hydrauliques. À titre d'exemple, la *figure 6* rassemble les courbes obtenues pour les trois biolubrifiants forestiers dans le sol sableux. On observe des taux de biodégradation compris entre 60 et 65 % après 28 jours d'expérimentation. Si les trois biolubrifiants présentent des comportements identiques, il n'en est pas de même pour leur homologue d'origine pétrochimique, qui a un taux de biodégradation de 28 %. Ce dernier point valide le test pour un produit peu biodégradable et confirme le meilleur comportement environnemental des produits dérivés des huiles végétales. L'ensemble de ces résultats montre que la gamme des taux de biodégradabilité en milieu sol mesurés à l'aide de la nouvelle méthode est décalée par rapport à celle obtenue en milieu liquide, et ceci s'explique logiquement par la nature du milieu d'essai. La méthode a été validée par des corrélations avec des mesures de biodégradabilité primaire, et les diverses expérimentations menées sur les huiles ont montré que la technique permettait de différencier les composés suivant leur facilité à être biodégradés.

Travaux de normalisation en cours

Ces travaux de recherche novateurs dans le domaine de l'évaluation de la biodégradabilité ultime dans le sol méritaient d'être approfondis et étendus à l'ensemble des composés organiques afin d'être finalisés dans une norme d'essai reconnue. Aussi se poursuivent-ils actuellement en collaboration avec l'Association Française de Normalisation (AFNOR) dans le cadre de la commission écotoxicologie terrestre T95E, avec pour objectif la normalisation du test expérimental mis au point au LCA.
La base du travail est le projet de norme NF X 31-222 : « Qualité du sol – Evaluation de la biodégradabilité ultime des composés organiques – Méthode par dosage du dioxyde de carbone dégagé ».

Le texte de ce projet de norme a été rédigé ; il est basé sur les principes développés dans l'étude de la biodégradabilité ultime des huiles dans le sol et prend en compte les produits chimiques en général. Au cours de l'avancement des travaux de la commission de normalisation, le protocole du test a été approfondi et détaillé afin de réaliser un test précis, fiable et reproductible. La définition de certains paramètres a demandé une attention particulière, notamment en ce qui concerne les points suivants :

– Critères de sélection du sol : teneur en C, pH, teneur en argile, C/N, CEC, porosité, etc...

– Biomasse : dénombrement et conservation des micro-organismes du sol (on utilise pour cela une solution nutritive),

– Phase de pré-incubation du milieu d'essai (stabilisation de la respiration des micro-organismes),

– Mode d'introduction des substances d'essai : elles peuvent être solubles ou non dans l'eau, ou formulées ou non.

Le travail est mené grâce à des essais inter-laboratoires coordonnés par le LCA, auxquels participent quatre laboratoires : IRH Environnement à Nancy, INERIS à Verneuil-en-Halatte, BfB Oil Research à Gembloux et le LCA à Toulouse. À ce jour, une première série de tests a donné des résultats satisfaisants pour le glucose qui sert de composé de référence positive, et les essais se poursuivent

avec d'autres substances chimiques qui sont attendues pour avoir des taux de biodégradation différents.

Conclusion

Les travaux de recherche présentés dans cet article répondent aux préoccupations actuelles, à savoir, distinguer les produits en fonction de leur qualité environnementale et plus précisément lorsqu'ils sont déposés sur le sol.

L'évaluation de la biodégradabilité est un outil indispensable pour connaître l'impact des produits dans l'environnement et nous l'utilisons au laboratoire pour valoriser les produits issus du végétal. Nos travaux sont très fortement impliqués dans les processus de normalisation, en matière d'élaboration de nouvelles normes de spécification de produits [13] ou de méthodes d'essais, car les normes sont les messagers des avancées scientifiques auprès des utilisateurs et des citoyens.

Le travail de normalisation du test d'évaluation de la biodégradabilité aérobie dans le sol est en cours. Il s'agit là d'un travail de groupe pour réaliser des essais circulaires inter-laboratoires qui seuls permettront d'affiner encore la technique et de la valider en ultime étape. On disposera alors enfin, pour la première fois, d'une norme expérimentale permettant d'évaluer la biodégradabilité des substances chimiques dans le sol.

Remerciements à l'ADEME et l'ONIDOL pour leur soutien financier.

RÉFÉRENCES

1. OCDE ligne directrice 201 – Norme internationale ISO 8692 : Algues, essai d'inhibition de la croissance.

2. OCDE ligne directrice 202 – Norme internationale ISO 6341 : Daphnies, essai d'immobilisation immédiate et essai de reproduction sur 14 jours.

3. OCDE ligne directrice 203 – Norme internationale ISO 7346 : poissons, essai de toxicité aiguë.

4. OCDE ligne directrice 207 – Norme française NF X 31-250 : vers de terre *Eisenia fetida*, test de toxicité aiguë.

5. OCDE ligne directrice 216 : Micro-organismes du sol, essai de transformation de l'azote. OCDE ligne directrice 217 : Micro-organismes du sol, essai de transformation du carbone.

6. OCDE Ligne directrice 301 : Essais de produits chimiques – Biodégradabilité facile.

7. Norme NF EN 29439 : Qualité de l'eau – évaluation en milieu aqueux de la biodégradabilité aérobie ultime des composés organiques par dosage du dioxyde de carbone dégagé.

8. Norme ISO 14239 : Qualité du sol – Méthodes de mesure de la minéralisation de produits chimiques organiques dans le sol sous conditions aérobies, au moyen de systèmes d'incubation de laboratoire.

9. AGIUS D. (2000). *Biodégradabilité et devenir d'une huile adjuvante d'origine végétale dans le sol. Elaboration d'un projet de norme*. Thèse INPT N° 1669.

10. CECUTTI C, AGIUS D, CAUSSADE B, GASET A. Fate in the soil of an additive of plant origin. *Pest. Manag. Sci.* 2002 ; 58 : 1236-42.

11. AGIUS D, CECUTTI C, ROQUES C, GASET A. Huile adjuvante : devenir des esters méthyliques dans le sol. *OCL* 1999 ; 6 : 396-400.

12. CECUTTI C. (2001). *Impact environnemental de lubrifiants d'origine végétale utilisés dans l'exploitation forestière*. Rapport de convention AGRICE 00 01 013.

14. NF T 60-720 : Produits d'origine végétale – Caractérisation des qualités environnementales des adjuvants phytosanitaires d'origine végétale. n

Illustrations

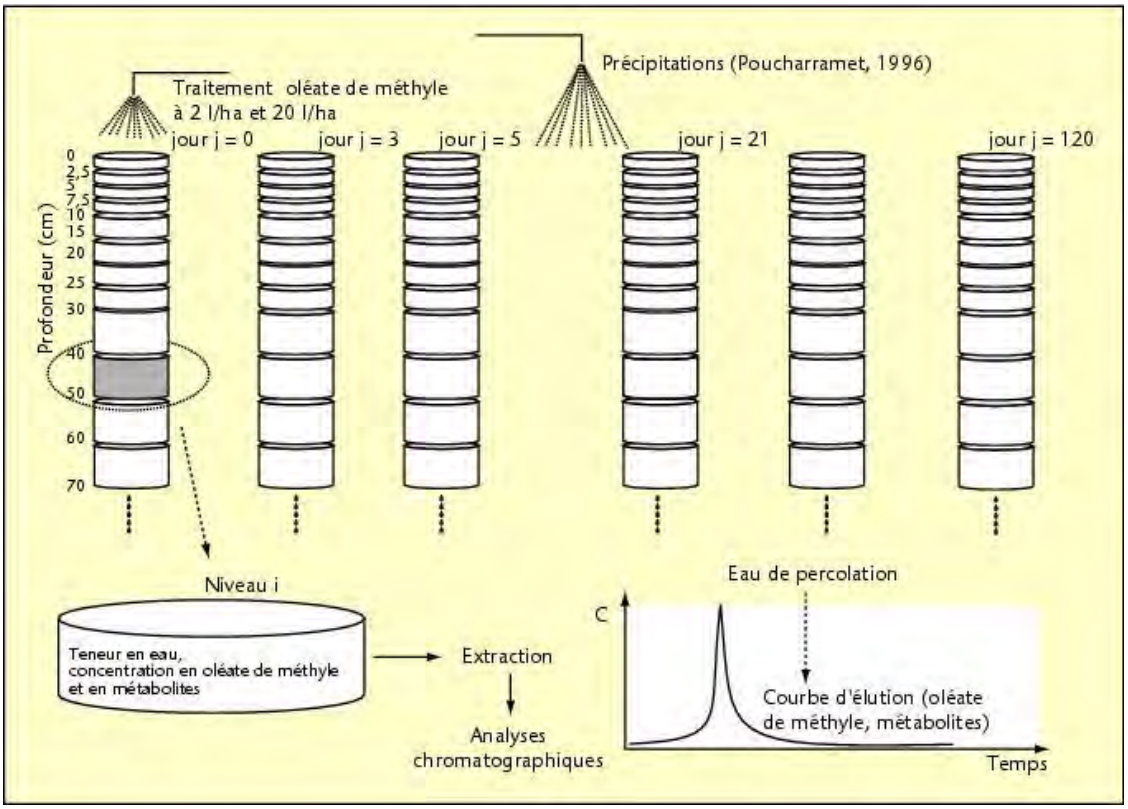

Figure 1. *Schéma récapitulatif de la méthodologie d'évaluation de la biodégradabilité primaire des huiles sur lysimètres.*

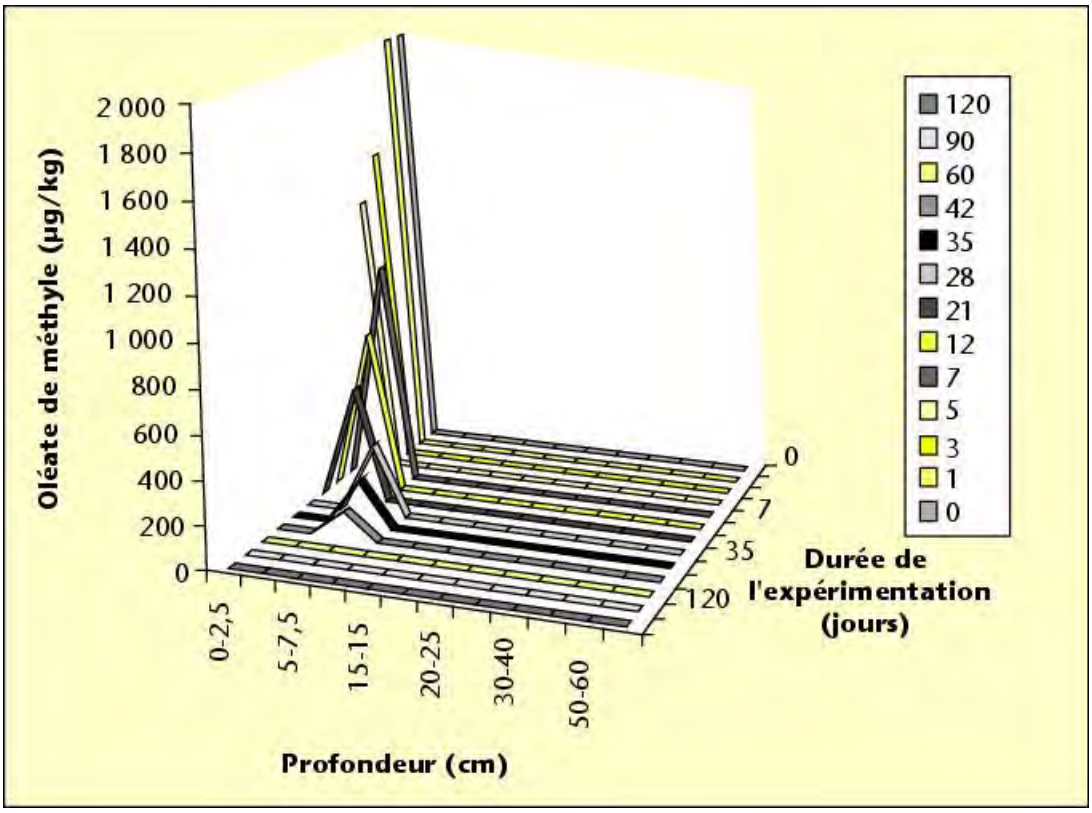

Figure 2. *Biodégradation primaire en lysimètre de l'oléate de méthyle dans le sol du Sud-Ouest.*

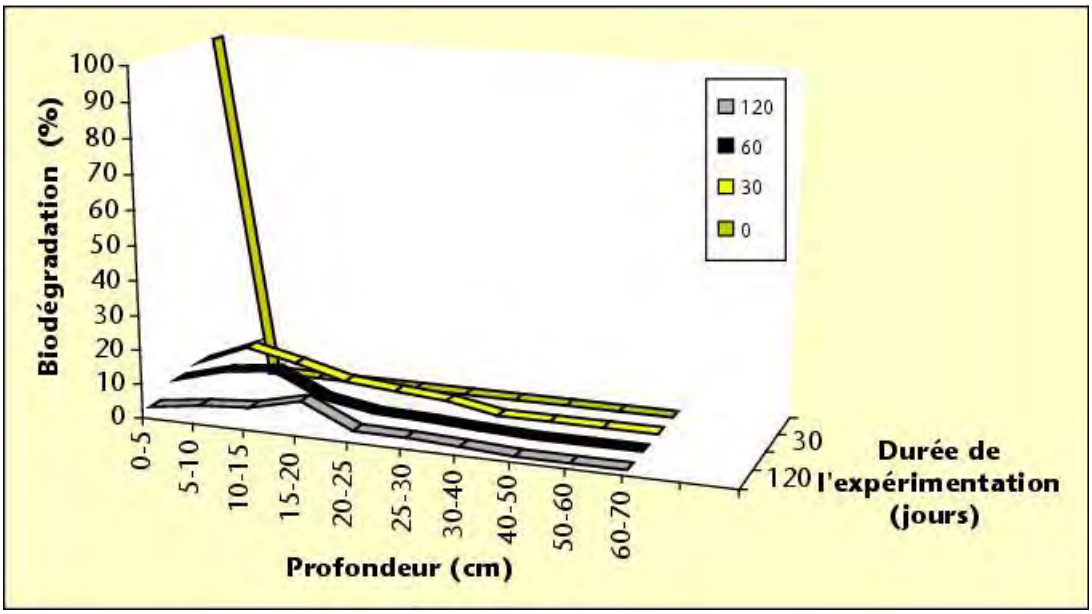

Figure 3. *Biodégradation primaire en lysimètre du biolubrifiant HETG 346 dans le sol argileux.*

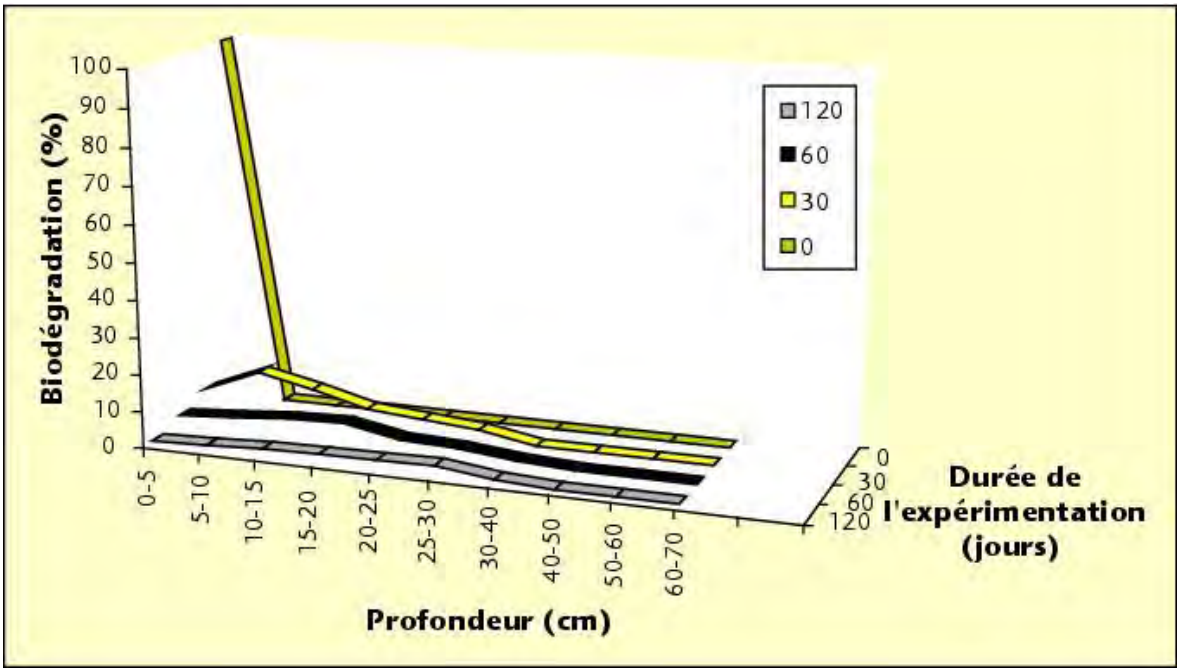

Figure 4. *Biodégradation primaire en lysimètre du biolubrifiant hydraulique HETG 346 dans le sol sableux.*

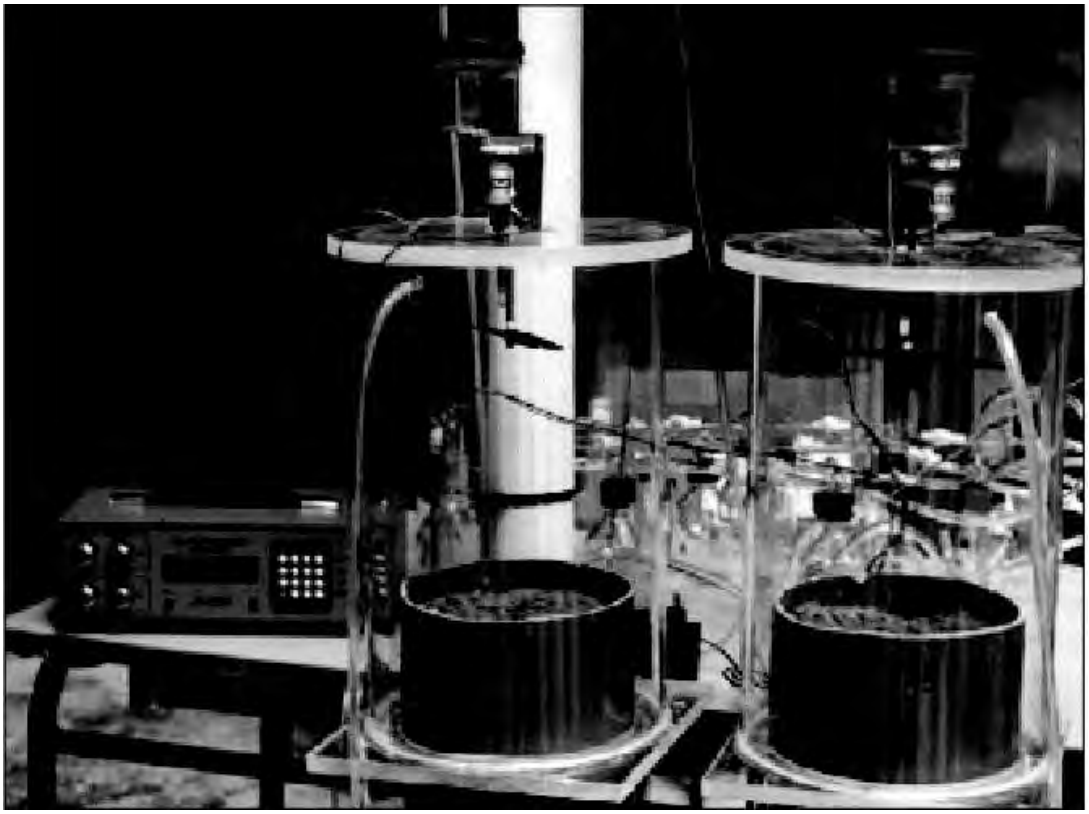

Photo 1. *Dispositif de mesure de biodégradabilité ultime au-dessus des lysimètres.*

Photo 2. *Nouveau test de laboratoire d'évaluation de la biodégradabilité ultime en milieu sol.*

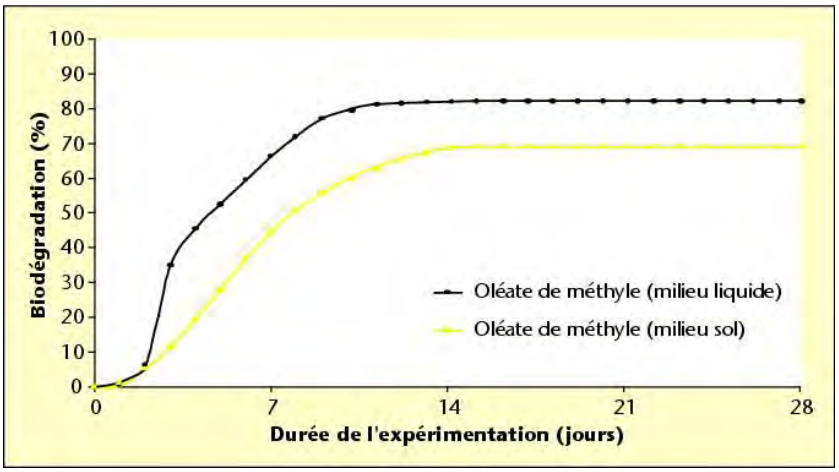

Figure 5. *Biodégradation ultime de l'oléate de méthyle dans un sol du Sud-Ouest.*

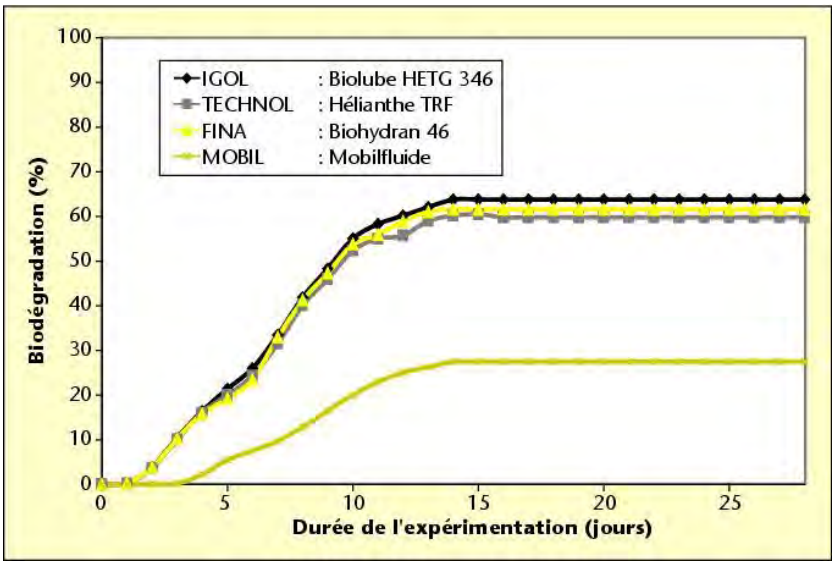

Figure 6. *Biodégradation ultime des fluides hydrauliques dans le sol sableux.*