



**HAL**  
open science

# Bioalteration de verres basaltiques modèles : impact des sidérophores et rôle du fer

Anne Perez

► **To cite this version:**

Anne Perez. Bioalteration de verres basaltiques modèles : impact des sidérophores et rôle du fer. Matériaux. Université Paris-Est, 2015. Français. NNT : 2015PESC1153 . tel-01320211

**HAL Id: tel-01320211**

**<https://theses.hal.science/tel-01320211>**

Submitted on 23 May 2016

**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.



UNIVERSITÉ  
— PARIS-EST

**THESE de DOCTORAT**  
de l'Université Paris-Est  
Discipline **Géomatériaux**

soutenue le 23/11/2015

Pour obtenir le grade de  
**Docteur de l'Université**  
**Paris-Est**

*Ecole Doctorale Sciences,  
Ingénierie et Environnement*

Présentée par  
**Anne PEREZ**

Bioaltération de verres  
basaltiques modèles:  
impact des sidérophores  
et rôle du fer

**Composition du jury**

Karim BENZERARA.....	Rapporteur
Stéphane GIN .....	Rapporteur
Marc BENEDETTI .....	Président du jury
Damien DAVAL.....	Examineur
Judith SEBBAN.....	Examinatrice
Stéphanie ROSSANO.....	Directrice de thèse
Nicolas TRCERA.....	Encadrant de thèse



Alors se fit un silence si diaphane  
qu'à travers le désordre des oiseaux  
et les syllabes de l'eau sur la pierre  
on percevait le souffle désolé de la mer.

Gabriel García Márquez, *L'amour au temps du choléra*

Photographie en couverture: *Black water over basalt stones*  
©Russell Tomlin (Oregon, USA)

Merci à lui!



# Remerciements

J'adresse avant tout un grand merci aux membres de mon jury de thèse, pour avoir accepté d'évaluer mon travail et pour la discussion scientifique très enrichissante qui a eu lieu lors de la soutenance.

Idéalement, j'aimerais remercier individuellement chaque personne avec qui j'ai eu la chance d'interagir au cours de ma thèse, à Paris, à Londres ou ailleurs. Je m'estime très chanceuse d'avoir été si bien entourée, à chaque instant, et j'aimerais profiter de cette page de remerciements pour m'adresser en particulier à neuf d'entre-elles.

Un grand merci à Nicolas, mon co-encadrant au sang-froid de compétition et à la franchise implacable, qui *en théorie* est une personne avec qui la boule d'émotions que je suis aurait dû rencontrer quelques difficultés à communiquer. *Que nenni*, ton détachement a très bien fonctionné sur moi et je tiens à souligner ta gentillesse extrême et le fait que tu étais indispensable à ce projet.

Je l'ai dit lors de ma soutenance et l'affirme à nouveau ici, si j'avais la possibilité d'imaginer un futur « moi », je choisirai d'être un mélange (savamment dosé !) de trois personnes incroyables avec qui j'ai eu la grande chance de travailler, j'ai nommé Aurélie Verney-Carron, François Guyot et évidemment Stéphanie, ma directrice de thèse de choc. Une pensée toute particulière pour Stéphanie, qui est maintenant mon amie, doublée de mon coach mental personnel. Au moment où j'écris ces mots, je réfléchis encore à un moyen de te remercier, pour tout. Je pense qu'il est assez évident que ces trois années de doctorat m'ont complètement changé, à bien des niveaux, et que tu as inspiré cette évolution.

Je me répète, je suis très chanceuse, puisque la thèse m'a fait aussi le cadeau de deux amies très proches, Caro et Ilaria *ou* ma petite famille recomposée à Paris. La crème de la crème de la rigolade, beaucoup de musique et de grands moments de serrage de coudes. Je vous aime !

Je voudrais dédier ce manuscrit à ma maman et ma sœur, qui ont été parfaites, comme toujours. Cher lecteur qui t'aventure hardiment par ici, sache qu'elles ont consciencieusement relu toutes ces pages sans se poser de questions !

Enfin, en essayant de ne pas tomber au passage dans un grand pot de pralines roses, je voudrais remercier mon amoureux de l'autre côté de la mer, pour tous ces week-ends embellis à grand renfort de trajets en Eurostar et de *benedict eggs*, pour son admiration et pour son soutien sans faille.



# Préambule

Le domaine scientifique de l'altération des verres est un domaine actif dans de nombreux laboratoires et les implications des études traitant de l'altération sont diverses et présentent de nombreux enjeux, qu'ils soient environnementaux, géologiques, ou encore culturels.

C'est par exemple en raison de leurs propriétés de durabilité (et bien entendu de leur transparence), que les verres sont utilisés dans le domaine de la construction, dans le but d'apporter de la lumière à l'intérieur des édifices. Le temps qui passe constitue néanmoins un vecteur d'altération, altération perceptible *via* la perte de transparence de ce matériau, voire sa dégradation partielle. Un exemple révélateur est celui des vitraux, dont la perte d'éclat et l'opacification au fil des siècles rend plus difficile l'appréciation de ces œuvres d'art. Les mécanismes d'altération responsables de ces dommages esthétiques/pratiques sont variés et généralement liés au ruissellement des pluies ou aux interactions entre les verres et les polluants ou aérosols présents dans l'atmosphère (Gentaz, 2011; De Bardi *et al.*, 2013; Lombardo *et al.*, 2013).

Outre cette perception immédiate de l'altération des verres dans notre vie quotidienne, on peut aussi évoquer les études sur l'altération des matrices vitreuses utilisées pour le stockage des déchets radioactifs, résultant de la production d'énergie nucléaire. Ces déchets sont enfouis dans des formations géologiques profondes, pour des durées s'échelonnant entre plusieurs dizaines à plusieurs centaines de milliers d'années. La prédiction de l'altération de ces matrices vitreuses et notamment de leur résistance à l'eau, dans l'optique de minimiser l'impact des déchets de haute activité à vie longue, constitue finalement un enjeu environnemental de premier plan.

Enfin, rappelons que les verres silicatés sont présents en abondance à la surface de la Terre et notamment à proximité des dorsales océaniques, au niveau desquelles environ  $18 \text{ km}^3$  de lave en fusion sont trempés chaque année. Les mécanismes d'altération des verres volcaniques au contact de l'eau de mer sont connus pour contrôler en partie la composition de cette dernière mais aussi la composition de la croûte océanique (Hart et Staudigel, 1982) et influencer en conséquence la géochimie du manteau terrestre (Bach et Edwards, 2003) et la teneur en oxygène de l'atmosphère (Lécuyer et Ricard, 1999). L'altération de tels matériaux pourrait aussi avoir, sur une échelle de temps géologique, un impact significatif sur le

climat terrestre en contribuant au piégeage du CO<sub>2</sub> atmosphérique à travers les processus de carbonatation des roches volcaniques (Brady et Gislason, 1997). Comprendre les mécanismes d'altération de la croûte océanique à basses températures est donc primordial pour tirer au clair les réactions contrôlant ces échanges chimiques et améliorer les modèles géodynamiques terrestres existant.

Il est toutefois aujourd'hui admis que l'altération des verres ne résulte pas uniquement des interactions verre/eau ou verre/atmosphère. La responsabilité des microorganismes dans les réactions d'altération de ces matériaux est une évidence, à l'instar de ce qui est observé pour les vitraux (Krumbein *et al.*, 1991; Ferrand, 2014), ou les verres volcaniques (Hutchens, 2009). Les microorganismes interagissent fortement avec leur environnement, quel qu'il soit, en modifiant la spéciation des composés minéraux ou organiques qui les entourent et en participant aux phénomènes de biominéralisation (Crundwell, 2003; Kinzler *et al.*, 2003; Benzerara *et al.*, 2011). Depuis leur émergence, les microorganismes pourraient donc avoir continuellement et de manière significative affecté la minéralogie à la surface de la Terre et influé conjointement sur la biodisponibilité des éléments chimiques aux organismes vivants. Néanmoins, les processus élémentaires mis en jeu via les réactions d'oxydo-réduction, de complexation et d'acidolyse restent à approfondir et à relier à la nature du substrat vitreux.

Les verres basaltiques sont des verres issus du volcanisme océanique. Ils constituent la fraction vitreuse des basaltes, roches recouvrant 60% de la surface de la Terre. Ils sont aussi, avec les verres historiques, d'excellents analogues aux verres nucléaires et l'étude d'échantillons de verres basaltiques océaniques permet d'établir des modèles d'altération à long-terme de ces matrices de confinement (Libourel *et al.*, 2011). Pour ces raisons, les verres basaltiques sont d'excellents supports pour l'étude des processus d'altération des verres silicatés. De plus, depuis ces deux dernières décennies, la grande diversité et l'abondance des microorganismes peuplant les habitats basaltiques ont été à plusieurs reprises démontrées. Toutefois, le rôle exact endossé par les microorganismes et notamment par les bactéries dans les processus d'altération de ces verres n'est, du fait de la complexité des systèmes impliqués, toujours pas clairement défini. A l'heure actuelle, malgré le rôle évident des microorganismes sur l'altération de verres historiques (Krumbein *et al.*, 1991; Messiga et Riccardi, 2006), seules quelques études concernent l'action des microorganismes sur des verres d'oxyde simples (Staudigel *et al.*, 1995; Gallien *et al.*, 2001; Stockmann *et al.*, 2012) et il n'existe finalement pas de validation convaincante de l'implication des bactéries dans les mécanismes d'altération des verres basaltiques.

Dans ce travail, j'ai donc souhaité évaluer qualitativement et, dans la mesure du pos-

sible quantitativement, la participation de la souche bactérienne *Pseudomonas (P.) aeruginosa* aux processus d'altération des verres basaltiques à température ambiante. Ce travail est principalement une étude cinétique de ces processus, réalisée en régime de vitesses initiales, en d'autres mots à court-terme, afin de dégager les principales interactions se mettant en place entre les verres et la souche. Pour ce faire, des verres basaltiques modèles de composition simplifiée ont été immergés dans diverses solutions altérantes. L'analyse d'échantillons de ces solutions prélevés quotidiennement a permis non seulement d'évaluer les cinétiques d'altération de ces verres, mais aussi de caractériser la stœchiométrie de leur dissolution, ainsi que d'étudier et quantifier l'activité bactérienne. La stratégie expérimentale adoptée lors de ce travail a consisté à décomposer les systèmes réactionnels complexes impliquant bactéries et verres basaltiques océaniques en situations expérimentales simplifiées ciblant de manière isolée (1) les effets des exsudats bactériens potentiels (*expériences en conditions abiotiques*), puis (2) d'une souche hétérotrophe susceptibles d'être retrouvée parmi les souches peuplant les habitats basaltiques (*expériences de bioaltération*).

Les principales interrogations auxquelles les pages qui suivent entendent fournir une réponse sont les suivantes :

- ◇ *P. aeruginosa* est-elle capable d'accélérer de manière significative la dissolution d'un verre basaltique ? Si oui, un seul type d'interaction verre/bactéries (contact direct avec la souche, impact des exsudats produits par la souche, rôle joué par les biofilms) domine-t-il les processus d'altération ?
  
- ◇ Au vu du rôle énergétique clé joué par le fer dans le métabolisme de *P. aeruginosa*, la composition du verre (teneurs variables en Fe(II) et Fe(III)) régule-t-elle l'action de la souche sur la dissolution ?
  
- ◇ L'action des *sidérophores* (molécules organiques synthétisées par un grand nombre de souches ferri-réductrices lorsque l'environnement cellulaire est carencé en fer), décrites dans la littérature comme accélératrice des processus de dissolution de nombreuses phases minérales, est-elle significative dans le cas des verres basaltiques ?
  
- ◇ Comment caractériser la faible altération que présentent des échantillons de verres basaltiques issus d'expérience de dissolution à température ambiante, à court et moyen terme ?

Dans un premier temps, une introduction générale sur l'altération des verres basaltiques (phénoménologie, mécanismes et aspects cinétiques) ainsi qu'un état de l'art des in-

---

teractions entre roches et microorganismes seront présentés (Chapitre 1). Puis, les protocoles de synthèse et de caractérisation des verres basaltiques modèles supports de cette étude seront détaillés et un plan général des expériences réalisées ainsi qu'un inventaire des techniques d'analyse mises en œuvre seront donnés (Chapitre 2). Seront ensuite présentés les résultats des expériences de dissolution en conditions abiotiques (Chapitre 3) et des expériences de bioaltération (Chapitre 4). Un dernier volet expérimental sera consacré au travail méthodologique effectué pour la caractérisation des surfaces de verres faiblement altérés et notamment à la mise en place d'un protocole d'analyse par LA-ICP-MS. Le Chapitre 7 fera le bilan des résultats obtenus et des discussions menées et permettra de conclure quant aux perspectives de ce travail.

# Table des matières

<b>Préambule</b>	<b>7</b>
<b>1 Introduction générale</b>	<b>27</b>
1.1 Contexte de l'altération des verres basaltiques . . . . .	27
1.1.1 Origine et milieu d'altération . . . . .	27
1.1.1.1 Origine des verres basaltiques . . . . .	27
1.1.1.2 Eaux altérantes . . . . .	28
1.1.1.3 Pourquoi impliquer les microorganismes? . . . . .	31
1.1.2 Les enjeux de l'altération des verres basaltiques . . . . .	31
1.1.2.1 Implication dans les grands cycles géochimiques . . . . .	32
1.1.2.2 L'analogie aux verres nucléaires . . . . .	39
1.1.2.3 L'application aux basaltes martiens et lunaires . . . . .	40
1.2 Processus d'altération des verres basaltiques et implication des microorganismes . . . . .	40
1.2.1 Phénoménologie de l'altération des verres basaltiques naturels . . . . .	40
1.2.1.1 Rappels sur les mécanismes . . . . .	40
1.2.1.2 Formation des produits secondaires . . . . .	45
1.2.2 Des indices d'une action microbienne . . . . .	46
1.2.3 Cinétiques d'altération . . . . .	52
1.2.3.1 Rappel sur les cinétiques d'altération en eau pure . . . . .	52
1.2.3.2 Cinétiques en milieux naturels . . . . .	60
1.2.3.3 Rôle des bactéries . . . . .	61
1.3 Impact global de l'implication bactérienne et conclusions . . . . .	69
<b>2 Echantillons et Méthodologies</b>	<b>73</b>
2.1 Echantillons basaltiques . . . . .	74
2.1.1 Synthèse des verres . . . . .	74
2.1.2 Mise en forme des échantillons . . . . .	79
2.1.2.1 Monolithes . . . . .	79
2.1.2.2 Poudres . . . . .	81

---

2.1.3	Caractérisation des solides préparés . . . . .	82
2.1.3.1	Contrôle des compositions . . . . .	82
2.1.3.2	Évaluation du caractère amorphe après la trempe . . . . .	83
2.1.3.3	Aspect de la surface . . . . .	84
2.1.3.4	Environnement structural du fer . . . . .	86
2.1.3.5	Surfaces d'altération . . . . .	88
2.2	Expériences d'altération . . . . .	90
2.2.1	Protocoles expérimentaux . . . . .	90
2.2.1.1	Expériences en eau pure . . . . .	92
2.2.1.2	Expériences en milieu de culture . . . . .	95
2.2.2	Caractérisation des échantillons issus des expériences d'altération . . . . .	105
2.2.2.1	Analyse des liquides . . . . .	105
2.2.2.2	Analyse des solides . . . . .	109
2.2.3	Bilan des échantillons altérés . . . . .	112
<b>3</b>	<b>Mécanismes et cinétiques de dissolution en présence de ligands organiques</b>	<b>115</b>
3.1	Résultats . . . . .	116
3.1.1	Concentrations et pertes de masse normalisées . . . . .	116
3.1.2	Vitesses initiales . . . . .	124
3.1.3	Stoichiométrie . . . . .	126
3.2	Discussion . . . . .	129
3.2.1	Effet de la solution sur la dissolution du verre . . . . .	129
3.2.1.1	Effet du type de ligand . . . . .	130
3.2.1.2	Effet de la concentration des ligands . . . . .	131
3.2.2	Effet de la structure du verre . . . . .	138
3.2.2.1	Éléments formateurs et modificateurs de réseau . . . . .	138
3.2.2.2	Effet de la composition du verre . . . . .	139
3.2.2.3	Effet du degré d'oxydation du fer . . . . .	143
3.3	Conclusions . . . . .	146
<b>4</b>	<b>Rôle du fer dans les processus de bioaltération</b>	<b>165</b>
4.1	Résultats . . . . .	166
4.1.1	Croissance bactérienne . . . . .	166
4.1.2	Production de sidérophore . . . . .	168
4.1.3	Teneurs en aluminium et fer des cellules bactériennes . . . . .	176
4.1.4	Suivi des cinétiques de dissolution . . . . .	177
4.1.4.1	Concentrations . . . . .	177
4.1.4.2	Pertes de masse normalisées . . . . .	179
4.1.4.3	Vitesses initiales . . . . .	183

---

4.2	Discussion . . . . .	185
4.2.1	Impact de la composition du verre sur l'activité bactérienne . . . . .	186
4.2.1.1	Rôle du magnésium . . . . .	186
4.2.1.2	Rôle du fer . . . . .	187
4.2.1.3	Rôle de l'aluminium . . . . .	189
4.2.2	Effet du redox sur la dissolution du verre . . . . .	193
4.2.3	Impact des bactéries sur les cinétiques de dissolution . . . . .	195
4.2.3.1	Impact des sidérophores . . . . .	195
4.2.3.2	Alternatives à l'action des sidérophores . . . . .	197
4.2.4	Retour sur les mécanismes de complexation . . . . .	210
4.2.4.1	Protocole d'extraction . . . . .	210
4.2.4.2	Expériences de dissolution . . . . .	213
4.2.4.3	Résultats et discussion . . . . .	213
4.3	Conclusions . . . . .	219
<b>5</b>	<b>Caractérisation des surfaces altérées</b>	<b>221</b>
5.1	Observation préliminaire des surfaces . . . . .	222
5.2	Détermination de profils d'altération par LA-ICP-MS . . . . .	225
5.2.1	Optimisation de l'analyse des verres altérés par LA-ICP-MS . . . . .	226
5.2.1.1	Choix des méthodes d'analyse . . . . .	226
5.2.1.2	Résultats et discussions . . . . .	232
5.2.2	Couplage aux analyses liquides . . . . .	242
5.2.2.1	Composition des solutions altérantes . . . . .	242
5.2.2.2	Simulation . . . . .	245
5.3	Conclusions . . . . .	248
<b>6</b>	<b>Synthèse des résultats et conclusions</b>	<b>249</b>
6.1	Retour sur les stratégies expérimentales . . . . .	250
6.2	Bilan des mécanismes de bioaltération dégagés . . . . .	253
6.2.1	Verres porteurs de fer . . . . .	255
6.2.2	Verres sans fer . . . . .	262
6.3	Perspectives . . . . .	263
	<b>Annexe</b>	<b>267</b>



# Liste des figures

1.1	Processus d'altération des basaltes de la croûte océanique : altération à basse température ou par voie hydrothermale (Ludden et Thompson, 1978; Alt <i>et al.</i> , 1996; Staudigel <i>et al.</i> , 1996; Laverne <i>et al.</i> , 2001; Bach et Edwards, 2003; Henri, 2015).	34
1.2	Bilan schématique des flux et quantités de $\text{Fe}^{3+}$ dans les principaux réservoirs terrestres. Un flux net de $12,5 \times 10^3$ kg/s de $\text{Fe}^{3+}$ subduit en direction du manteau est notamment calculé (d'après Lécuyer et Ricard (1999)).	38
1.3	Mise en évidence de l'influence du site de protonation et du pH sur la réaction d'échange d'ions. Exemple du Na, compensateur de charge des sites anioniques, $\text{AlO}_4^-$ , $\text{BO}_4^-$ ou des oxygènes non-pontants (groupes silanols et sites d'oxygènes non-pontants des verres phosphates) (Bunker, 1994).	42
1.4	Produits secondaires d'altération détectés à la surface de verres basaltiques, en fonction des conditions expérimentales (pH et température) (d'après Thomassin (1984); Crovisier <i>et al.</i> (1985); Crovisier (1989); Crovisier <i>et al.</i> (1990); Abdelouas (1996)).	45
1.5	Images MEB des principales phases cristallisées retrouvées à la surface de basaltes naturels altérées en milieu océanique : (a) zéolithes (chabazite) sur smectite, (b) et (c) phillipsite, (d) chabazite sur phillipsite, (e) analcime, (f) silicate de Ca (Jercinovic <i>et al.</i> , 1990).	46
1.6	Bio-textures granulaires (G) et tubulaires (T), prenant naissance au niveau des fractures du verre (FG : verre sain). Les images MEB des structures granulaires sont tirées d'une étude de Furnes <i>et al.</i> (2001b), tandis que les images multiplan des tubules sont extraites d'une étude de Lepot <i>et al.</i> (2011).	51
1.7	Vitesses d'hydrolyse de verres basaltiques et du verre nucléaire SON68 issues de plusieurs études expérimentales pratiquées à diverses température (d'après Techer <i>et al.</i> (2001a)).	54
1.8	(a) Évolution des vitesses de dissolution d'un verre basaltique en fonction de la température et du pH (d'après Guy et Schott (1989)). (b) Vitesses de dissolution (normalisées à la surface BET du verre) d'un verre basaltique loin de l'équilibre, prédites pour des températures variant de 0 à 300°C et en fonction du pH. Les vitesses ont été calculées d'après l'équation (7), en utilisant respectivement les valeurs $10^{5,6}$ mol de Si/cm <sup>2</sup> /s et 25,5 kJ/mol pour les termes $A_A$ et $E_a$ (figure tirée d'une étude de Gislason et Oelkers (2003)).	55
1.9	Temps d'atteinte de l'état stationnaire et épaisseur d'interdiffusion en fonction du coefficient de diffusion du cation échangé lors du processus d'interdiffusion et de la vitesse d'hydrolyse (Fruquier <i>et al.</i> , 2006). Les tracés sur la figure guide la détermination du temps d'atteinte du régime stationnaire et de l'épaisseur d'interdiffusion pour un verre basaltique immergé à 25°C dans les conditions expérimentales utilisées par Gislason et Oelkers (2003).	58
1.10	Extrapolation à long terme des vitesses d'altération des verres basaltiques et comparaison de ces vitesses à celles, données dans la littérature, de verres basaltiques naturels : ■ Crovisier (1989); ● Le Gal <i>et al.</i> (1999); ★ Jeong et Sohn (2011); ◆ Grambow <i>et al.</i> (1985); ▲ Pauly <i>et al.</i> (2011); ▼ Byers et Jercinovic (1987) (figure extraite de Parruzot (2014)).	61

1.11	Les trois grandes catégories de groupements fonctionnels des sidérophores complexant le fer : (a) phénol/catéchol; (b) hydroxamate; (c) $\alpha$ -hydroxycarboxyliques . . . . .	65
1.12	Mécanismes de complexation de $Fe^{3+}$ par un sidérophore de type hydroxamate (a) et catecholates (b) à pH neutre (d'après (Kalinowski <i>et al.</i> , 2000) . . . . .	66
2.1	Programmes de synthèse des échantillons MORB3 et HAPLO : (a) première synthèse et trempe sous air ; (b) deuxième fusion sous air et coulée dans le moule en graphite. . . . .	75
2.2	Étape de coulée du verre en fusion depuis la sortie du four jusqu'au remplissage du moule en graphite (crédits photographiques : Ana-Carolina AGNELLO). . . . .	76
2.3	Démoulage du verre (ici MORB3) après l'étape de coulée dans le moule en graphite (crédits photographiques : Stéphanie Rossano). . . . .	77
2.4	Programmes de synthèse d'un verre MORB2 : (a) première synthèse et trempe sous air ; (b) deuxième fusion sous atmosphère réductrice, avec une montée initiale en température de 300°C/h. . . . .	77
2.5	Four vertical du Laboratoire Géomatériaux et Environnement (Université Paris-Est Marne-la-Vallée) (crédits photographiques : Stéphanie Rossano). . . . .	78
2.6	Thermogramme DSC d'un échantillon de verre MORB3 (30 - 1550°C, 10°C/min, mesure sous un flux d'air reconstitué). . . . .	80
2.7	Thermogramme DSC d'un échantillon de verre HAPLO (30 - 1550°C, 10°C/min, mesure sous un flux d'air reconstitué). . . . .	80
2.8	Lignes de coupe des échantillons . . . . .	81
2.9	Poudres et/ou monolithes de verres MORB3, MORB2 et HAPLO. . . . .	81
2.10	Images obtenues en mode de détection d'électrons secondaires (a) à faible grandissement (x441) de la surface non-altérée d'un échantillon monolithique MORB3 (b) à plus fort grandissement (x6580), de cette même surface, (c) à faible grandissement (x25) d'une poudre de verre MORB3 non-altérée et (d) d'un grain de poudre de verre MORB3 non-altérée (x1250). . . . .	85
2.11	Spectres d'absorption au seuil K du Fe des échantillons HAPLO, MORB2, MORB3, MORB H2, MORB O2 et MORB N2. Les spectres bruts obtenus ont été retraités à l'aide du logiciel Athena. . . . .	87
2.12	Expériences abiotiques : autant d'échantillons que de temps d'altération souhaités sont immergés dans 40 mL de solution altérante. A chaque temps d'altération, la solution placée au contact du verre est récupérée par filtration du surnageant pour analyse et le verre (poudre ou monolithe) est conservé. . . . .	92
2.13	Structure chimique de l'acide oxalique. . . . .	93
2.14	Structure chimique de la desferrioxamine-B (d'après Kalinowski <i>et al.</i> (2000)). . . . .	94
2.15	Structure chimique de la 2,2'-bipyridyle. . . . .	94
2.16	Cheminement expérimental pour la mise en place des expériences d'altération : choix du milieu de culture, du pH, de la méthode d'inoculation de la souche et du caractère ouvert/fermé de l'expérience. . . . .	96
2.17	Courbes de croissance des cultures de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> incubées en présence de verre MORB3 à 25°C et sous agitation (160 tours/min) dans un milieu MM9 tamponné à pH 6,5 ou 7,5. Les courbes en (a) ont été obtenues après inoculation de la souche à partir d'une culture cryogénisée, les courbes en (b) représentent la croissance d'un inoculat provenant d'une culture fraîche, incubée 24h dans un milieu nutritif à 25°C et sous agitation (160 tours/min). . . . .	97
2.18	Courbes de croissance des cultures de <i>P. aeruginosa</i> incubées en présence de verre MORB3 dans une série de tubes contenant 40 mL de milieu de culture ou dans un erlenmeyer de 250 mL, à 25°C et sous agitation (160 tours/min). . . . .	98
2.19	Déroulé des expériences de bioaltération des verres HAPLO, MORB2 et MORB3. . . . .	100

2.20	Déroulé des expériences de bioaltération des verres HAPLO, MORB2 et MORB3 utilisant des membranes de dialyse. . . . .	101
2.21	Protocole de minéralisation des bactéries cultivées pendant six jours au contact de verres MORB ou HAPLO. . . . .	103
2.22	Plan des expériences d'altération à court terme réalisées. Les disques et les croix représentent respectivement les échantillons sous forme de monolithes ou de poudres. . . . .	104
2.23	Préparation des échantillons pour l'analyse des sections polis par MEB. . . . .	110
2.24	Protocole de séchage des échantillons de verre bioaltérés par contournement du point critique. . . . .	111
2.25	Bilan des échantillons altérés ayant été récupérés après les différentes séquences d'altération réalisées. . . . .	114
3.1	Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg du verre MORB3 en fonction du temps d'altération. Les barres d'erreur représentées sont les barres d'erreur analytiques, dont le calcul est explicité dans le Chapitre 2. Les symboles remplis (respectivement vides) matérialisent la première (respectivement deuxième) série de duplicats. . . . .	121
3.2	Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg du verre MORB2 en fonction du temps d'altération. Les barres d'erreur représentées sont les barres d'erreur analytiques, dont le calcul est explicité dans le Chapitre 2. Les symboles remplis (respectivement vides) matérialisent la première (respectivement deuxième) série de duplicats. . . . .	122
3.3	Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al, Ca et Mg du verre HAPLO en fonction du temps d'altération. Les barres d'erreur représentées sont les barres d'erreur analytiques, dont le calcul est explicité dans le Chapitre 2. Les symboles remplis (respectivement vides) matérialisent la première (respectivement deuxième) série de duplicats. . . . .	123
3.4	Vitesses initiales de dissolution ( $\text{mg}/\text{m}^2/\text{j}$ ) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg des verres MORB3, HAPLO et MORB2. Les barres d'erreurs représentent l'écart-type entre les valeurs des vitesses calculées pour chaque série de répliquats. Les délimitations en pointillés font apparaître des similarités en termes de cinétiques de dissolution (a) entre expériences en solutions d'EUP et de BPI, et d'AO et de DFA, (b) entre expériences en solutions d'EUP et de BPI, (c) entre expériences en solutions de BPI et de DFA. Elles attestent aussi d'une accélération de la réaction de dissolution (b) du verre HAPLO en présence d'AO par rapport aux expériences en solution de DFA et (c) du verre MORB2 en présence d'AO par rapport aux expériences en solution de BPI ou de DFA. La flèche représentée en (a) matérialise l'augmentation notable des valeurs des vitesses de dissolution associées au calcium et au magnésium en solution de BPI, par rapport à celles calculées en EUP. . . . .	125
3.5	Rapport de stœchiométrie ( <i>RRRs</i> ) entre les éléments Al, Fe, Ca ou Mg et Si, pour les verres MORB3 (a), HAPLO (b) et MORB2 (c). Les barres d'erreurs représentent l'écart-type entre les valeurs des <i>RRRs</i> calculées pour chaque série de répliquats. Les <i>RRRs</i> relatifs au calcium en solution d'AO n'apparaissent pas pour les verres MORB3 et MORB2 car impossibles à calculer, en raison de la précipitation rapide du Ca au contact de l'AO. . . . .	128
3.6	Mise en place des expériences de dissolution dans des solutions plus diluées de ligands organiques (AO et DFA). . . . .	134
3.7	Pertes de masses normalisées (NLs) des éléments Al et Fe du verre MORB3, en fonction du temps d'altération. Les symboles remplis et vides représentent respectivement les résultats de la première et deuxième série de duplicats. . . . .	135

3.8	Pertes de masse normalisées (NLs) du Si et de l'Al calculées pour les expériences de dissolution des verres MORB3 et HAPLO en présence d'EUP et d'AO, en fonction du temps. Les données représentées résultent de la moyenne entre les deux séries de duplicats. Les barres d'erreur correspondent à $\pm$ SD, SD étant l'écart-type entre deux points de duplicats. . . . .	140
3.9	Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si et Al des verres MORB3 et HAPLO au contact des solutions de DFA et de BPI, en fonction du temps. Les données représentées résultent de la moyenne des deux séries de duplicats. Les barres d'erreur correspondent à $\pm$ SD, SD étant l'écart-type entre deux points de duplicats. . . . .	141
3.10	Spectres d'absorption au seuil K du Mg des échantillons HAPLO, MORB2, MORB3. Ces spectres ont été collectés en mode de détection de fluorescence entre 1280 et 1351 eV avec un pas de (a) 2 eV entre 1280 et 1295, (b) 0,2 eV entre 1295 et 1330, (c) 0,3 eV entre 1330 et 1350 et (d) 1 eV entre 1350 et 1500. Les spectres bruts obtenus ont été retraités à l'aide du logiciel Athena. . . . .	144
4.1	Courbes de croissance de <i>P. aeruginosa</i> dans le milieu MM9 seul (contrôle) ou en présence des verres HAPLO, MORB2 ou MORB3. Les barres d'erreur représentent l'écart-type entre les points de triplicats. Les coefficients de corrélation entre les valeurs de DO et d'UFC sont 0,97 (contrôle), 0,95 (HAPLO), 0,99 (MORB2) et 0,92 (MORB3). . . . .	167
4.2	Courbes de croissance de <i>P. aeruginosa</i> dans le milieu MM9 seul (contrôle) ou en présence des verres HAPLO, MORB2 ou MORB3, confinés dans des membranes de dialyse. Les barres d'erreur représentent l'écart-type entre les points de triplicats. Les coefficients de corrélation entre les valeurs de DO et d'UFC sont 0,97 (contrôle), 0,93 (HAPLO), 0,98 (MORB2) et 0,99 (MORB3). . . . .	168
4.3	Trois isoformes de la pyoverdine synthétisée par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Figure modifiée d'après (Meyer <i>et al.</i> , 1997)). Le groupement R (en jaune) peut être un dérivé de l'acide succinique, succinamide ou alpha-cétoglutarique. Les chromophore et chaîne peptidique sont respectivement repérés en bleu et rouge. Les groupements catéchols (C) et hydroxamates (H) participant à la réaction de complexation du Fe(III) sont indiqués en violet. . . . .	169
4.4	Aspect du milieu de culture MM9 après 10 jours d'incubation de la souche <i>P. aeruginosa</i> pour les expériences de contrôle (a) ou en présence des verres HAPLO (b), MORB2 (c) et MORB3 (d) (crédits photographiques : Stéphanie Rossano). . . . .	171
4.5	Aspect du milieu de culture MM9 après 10 jours d'incubation de la souche <i>P. aeruginosa</i> , en présence des verres HAPLO (a), MORB2 (b) et MORB3 (c), isolés de la suspension bactérienne par des membranes de dialyse (crédits photographiques : Stéphanie Rossano). . . . .	172
4.6	Spectres d'absorption UV-Vis à trois jours (3J) et six jours (6J) d'incubation de cultures de <i>P. aeruginosa</i> en présence/en l'absence d'échantillons basaltiques HAPLO (a), MORB2 (b) et MORB3 (c) . . . . .	173
4.7	Spectres d'absorption UV-Vis après trois jours (3J) et six jours (6J) d'un milieu de culture incubé en présence d'un échantillon MORB2. . . . .	173
4.8	Spectres d'absorption UV-Vis à trois jours (3J) et six jours (6J) d'incubation de cultures de <i>P. aeruginosa</i> en présence/en l'absence d'échantillons basaltiques HAPLO (a), MORB2 (b) et MORB3 (c), isolés de la suspension bactérienne par des membranes de dialyse. . . . .	174
4.9	Spectres d'absorption UV-Vis entre trois et quinze jours d'expérience en présence des verres MORB2 (a) et MORB3 (b) contenus dans des membranes de dialyse. . . . .	175
4.10	Teneurs en Al et Fe des cellules bactériennes récupérées à l'issue des expériences de bioaltération de verres MORB3 et HAPLO. Les concentrations mesurées ont été normalisées à la masse du pellet dissout dans HNO <sub>3</sub> et sont exprimées en poids pour mille. Les lignes horizontales représentent les teneurs calculées pour les expériences de contrôle (c). . . . .	176

- 4.11 Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al et Fe du verre MORB3 en fonction du temps d'altération, dans le milieu MM9 stérile (MM9), dans le milieu MM9 et en présence de *P. aeruginosa* (MM9 + Pa) et enfin dans le milieu MM9 en présence de la souche mais séparé de celle-ci par une membrane de dialyse (MM9 + Pa + D). Les barres d'erreur représentées sont les barres d'erreur analytiques. Les symboles remplis et vides représentent respectivement les première (1) et deuxième (2) séries de duplicats. . . . . 180
- 4.12 Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al et Fe du verre MORB2 en fonction du temps d'altération, dans le milieu MM9 stérile (MM9), dans le milieu MM9 et en présence de *P. aeruginosa* (MM9 + Pa) et enfin dans le milieu MM9 en présence de la souche mais séparé de celle-ci par une membrane de dialyse (MM9 + Pa + D). Les barres d'erreur représentées sont les barres d'erreur analytiques. Les symboles remplis et vides représentent respectivement les première (1) et deuxième (2) séries de duplicats. . . . . 181
- 4.13 Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al du verre HAPLO en fonction du temps d'altération, dans le milieu MM9 stérile (MM9), dans le milieu MM9 et en présence de *P. aeruginosa* (MM9 + Pa) et enfin dans le milieu MM9 en présence de la souche mais séparé de celle-ci par une membrane de dialyse (MM9 + Pa + D). Les barres d'erreur représentées sont les barres d'erreur analytiques. Les symboles remplis et vides représentent respectivement les première (1) et deuxième (2) séries de duplicats. . . . . 182
- 4.14 Vitesses de relâchement des éléments Si, Al et Fe des verres MORB3 (a), HAPLO (b) et MORB2 (c) dans le milieu stérile (MM9) et en présence de la souche *P. aeruginosa* avec (MM9 + Pa + D) ou sans (MM9 + Pa) membranes de dialyse. Les délimitations en pointillés noirs soulignent (a) l'accélération des vitesses de dissolution relatives au Si et à l'Al dans l'ordre milieu MM9 < milieu MM9 + bactéries < milieu MM9 + bactéries + dialyses pour le verre MORB3, (b) l'accélération des vitesses de dissolution relatives au Si et à l'Al dans l'ordre milieu MM9 + bactéries + dialyses < milieu MM9 + bactéries pour le verre HAPLO, (c) l'accélération des vitesses de dissolution relatives au Si et à l'Al dans l'ordre milieu MM9 < milieu MM9 + bactéries et les vitesses équivalentes dans les expériences biotiques avec ou sans membranes de dialyse. Les pointillés jaunes permettent de repérer les résultats des expériences stériles . . . . . 184
- 4.15 Courbes de croissance (DO 600 nm en fonction du temps) de *P. aeruginosa* dans le milieu MM9 (symboles pleins) et dans ce même milieu privé de Mg (symboles vides), en présence ou en l'absence du verre HAPLO. . . . . 186
- 4.16 Mécanisme de transport du Fe(III) depuis le milieu de culture jusque dans le cytoplasme bactérien. Le fer, lié au sidérophore, traverse la membrane externe de la cellule par l'intermédiaire de protéines réceptrices, spécifiques des complexes  $Fe^{3+}$ -sidérophore. Une fois la membrane franchie, le complexe est reconnu et pris en charge par des protéines du périplasma faisant office de transporteur (protéines faisant la liaison avec le substrat, protéines perméases membranaires assurant le passage à travers la membrane cytoplasmique et enfin ATP hydrolases fournissant de l'énergie au système). Une fois dans le cytoplasme, le sidérophore est soit détruit, soit recyclé pour la complexation de nouveaux cations métalliques en solution. Le fer, réduit lors de son relâchement, interagit alors avec une protéine régulatrice, le transcripteur Fur (*Ferric uptake regulator*). Fur est constitué de deux unités terminales. L'une d'entre elle lui permet de se lier au fer. Dans un environnement riche en fer, Fur acquiert alors une conformation qui augmente fortement son affinité pour sa cible d'ADN, à laquelle il se lie de par son autre extrémité. Cette liaison entraîne la répression d'une cinquantaine à une centaine de gènes, dont ceux impliqués dans l'acquisition du fer et la biosynthèse de sidérophores. Au contraire, pour des concentrations faibles en fer cytoplasmique, Fur libère le fer et ne réprime aucun gène (Arceneaux *et al.*, 1973; Visca *et al.*, 1988; Cornelis *et al.*, 2009; Daou, 2009). . . . . 190

4.17	Influence de l'utilisation de membranes de dialyses (d) dans les tests de dissolution sur la croissance bactérienne, pour les verres MORB3, MORB2 et HAPLO. . . . .	198
4.18	Concentrations en pyoverdine dans les milieux de cultures en présence des verres MORB3, MORB2 et HAPLO, isolées ou non de la suspension bactérienne par des membranes de dialyse. . . . .	200
4.19	(a) Spectres d'absorption UV-Visible de la pyoverdine libre (en orange) et liée (en violet), respectivement obtenus à partir des cultures de contrôle et en présence d'un verre MORB3 (confiné par des membranes de dialyse) et (b) comparaison avec les spectres théoriques d'une pyoverdine liée au Fe(III) (1), libre et protonée (2), libre et déprotonée (3) (d'après Albrecht-Gary <i>et al.</i> (1994)). . . . .	200
4.20	Comparaison des profils de dissolution du Si des verres MORB3 et HAPLO confinés dans les membranes de dialyse. Les barres d'erreur représentent les erreurs relatives entre deux points de duplicats. . . . .	201
4.21	Images MEB (mode <i>in-lens</i> de détection d'électrons secondaires) de la surface d'un verre MORB3 (b), HAPLO (e) et MORB2 (f), placés pendant quinze jours au contact d'une culture de <i>P. aeruginosa</i> et cartographies du C (a), de l'N (c) et du P (d) d'une zone à la surface du verre MORB3 (représentée sur la vignette b) réalisées en EDS. . . . .	203
4.22	Images MEB en mode <i>in-lens</i> de détection d'électrons secondaires de la surface d'un verre MORB3 altéré sous forme de poudre une vingtaine de jours dans un milieu MM9 en présence de la souche <i>P. aeruginosa</i> . Ces images mettent en évidence : en (a) des cellules lysés subsistant à ou creusant la surface du verre, en (b) une cellule fixée à la surface du verre et produisant des exopolymères. . . . .	205
4.23	Image MEB en mode <i>in-lens</i> de détection d'électrons secondaires de la surface d'un verre MORB3 colonisée par la souche <i>P. aeruginosa</i> et formant progressivement un biofilm. Cette image met en évidence : en (a) l'attachement des bactéries à la surface <i>via</i> la production d'exopolymères, en (b) des empreintes en surface laissées par des bactéries mortes, en (c) la connexion des bactéries sédentaires en phase de formation du biofilm. . . . .	206
4.24	(a) Images MEB en mode de détection d'électrons secondaires de la surface d'un grain de verre MORB3 altéré une vingtaine de jours dans un milieu MM9 en présence de la souche <i>P. aeruginosa</i> ; images MEB en mode de détection d'électrons rétrodiffusés (b) de cellules bactérienne ( <i>P. aeruginosa</i> ) à la surface du verre, (c) de cellules bactériennes initialement en suspension dans la culture liquide et récupérées sur un filtre en polycarbonate ( $\varnothing$ 0,2 $\mu$ m). . . . .	207
4.25	(a) Images MEB en mode de détection d'électrons secondaires de la surface d'un verre HAPLO altéré une vingtaine de jours dans un milieu MM9 en présence de la souche <i>P. aeruginosa</i> . . . . .	208
4.26	Principe d'extraction d'un sidérophore depuis un milieu de culture par rétention sur résine amberlite XAD-4. Le mélange est d'abord filtré (a), le sidérophore retenu sur l'amberlite ne franchit pas le filtre (b), la fiole de filtration est alors changée et la résine rincée au méthanol, ce qui conduit à l'élution du sidérophore (c). . . . .	211
4.27	Protocole d'extraction de la pyoverdine depuis un milieu de culture CAA. . . . .	212
4.28	Méthode de prélèvement pour les expériences de dissolution en EUP et en présence de pyoverdine. . . . .	214
4.29	Spectres UV-Visible des solutions de pyoverdine en présence des verres HAPLO (a) et MORB3 (b), après huit heures, un, deux, trois, quatre et sept jours d'incubation à 25°C. . . . .	214
4.30	(a) DO (405 nm) mesurée dans dans chaque prélèvement de solution de pyoverdine au contact des verres HAPLO et MORB3. (b) Pourcentage de pyoverdine adsorbée à la surface du verre (HAPLO ou MORB3) en fonction du temps d'expérience. Les barres d'erreurs sur les deux figures correspondent à l'écart-type entre deux points de répliquats. . . . .	216

4.31 Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al et Fe en solution d'EUP au contact des verres (a) MORB3, (b) MORB3 et en présence de pyoverdine (PVD) à 0,062 mM, (c) HAPLO et en présence de pyoverdine (PVD) à 0,062 mM et (d) MORB3 et en présence de DFA à 0,024 mM. Les barres d'erreurs représentées sont les barres d'erreurs analytiques. Les symboles remplis et vides représentent respectivement les première (1) et deuxième (2) séries de duplicats. . . . .	217
4.32 Vitesses de relâchement des éléments Si, Al et Fe des verres MORB3 et HAPLO dans une solution d'EUP et de pyoverdine à 0,062 mM. Les barres d'erreur représentent l'écart entre deux points de duplicats. . . . .	218
5.1 Images MEB (mode de détection d'électrons secondaires) de la surface d'un verre MORB3 altéré 150 jours à 45°C au contact d'une solution d'EUP et d'AO. . . . .	223
5.2 Images MEB (mode de détection d'électrons rétro-diffusés) de la surface altérée d'un verre MORB3 altéré pendant 150 jours au contact d'une solution d'EUP et cartographies du Fe et de l'Al de cette zone, résultant d'une analyse semi-quantitative en EDS. . . . .	224
5.3 Images MEB (mode de détection d'électrons secondaire), de la coupe d'un verre MORB3 altéré 150 jours à 45°C au contact d'une solution d'AO et résultat d'une analyse semi-quantitative en EDS des phases observées. . . . .	224
5.4 Représentation schématique du mode d'ablation <i>scanning</i> , en raster. . . . .	228
5.5 Impacts du spot laser résultant de l'ablation discrète en mode scanning : (a) avec une vitesse de déplacement évitant les chevauchements des spots laser entre chaque irradiation, (b) en divisant cette vitesse par trois, ou (c) par quatre. . . . .	230
5.6 Images MEB (mode de détection d'électrons rétro-diffusés) de la surface d'un verre MORB3 altéré dans l'EUP, ablatée à divers endroits. Les plus petits rasters (l'un d'entre eux est repéré en jaune) correspondent aux méthodes d'ablation 1 et 2, tandis que les rasters les plus larges (en violet) ont été ablatés selon la méthode 3. . . . .	231
5.7 Nombre de coups par seconde (CPS) enregistrés, en fonction de la profondeur d'ablation (1 pour la surface du verre, 10 pour le verre sain), lors de l'analyse de la teneur en <sup>29</sup> Si de la surface d'un verre MORB3 altéré pendant cinq mois dans l'EUP. . . . .	233
5.8 Concentrations en <sup>58</sup> Fe, <sup>29</sup> Si, <sup>23</sup> Na et <sup>24</sup> Mg, normalisées aux concentrations en ces éléments dans le verre initial et rectifiées par usage d'un étalon interne ( <sup>29</sup> Si) ou par la méthode des oxydes de Gagnon <i>et al.</i> (2008). . . . .	234
5.9 Erreurs relatives (RSD) pour la quantification des concentrations en <sup>56</sup> Fe dans chaque raster successivement ablaté à la surface du verre, pour chaque méthode d'ablation testée. . . . .	235
5.10 Représentations schématiques de la surface de verre altérée et des ablations, raster après raster, de cette surface. Étant donnée la rugosité de la surface altérée, le volume de matériau ablaté par le premier raster est plus faible que les volumes suivants (a). A partir des valeurs des LDs calculées pour chaque méthode, on peut présumer que les méthodes 2 et 3 permettent une analyse subtile de la surface du verre, tandis que la méthode 1 fait une analyse plus en profondeur (b). . . . .	237
5.11 Concentrations (normalisées aux concentrations dans le verre avant altération) des éléments B, Na, Mg, Al, K, Ca, Fe, Ti, Si depuis la surface altérée (raster 1) jusqu'au verre frais (rasters 6 à 10), mesurées grâce aux méthodes de prélèvement 1 (a), 2 (b) et 3 (c) et rectifiées par la méthode d'étalonnage de Gagnon <i>et al.</i> (2008). . . . .	239
5.12 Concentrations (normalisées aux concentrations dans le verre avant altération) des éléments B, Na, Mg, Al, K, Ca, Fe, Ti, Si depuis la surface altérée (raster 1) jusqu'au verre frais (raster 6), mesurées grâce à la méthode de prélèvement 3 et rectifiées par la méthode de Gagnon <i>et al.</i> (2008). . . . .	240

5.13	Concentrations (normalisées aux concentrations dans le verre avant altération) des éléments B, Na, Mg, Al, K, Ca, Fe, Ti, Si depuis la surface altérée (raster 1) jusqu'au verre frais (rasters 6 à 10), pour un verre MORB3 soumis à cinq mois d'altération dans une solution d'EUP (a et b) ou d'AO (c et d). . . . .	241
5.14	Reconstructions en trois et/ou deux dimensions de la rugosité de surface d'un verre non-altéré poli, soumis à ablation laser par la méthode 3 de prélèvement mise au point dans ce chapitre. Les segments en pointillés matérialisent les axes selon lesquels la reconstruction en deux dimensions a été effectuée. . . . .	243
5.15	Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg d'un verre MORB3 au contact d'une solution d'EUP ou d'AO pendant cinq mois. . . . .	244
5.16	Indices de saturation vis à vis d'une smectite (montmorillonite magnésienne), de quartz, de silice amorphe, de calcite et de whewellite calculés à partir de la chimie des solutions d'altération dans l'EUP et l'AO après un, deux, trois, quatre et cinq mois à 45°C. . . . .	246
6.1	Bilan des interactions entre la souche <i>P. aeruginosa</i> et les verres MORB3, HAPLO et MORB2 (dans cet ordre sur la figure), mettant en jeu les éléments silicium, aluminium, Fe(III) et Fe(II). Les processus découlant d'interactions <i>indirectes</i> (a) ou <i>directes</i> (b) sont détaillés. Une représentation simplifiée du réseau vitreux est également rappelée pour chaque composition étudiée. L'impact sur les vitesses de dissolution des verres établies dans un milieu stérile ( $v_{Si}$ ) est indiqué sous chaque schéma. . . . .	254
6.2	Sidérophores naturels identifiés dans l'eau de mer ou dans des cultures d'eau de mer incubées au laboratoire : (A) Ferrioxamine B, (B) Ferrioxamine D2, (C) Ferrioxamine E, (D) Ferrioxamine G (d'après Gledhill et Buck (2012)). . . . .	259
6.3	Diffractogrammes enregistrés pour les verres MORB3 et HAPLO sous forme de poudres entre 10 et 90° (2 $\theta$ ), avec un pas de 0,01° et 11 secondes par pas. . . . .	267
6.4	Représentation schématique d'une isotherme. . . . .	267
6.5	Images MEB (mode de détection d'électrons rétro-diffusés) et résultats d'analyse semi-quantitative en EDS de la surface de verres MORB3 altérés 25 jours à 25°C au contact de solutions d'EUP et d'AO. . . . .	269
6.6	Images MEB (mode de détection d'électrons rétro-diffusés) de la surface d'un verre MORB3 altéré sept jours à 25°C au contact d'une solution d'EUP. . . . .	270
6.7	Images MEB (mode de détection d'électrons rétro-diffusés) de la surface d'un verre MORB3 altéré trois jours à 90°C au contact d'une solution d'EUP. . . . .	270
6.8	Images MEB (mode <i>in-lens</i> de détection d'électrons secondaires) de la surface d'un verre MORB3 altéré 105 jours à 25°C au contact d'une solution d'EUP. . . . .	271
6.9	Images MEB (mode <i>in-lens</i> de détection d'électrons secondaires) de la surface d'un verre MORB3 altéré 105 jours à 25°C au contact d'une solution d'AO. . . . .	272
6.10	Images MEB (mode <i>in-lens</i> de détection d'électrons secondaires) de la surface d'un verre MORB3 altéré 105 jours à 25°C au contact d'une solution de DFA. . . . .	272
6.11	Images MEB (mode <i>in-lens</i> de détection d'électrons secondaires) de la surface d'un verre MORB3 altéré 105 jours à 25°C au contact d'une solution de BPI. . . . .	273
6.12	Profils de dissolution (NLs en fonction du temps) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg en EUP et dans une solution d'AO, à court terme et à 90°C. . . . .	274

# Liste des tableaux

1.1	Compositions nominales (en % d'oxydes) de 5 verres basaltiques océaniques (d'après Condie <i>et al.</i> (1982); Boutonnat (1986); Le Gal <i>et al.</i> (1999)). . . . .	28
1.2	Concentrations massiques (en g par kg d'eau) des éléments dissouts dans une eau de mer de composition dite de référence (Millero <i>et al.</i> , 2008). . . . .	29
1.3	Composition de l'eau de pluie ou de l'eau résultant de la fonte des neiges (glacier de Vatnajökull) au Nord-Est de l'Islande (Gislason et Eugster, 1987b). . . . .	30
1.4	Conditions d'altération de divers échantillons basaltiques naturels d'âges et de positions géographiques variés, étudiés par Fisk <i>et al.</i> (1998). . . . .	30
1.5	Phases d'altération observées sur des basaltes naturels soumis à des conditions d'altération variées ((a) montmorillonite (b) nontronite (c) saponite). . . . .	47
1.6	Coefficients de diffusion (en $m^2/s$ ) du Na lors de l'altération d'un verre basaltique à faible ( $E_a = 66$ kJ/mol) et à fort ( $E_a = 55$ kJ/mol) progrès de réaction. Ces coefficients ont été extrapolés pour des températures variant entre 5 et $90^\circ C$ d'après les données fournies dans la thèse de Parruzot (2014). . . . .	53
1.7	Impact de la présence de certaines espèces chimiques en solution sur les processus de dissolution de verres basaltiques (ou verres modèles). . . . .	57
1.8	Vitesses initiales de dissolution et vitesses de relâchement du fer de plusieurs substrats minéraux/oxydes de fer en eau pure/eau de mer <sup>(b)</sup> en absence ( $v_0$ ) et/ou présence ( $v_0^L$ ) de ligands organiques (L), entre 22 et $30^\circ$ . Les ligands en question (ici l'acide oxalique et quelques sidérophores) ont été sélectionnés en lien avec les expériences qui seront décrites dans ce manuscrit. Les sidérophores utilisés dans ces études sont des sidérophores hydroxamates formant des complexes (1 :1) avec le fer. . . . .	68
2.1	Composition des verres synthétiques MORB2, MORB3 et HAPLO. . . . .	74
2.2	Compositions (en % d'oxydes) des verres HAPLO, MORB2 et MORB3, mesurées par analyse de ces derniers à la microsonde électronique. Les écarts-types calculés attestent de la dispersion des 10 mesures réalisées pour chaque échantillon. Les erreurs données (en %) représentent l'écart aux concentrations théoriques attendues dans ces verres. . . . .	83
2.3	Teneurs respectives en Fe(II) et Fe(III) (en % atomique) des échantillons MORB2 et MORB3, déduites de la confrontation des spectres XAS obtenus aux spectres des échantillons de référence. . . . .	87
2.4	Surfaces géométrique (monolithes, poudres) ou spécifique (poudres) des échantillons soumis à altération. . . . .	89
2.5	Quelques surfaces et rapports $\frac{S}{V}$ d'altération utilisés dans des études d'altération antérieures à ce travail. . . . .	91
2.6	Temps de prélèvement des solutions altérantes en fonction des conditions expérimentales [ conditions abiotiques]. . . . .	95

2.7	Temps de prélèvement des solutions altérantes en fonction des conditions expérimentales [conditions biotiques]. . . . .	102
2.8	Longueurs d'onde (en nm) et limites de détection (en ppb) des éléments mesurés par ICP-OES. . . . .	106
2.9	Erreurs analytique (en ppb) sur des concentrations comprises entre 10 ppb et 1 ppm, mesurées par ICP-OES, en fonction de l'élément analysé et de la gamme de concentrations correspondante (en ppb). . . . .	106
3.1	Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments relâchés en solution (AO, DFA, BPI et EUP) pour le verre MORB3, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes indiquées correspondent aux erreurs analytiques dont le calcul est explicité dans le Chapitre 2. . . . .	117
3.2	Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments relâchés en solution (AO, DFA, BPI et EUP) pour le verre MORB2, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes indiquées correspondent aux erreurs analytiques dont le calcul est explicité dans le Chapitre 2. . . . .	118
3.3	Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments relâchés en solution (AO, DFA, BPI et EUP) pour le verre HAPLO, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes indiquées correspondent aux erreurs analytiques dont le calcul est explicité dans le Chapitre 2. . . . .	119
3.4	Vitesses initiales de dissolution ( $\text{mg/m}^2/\text{j}$ ) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg relâchés depuis les verres MORB3 (a), MORB2 (b) et HAPLO (c), en fonction de la chimie des solutions altérantes. Les incertitudes reportées sont égales à $\pm \text{SD}$ , où SD est la valeur de l'écart-type entre les valeurs des vitesses calculées pour chaque série de répliquats. . . . .	124
3.5	Rapports de stœchiométrie ( <i>RRRs</i> ) entre les éléments Al, Fe, Ca ou Mg et Si calculés pour les verres MORB3, MORB2 et HAPLO. Les erreurs reportées sont égales à $\pm \text{SD}$ , où SD est l'écart-type entre les valeurs des <i>RRRs</i> calculées pour chaque série de répliquats. . . . .	127
3.6	Constantes de complexation ( $K_f$ ) des ligands impliqués dans les expériences d'altération avec les éléments du verre (Cama et Ganor (2006) (a) ; Grases <i>et al.</i> (1989) (b) ; Kraemer (2004) (c) ; Capone <i>et al.</i> (1885) (d) ; Farkas <i>et al.</i> (1999) (e)). . . . .	130
4.1	Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) en éléments Si, Al et Fe relâchés depuis le verre MORB3 dans le milieu stérile (MM9), au contact de la suspension bactérienne (MM9 + Pa) ou séparé de celle-ci par des membranes de dialyse (MM9 + Pa + D), en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes indiquées correspondent aux erreurs analytiques. Le calcul de ces dernières est explicité dans le Chapitre 2. . . . .	178
4.2	Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) en éléments Si, Al et Fe relâchés depuis le verre MORB2 dans le milieu stérile (MM9), au contact de la suspension bactérienne (MM9 + Pa) ou séparé de celle-ci par des membranes de dialyse (MM9 + Pa + D), en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes indiquées correspondent aux erreurs analytiques. Le calcul de ces dernières est explicité dans le Chapitre 2. . . . .	178

4.3	Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) en éléments Si et Al relâchés depuis le verre HAPLO dans le milieu stérile (MM9), au contact de la suspension bactérienne (MM9 + Pa) ou séparé de celle-ci par des membranes de dialyse (MM9 + Pa + D), en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats produites pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes indiquées correspondent aux erreurs analytiques. Le calcul de ces dernières est explicité dans le Chapitre 2. . . . .	179
4.4	Vitesses initiales de dissolution ( $\text{mg/m}^2/\text{j}$ ) des éléments Si, Al, Fe relâchés depuis les verres MORB3, MORB2 et HAPLO, en fonction des conditions expérimentales (stériles ou non, emploi ou non de membranes de dialyse). Les incertitudes reportées sont égales à $\pm \text{SD}$ , où SD est la valeur de l'écart-type entre les valeurs des vitesses calculées pour chaque série de répliquats. . . . .	183
4.5	Comparaison entre les constantes de complexation respectives ( $K_f$ ) de la DFA et de la pyoverdine avec quelques éléments métalliques (Albrecht-Gary <i>et al.</i> , 1994; Chen <i>et al.</i> , 1994; Hernlem <i>et al.</i> , 1996; Szabo et Karkas, 2011). . . . .	196
5.1	Paramètres du laser utilisés pour les trois méthodes de prélèvement par ablation. . . . .	230
5.2	Erreurs relatives (%) aux valeurs certifiées des concentrations dans le verre NIST 612, pour les analyses réalisées sur ce standard par les méthodes d'ablation 1, 2 et 3. . . . .	235
5.3	Limites de détection (LDs) calculées pour les analyses (en ppb), avec les méthodes 1, 2 et 3 de la surface d'un verre altéré ( <i>Raster 1</i> ) et des couches ablatées suivantes ( <i>Rasters 2-10</i> ). Les erreurs reportées correspondent aux écarts-types entre les valeurs des LDs correspondant à l'analyse des rasters 2 à 10. . . . .	236
5.4	Épaisseurs d'altération (en $\mu\text{m}$ ) calculées à partir de la composition en Si des solutions d'EUP ou d'AO au contact du verre MORB3, après un, deux, trois, quatre et cinq mois d'altération. . . . .	244
6.1	Vitesses initiales de dissolution ( $v_0$ ), extrapolées pour une température de $5^\circ\text{C}$ à partir des données de la littérature et des vitesses calculées dans ce travail, et vitesse résiduelle ( $v_r$ ) expérimentalement déterminée par Parruzot <i>et al.</i> (2015). . . . .	252
6.2	Évaluation de la contribution de la souche <i>P. aeruginosa</i> sur la dissolution du silicium et sur les vitesses d'hydrolyse des verres MORB3, MORB2 et HAPLO. . . . .	257
6.3	Épaisseurs de la couche d'altération (angströms) à la surface d'un verre MORB3 estimées d'après la chimie de la solution après sept jours d'expérience en solutions d'EUP, d'AO de DFA et de BPI à $25^\circ\text{C}$ . . . . .	270
6.4	Vitesses initiales de dissolution ( $\text{g/m}^2/\text{j}$ ) du verre MORB3, vitesses de relâchement de l'Al à $90^\circ\text{C}$ , en solution d'EUP et d'AO et comparaison avec les données de Daux <i>et al.</i> (1997) <sup>(a)</sup> , Gislason et Oelkers (2003) <sup>(b)</sup> et Morin <i>et al.</i> (2015) <sup>(c)</sup> . . . . .	274
6.5	Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments relâchés du verre MORB3 dans plusieurs solutions plus ou moins diluées d'AO, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes reportées correspondent aux erreurs analytiques. . . . .	275
6.6	Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments relâchés du verre MORB3 dans plusieurs solutions plus ou moins diluées de DFA, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes reportées correspondent aux erreurs analytiques. . . . .	275
6.7	Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments relâchés des verres MORB3 et HAPLO dans une solution de pyoverdine à $0,062 \text{ mM}$ , en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes reportées correspondent aux erreurs analytiques. . . . .	276

- 
- 6.8 Vitesses initiales de dissolution ( $\text{mg}/\text{m}^2/\text{j}$ ) des éléments Si, Al et Fe, relâchés depuis les verres MORB3 et HAPLO dans une solution de pyoverdine à 0,062 mM. Les erreurs reportées correspondent aux écarts-types calculés entre les deux séries de duplicats. . . . . 276
- 6.9 Composition (en  $\text{mg}/\text{kg}$ ) des verres standards NIST 610 et NIST 612 utilisés pour la calibration des analyses par LA-ICP-MS. Ces échantillons de référence se présentent sous la forme de pastilles de 3 mm d'épaisseur et de 12 mm de diamètre. L'erreur maximale sur les concentrations annoncée est de 2 %. . . . . 277
- 6.10 Concentrations ( $\mu\text{g}/\text{L}$ ) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg relâchés en solution d'EUP et d'AO depuis le verre MORB3, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. . . . . 278

# Chapitre 1

## Introduction générale

### 1.1 Contexte de l'altération des verres basaltiques

#### 1.1.1 Origine et milieux d'altération

##### 1.1.1.1 Origine des verres basaltiques

Les verres basaltiques sont issus du magmatisme mantellique et sont la conséquence d'éruptions volcaniques se produisant en milieu océanique, sous la glace ou en milieu continental. Ils sont formés lors de la rencontre entre une coulée de lave en fusion et une eau de mer/météorique. Ils diffèrent notamment des obsidiennes, issues du volcanisme terrestre et qui sont caractérisées par des teneurs plus importantes en silice (>70% contre 45-55 % pour les basaltes). Les dorsales médio-océaniques et les îles volcaniques constituent la principale source de verres basaltiques à la surface de notre planète. La croûte océanique est en effet la formation éruptive la plus importante de la Terre. Chaque année, 2,94 km<sup>2</sup> de croûte océanique sont générés au niveau de ces chaînes de montagnes sous-marines, dont on évalue la longueur totale à 60000 km. Si l'on estime l'épaisseur de la croûte océanique entre 6 et 8 km, ceci implique que 18 km<sup>3</sup> de magma chaud seraient trempés chaque année, le long de ces dorsales (Staudigel *et al.*, 1996). Les basaltes résultant de cette trempe forment des laves en *coussins* (basaltes constitués d'un cœur cristallisé et d'une enveloppe vitreuse, d'environ 1 cm d'épaisseur), des *hyaloclastites* (accumulation de fragments vitreux) et plus rarement sur le continent, des *tufs* (roches surtout cristallisées résultant de la solidification de débris volcaniques). Pour ces éruptions en milieu océanique, la trempe se fait donc au contact de l'eau de mer. Dans le cas d'éruptions sous-glaciaires, les hautes températures font fondre les glaciers et la trempe a lieu dans l'eau résultant de la fonte (formation de hyaloclastite). On estime à 10% la proportion volumique de verre dans les roches basaltiques, le reste étant

constitué de roches cristallisées.

Les verres étudiés dans le cadre de cette thèse sont des verres modèles de MORB (Mid-Oceanic Ridge Basalt). Comme leur nom le suggère, on les retrouve principalement au niveau de dorsales médio-océaniques. La composition typique de la matrice vitreuse d'un verre MORB est donnée dans le Tableau 1.1. On retrouve aussi des compositions très similaires à proximité de certaines îles volcaniques, ou en milieu continental, dans les trapps, qui sont de vastes plateaux basaltiques. Le Tableau 1.1 rassemble aussi quelques données relatives à la composition chimique de verres basaltiques de l'Océan Atlantique, Pacifique, de basaltes islandais et hawaïens. On constate que les valeurs de ces compositions sont très proches les unes des autres, ce qui légitimera l'usage du verre MORB comme composition de référence dans nos expériences.

	Dorsale médio-atlantique	Dorsale Est-Pacifique	Islande	Hawaï	MORB (référence)
SiO <sub>2</sub>	51,00	49,66	49,50	49,80	49,80
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	14,60	16,28	12,90	15,00	16,00
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	n.d.	n.d.	14,40	n.d.	10,00
FeO	9,59	7,02	n.d.	11,00	n.d.
MgO	8,01	9,05	5,40	8,00	7,50
CaO	12,00	12,90	11,40	11,00	11,20
Na <sub>2</sub> O	2,85	1,75	3,10	2,70	3,75
K <sub>2</sub> O	0,17	0,02	0,30	0,20	0,14
TiO <sub>2</sub>	1,34	0,35	2,60	1,80	1,50
MnO	0,20	n.d.	n.d.	0,20	n.d.
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,04	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Total	99,80	97,03	100,00	99,70	99,89

Tableau 1.1: Compositions nominales (en % d'oxydes) de 5 verres basaltiques océaniques (d'après Condie *et al.* (1982); Boutonnat (1986); Le Gal *et al.* (1999)).

Il arrive que les conditions de trempe puissent favoriser la formation des cristaux au sein de la matrice vitreuse. Des olivines, des pyroxènes et des plagioclases, dont la composition et les cinétiques de cristallisation peuvent varier en fonction des conditions d'altération (chimie de l'eau, température notamment), sont généralement identifiés.

### 1.1.1.2 Eaux altérantes

On distingue deux grands types de fluides altérants au contact des verres basaltiques.

#### *Eau de mer*

L'altération en milieu océanique concerne les basaltes formés lors des éruptions volca-

niques sous-marines, s'altérant donc au contact de l'eau de mer. On considère, depuis 1820 et les observations faites à l'époque par Alexander Marcet, que les compositions d'eaux de mer prélevées à divers endroits de la planète sont très similaires (malgré des variations en fonction de la profondeur). Ces observations ont conduit à l'introduction du concept de salinité, qui représente la fraction massique d'éléments dissouts dans une eau. La valeur de référence de la salinité ( $S_A$  pour Salinité Absolue) pour un océan est de 35 (Millero *et al.*, 2008). La composition "de référence" correspondante est donnée dans le Tableau 1.2.

$C_{massique}$ (g/kg)		$C_{massique}$ (g/kg)	
Na <sup>+</sup>	10,78	Br <sup>-</sup>	0,067
Mg <sup>2+</sup>	1,28	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	0,014
Ca <sup>2+</sup>	0,41	B(OH) <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0,0080
K <sup>+</sup>	0,40	F <sup>-</sup>	0,0013
Sr <sup>2+</sup>	0,0080	OH <sup>-</sup>	0,00014
Cl <sup>-</sup>	19,35	B(OH) <sub>3</sub>	0,019
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2,71	CO <sub>2</sub>	0,00042
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,10	H <sub>2</sub> O	964,83
		Somme	1000

Tableau 1.2: Concentrations massiques (en g par kg d'eau) des éléments dissouts dans une eau de mer de composition dite *de référence* (Millero *et al.*, 2008).

Pour des eaux de salinités différentes (c'est à dire des versions plus ou moins diluées de cette composition de référence), on considère que les proportions relatives des éléments en présence sont constantes (mis à part certaines eaux pour lesquelles on constate des anomalies, comme la Mer Baltique). Les eaux dont les valeurs de salinité sont les plus importantes sont situées dans le Pacifique Nord profond, tandis que les valeurs les plus faibles correspondent aux eaux de l'Atlantique Nord (McDougall *et al.*, 2012).

#### *Eaux météoriques, ou eau de pluie*

Ce sont des eaux plus douces, issues directement ou indirectement des précipitations (neige et pluie) : eau des lacs, des rivières, des glaciers fondus. La plupart des eaux souterraines et percolantes sont également météoriques. Les principaux terrains basaltiques au contact d'eaux météoriques se situent en Islande, sur le plateau du Columbia (Etats-Unis), dans le bassin de Paraná (Brésil), à Hawaii ou encore dans les Iles Canaries (Gislason *et al.*, 1992). Lorsque les basaltes sont au contact d'eaux météoriques, on parle d'altération en milieu continental. Ces eaux sont caractérisées par des compositions beaucoup plus variables d'un site à un autre, en fonction notamment de leur proximité avec un océan et des réactions avec les aérosols dans lesquelles elles peuvent être engagées (Gislason et Eugster, 1987a,b). Le Tableau 1.3, répertoriant les compositions de quelques eaux météoriques en Islande, témoigne de ces dissemblances.

	Neige	$C_{massique}$ (mg/kg)		
		(1)	Pluie (2)	(3)
pH	6,7	5,5	5,1	5,7
SiO <sub>2</sub>	0,90	0,50	0,70	0,50
Na <sup>+</sup>	2,04	0,74	0,66	2,55
Ca <sup>2+</sup>	0,81	0,20	0,40	0,38
K <sup>+</sup>	0,78	0,19	0,24	0,41
Mg <sup>2+</sup>	0,21	0,08	0,10	0,32
SO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	2,68	1,03	1,63	2,32
Cl <sup>-</sup>	2,64	0,91	1,01	3,15

Tableau 1.3: Composition de l'eau de pluie ou de l'eau résultant de la fonte des neiges (glacier de Vatnajökull) au Nord-Est de l'Islande (Gislason et Eugster, 1987b).

De manière générale, on peut considérer que les concentrations en éléments dissouts correspondent à celles d'une solution d'eau de mer que l'on aurait diluée 10000 fois dans de l'eau ultrapure. Les écarts parfois observés (SiO<sub>2</sub>, Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, SO<sub>4</sub><sup>+</sup>) peuvent être attribués à la dissolution de particules basaltiques piégées dans le collecteur, à la contribution de microorganismes ou encore à la présence d'aérosols ou d'un lieu d'activité agricole à proximité de la zone de prélèvement.

Un mot à présent sur les températures régnant dans ces eaux au niveau des basaltes en coussins : certaines d'entre elles ont été répertoriées dans le Tableau 1.4, à partir d'un panel d'échantillons géographiquement variés. De manière générale, les températures dans ces aquifères sont corrélées à la profondeur de l'échantillon au sein de la couche de basaltes en coussins et excèdent rarement 25°C. Ces données excluent les études d'altération en conditions hydrothermales, que l'on évoquera dans la partie §1.1.2.1.

Localisation	Profondeur de l'eau (m)	Profondeur de l'échantillon (m)	Âge (Ma)	Températures (°C)
Océan Pacifique	3300	0	3,5	2
Océan Pacifique	2848	121	15	14
Dorsale Mendocino	1779	0	17	2
Dorsale médio-Atlantique	3754	292	34	8
Dorsale médio-Atlantique	3759	413	19	10
Plaine abyssale Argo	5714	985	145	24
Dorsale Juan de Fuca	2658	268	3,5	61
Dorsale Chagos	2915	192	45	6

Tableau 1.4: Conditions d'altération de divers échantillons basaltiques naturels d'âges et de positions géographiques variés, étudiés par Fisk *et al.* (1998).

### 1.1.1.3 Pourquoi impliquer les microorganismes ?

Si faire la distinction entre produits de l'altération biotique ou abiotique demeure une tâche ardue, l'altération des verres basaltiques océaniques est, depuis maintenant plus de deux décennies, souvent décrite comme un processus biologiquement catalysé. La littérature atteste aujourd'hui de l'existence d'une biosphère abondamment localisée au niveau des gisements basaltiques de la partie supérieure de la croûte océanique (Furnes *et al.*, 2001b; Banerjee et Muehlenbachs, 2003). Un grand nombre de communautés bactériennes et archéennes ont été repérées en subsurface de basaltes océaniques altérés et inventoriées par des méthodes moléculaires notamment basées sur l'extraction et l'amplification de l'ADNr 16S des échantillons biologiques prélevés dans ces aquifères (Thorseth *et al.*, 2001; Lysnes *et al.*, 2004; Templeton *et al.*, 2005). Les analyses phylogénétiques d'échantillons prélevés à divers endroits du globe révèlent notamment que (1) les communautés en subsurface des basaltes sont différentes de celles retrouvées plus généralement dans l'eau de mer/dans les sédiments océaniques (Thorseth *et al.*, 2001) et que (2) certaines souches de *Bacteria* sont ubiquitaires (on citera, de manière non exhaustive, les groupes phylogénétiques *Actinobacteria* et  $\beta, \gamma$  et  $\varepsilon$  *Proteobacteria*) (Santelli *et al.*, 2008; Templeton *et al.*, 2005). Ces observations suggèrent que les pourtours vitrifiés des basaltes en coussin pourraient constituer des habitats microbiens spécifiques. Bach et Edwards (2003) font ainsi l'hypothèse, à partir de calculs de bioénergétique, que les métabolismes aérobies et anaérobies liés au fer et au soufre ainsi que les réactions de consommation de l'hydrogène pourraient entretenir le développement de communautés biologiques particulièrement productives dans les laves en coussins.

### 1.1.2 Les enjeux de l'altération des verres basaltiques

L'étude des mécanismes d'altération des verres basaltiques s'inscrit dans plusieurs contextes de recherche. Évidemment, on explicitera dans un premier temps l'intérêt d'une telle étude dans un contexte géologique, les basaltes étant des roches éruptives très abondantes à la surface de la Terre. L'altération de ces matériaux silicatés contrôle en effet partiellement l'évolution de la surface de la Terre et gouverne les flux d'éléments chimiques depuis la lithosphère vers les océans ou les eaux météoriques, distribuant ainsi les nutriments nécessaires au développement des écosystèmes. Si les processus d'altération contribuent à la dégradation des roches de la croûte terrestre, ils participent également à la formation de nouveaux matériaux carbonatés dans les océans/rivières et donc au transfert de CO<sub>2</sub> de l'atmosphère à la lithosphère. L'oxydation des roches à la surface de la Terre joue également un rôle dans l'évolution des propriétés redox du manteau terrestre, ainsi que de la teneur en dioxygène de l'atmosphère. L'altération des verres basaltiques se produit en majorité en milieu océanique, la Terre étant recouverte à hauteur de 72% par des océans, ce qui corres-

pond à  $10^{21}$  kg d'eau de mer, se mouvant au contact de la croûte océanique riche en roches basaltiques (Staudigel *et al.*, 1996).

Par ailleurs, les verres basaltiques étant des analogues aux verres nucléaires, ou encore aux basaltes lunaires ou martiens, on s'attachera également à rappeler comment et à quelles fins ces analogies peuvent être exploitées.

### 1.1.2.1 Implication dans les grands cycles géochimiques

---

#### | ALTERATION EN MILIEU CONTINENTAL |

---

Si, comme mentionné plus haut, une grande majorité des roches basaltiques à la surface de la Terre s'altère en milieu océanique, l'altération de ces roches en milieu continental, dans les rivières/fleuves/grands lacs terrestres, est à prendre en compte dans les bilans de masse. Une étude d'Opfergelt et Delmelle (2012) faisant le bilan des flux de silicium à la surface de la planète estime en effet à 85% la teneur en silicium dissout dans les océans provenant des rivières, les espèces dissoutes dans les eaux des rivières provenant elles-mêmes à hauteur de 45% de l'altération des roches silicatées de la croûte continentale. Morin *et al.* (2015) estiment le flux total de silicium depuis les rivières vers les océans à  $8 \times 10^{12}$  mol/an. Un modèle d'altération établi par Taylor et Lasaga (1999) montre que la rapide dissolution des basaltes dans le Columbia (fleuve circulant du Canada aux États-Unis, plus grand cours d'eau de la région Nord-Ouest Pacifique de l'Amérique du Nord) est très probablement responsable des changements significatifs dans la composition isotopique du strontium dans l'océan Pacifique au cours du Miocène (5-23 millions d'années). Les vitesses d'érosion des basaltes dans le Columbia sont extrêmement importantes et ont été estimées à 42-64 t/km<sup>2</sup>/an. Ces valeurs avoisinent d'ailleurs les vitesses d'érosion calculées pour les basaltes de l'île de la Réunion (63-170 t/km<sup>2</sup>/an d'après Louvat et Allègre (1997)) ou encore d'Islande (30-150 t/km<sup>2</sup>/an d'après Gislason *et al.* (1986)). Cette dissolution très rapide de matériaux basaltiques dans de très larges régions terrestres riches en basaltes peut donc engendrer d'importants flux des éléments constituant ces roches depuis ces plateformes et affecter ainsi la composition des océans.

---

#### | ALTERATION EN MILIEU MARIN |

---

L'altération des basaltes dans les océans a pour conséquence la redistribution de nombreux éléments au niveau des fonds marins, mais aussi le piégeage de certains d'entre eux.

Ces mécanismes contribuent à l'évolution de la composition des océans au cours des temps géologiques et sont aussi, on l'a vu, localement propices au développement de la vie (Edmond *et al.*, 1979). La Figure 1.1 dresse un bilan des processus d'altération des verres basaltiques en milieu océanique, processus explicités dans les paragraphes qui suivent.

Après éruption et au contact de l'eau de mer, les basaltes sont formés en coussins sur le plancher océanique. Les éruptions volcaniques successives enfouissent les roches issues des éruptions précédentes. L'épaisseur de cette couche de basaltes en coussins peut ainsi atteindre 1 km et leur agencement favorise l'existence d'espaces interstitiels entre les roches et la circulation d'eau de mer. Sous ces formations de laves en coussins, on trouve, sur quelques kilomètres, un agencement de basaltes en filons, eux-mêmes placés au dessus d'une couche de gabbros, qui sont des roches issues de la cristallisation lente et en profondeur du magma basaltique. Cette couche de gabbros délimite la croûte océanique et marque sa frontière avec le manteau supérieur. Plus on s'enfonce vers ces couches profondes et vers le magma partiellement fondu, plus la température est élevée (jusqu'à 1200°C à proximité de l'axe de la dorsale) et plus les conditions sont anoxiques. De même, plus on s'éloigne perpendiculairement de l'axe d'où jaillit le magma, plus les roches basaltiques sont anciennes et ont été soumises à l'altération (processus d'hydratation, oxydation) (Ludden et Thompson, 1978). L'eau de mer au niveau du plancher océanique a une température très peu élevée (<5°). Sur les premières centaines de mètres de profondeur, les basaltes en coussins, au contact de l'eau, sont donc soumis à une altération à basse température (<110°) : les éléments les plus mobiles du verre sont lixiviés (sodium, calcium), certains éléments formateurs sont libérés (silicium, aluminium), le fer et le titane sont immobiles, tandis que le magnésium et le potassium sont retenus dans les produits secondaires d'altération. Sont aussi piégés du dioxyde de carbone et de l'eau (Alt *et al.*, 1996; Staudigel *et al.*, 1996; Laverne *et al.*, 2001; Bach et Edwards, 2003).

La circulation hydrothermale contribue également et de manière importante, aux processus d'altération des basaltes. On retrouve généralement les sites hydrothermaux au niveau des dorsales océaniques, à proximité d'un lieu d'accrétion de lithosphère. La chaleur produite par le magma basaltique, qui, dans ces espaces, remonte et forme des chambres magmatiques à quelques kilomètres de profondeur seulement, donne naissance à la circulation d'un fluide hydrothermal. L'eau de mer, s'insérant dans les interstices entre les roches coussins est progressivement réchauffée. En s'insinuant dans les profondeurs de la croûte, elle interagit avec les roches basaltiques et se charge progressivement en éléments lixiviés. Les réactions de dissolution et de précipitation de phases secondaires (smectites, chlorites riches en magnésium) vont entraîner la libération de protons H<sup>+</sup> et l'acidification du fluide. L'augmentation des températures va favoriser la lixiviation et la solubilisation de certains

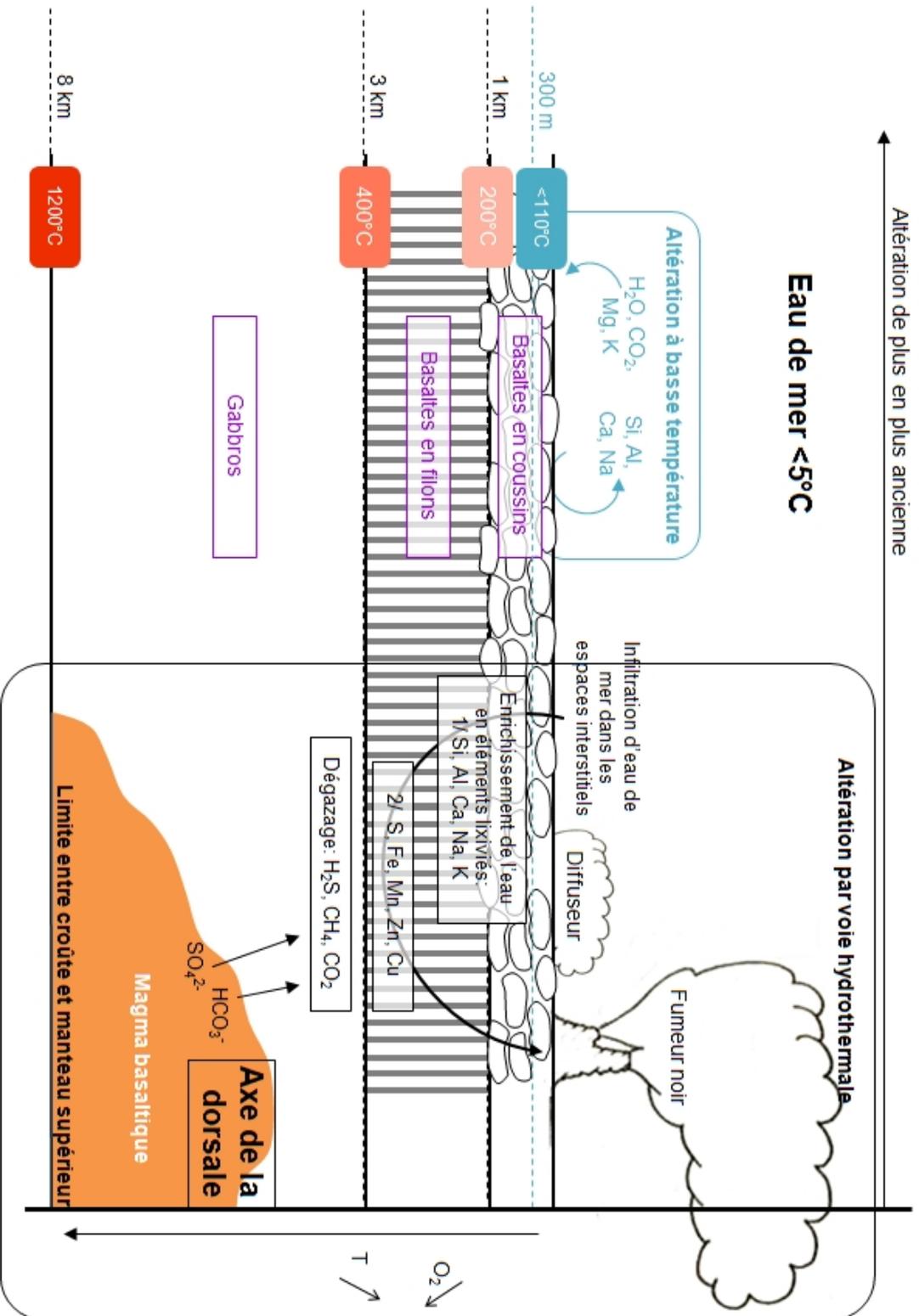


FIGURE 1.1: Processus d'altération des basaltes de la croûte océanique : altération à basse température ou par voie hydrothermale (Ludden et Thompson, 1978; Alt *et al.*, 1996; Staudigel *et al.*, 1996; Laverne *et al.*, 2001; Bach et Edwards, 2003; Henri, 2015).

éléments récalcitrants. Entre 300 et 400°C, le fluide hydrothermal, acide et réduit, s'enrichit en soufre, fer, manganèse, zinc et cuivre, mais aussi en dioxyde carbone, méthane et en hydrogène sulfuré, résultant du dégazage du magma tout proche (Nakamura *et al.*, 2007; Donoghue *et al.*, 2008; Franzon *et al.*, 2008). Cette eau chaude, moins dense que l'eau de mer dans son état initial, est alors entraînée vers le plancher océanique, à la surface duquel elle est expulsée. On observe alors un fluide noir, en raison de concentrations importantes en fer, zinc et cuivre. Cette couleur explique le nom de "fumeurs noirs" donné à ces événements. Ces éléments réagissent aux changements de conditions physico-chimiques (contact avec une eau de mer fraîche et oxygénée) par la précipitation importante de phases métalliques et sulfurées. Dans certains cas, le processus hydrothermal est plus superficiel, d'où l'obtention d'un fluide plus dilué en éléments lixiviés et moins chaud (<300°). Dans ce cas, le fluide hydrothermal réagit avec l'eau de mer en "subsurface", c'est-à-dire avec l'eau infiltrée entre les roches en coussins et rejaillit sous une forme plus diffuse. On ne parle d'ailleurs plus de "fumeur", mais de "diffuseur".

Notons que bactéries et archae colonisent abondamment les parois des événements hydrothermaux. En effet, la rencontre de l'eau de mer et du fluide hydrothermal met à disposition des microorganismes chimiolithoautotrophes une gamme étendue de réactions d'oxydoréduction, dont ils peuvent exploiter l'énergie. Toutefois, en raison des températures au niveau des fumeurs, les communautés peuplant ces habitats sont des souches hyperthermophiles (120°C pour la souche la plus tolérante) pouvant pratiquer la réduction des sulfates de l'eau de mer, de certains éléments structuraux des minéraux constituant les cheminées ou du CO<sub>2</sub> présent dans le fluide, ce qui représente finalement une biomasse assez faible. Au niveau des diffuseurs, au contraire, on trouve des conditions optimales pouvant soutenir une vie microbienne particulièrement active. Formés par dilution dans l'eau de mer sous le plancher océanique, ces fluides permettent les réactions les plus énergétiques telles que l'oxydation du sulfure d'hydrogène ou du méthane par le dioxygène.

▷ *Dynamique du climat* ◁

Le climat est intimement relié à la teneur en CO<sub>2</sub> de l'atmosphère (Berner *et al.*, 1983; Brady et Gislason, 1997). Une augmentation de cette teneur entraîne une augmentation des températures et perturbe les précipitations. La teneur en CO<sub>2</sub> est régulée, à travers les temps géologiques, par deux grands phénomènes : (1) l'assimilation du CO<sub>2</sub> lors de la photosynthèse et sa transformation en matière organique ou bien (2) l'altération des roches silicatées (Wallmann, 2001). En effet, l'altération de certains silicates présents à la surface de la Terre nécessite la consommation de CO<sub>2</sub> atmosphérique pour la formation de produits se-

condaires carbonatés. À titre d'exemple, les réactions mises en jeu lors de la dissolution de l'anorthite au contact de  $\text{CO}_2$  sont données ci-dessous (Gislason *et al.*, 2009) :



Le piégeage du  $\text{CO}_2$  lors des processus d'altération conduit, à plus long terme, à la sédimentation de phases carbonatées au fond des rivières ou des océans (Berner *et al.*, 1983). La corrélation entre teneur en  $\text{CO}_2$  atmosphérique et altération est bien sûr influencée par de nombreux facteurs, dont la température qui joue fortement sur les vitesses de dissolution comme sur les mécanismes de précipitation des carbonates (Caldeira, 1995; Dessert *et al.*, 2003). Elle dépend également de la réactivité des lithologies impliquées (Bluth et Kump, 1994) : les roches mafiques (riches en magnésium et en fer) comme les basaltes, ou les olivines sont en général très réactives, tandis que les roches dites felsiques (riches en silicium, aluminium, sodium et potassium) comme le quartz, la muscovite ou encore les feldspaths, le sont beaucoup moins. De plus, les roches mafiques contiennent généralement, en proportions plus importantes, les éléments calcium et magnésium nécessaires à la formation des carbonates. Ces éléments sont toutefois présents, en moindre mesure, dans la plupart des roches felsiques. L'ampleur du phénomène d'altération et son impact sur la teneur en  $\text{CO}_2$  de l'atmosphère dépend également du rapport entre la surface réactive exposée et le volume de fluide altérant (rapport  $\frac{S}{V}$ ), ainsi que des conditions de pH. Il est aussi important de souligner que les fluctuations climatiques engendrées par ces variations de la teneur en  $\text{CO}_2$  ont en retour un impact sur les vitesses d'altération (Berner et Caldeira, 1997; Sleep et Zahnle, 2001). On parle de boucle de rétroaction. L'ampleur des processus d'altération des roches silicatées a d'ailleurs considérablement varié selon les paléoclimats (Kasting *et al.*, 2006).

Il apparaît donc que l'activité volcanique, si elle est l'une des principales sources de  $\text{CO}_2$  dans l'atmosphère, est aussi liée, de par l'altération des roches volcaniques - et en particulier basaltiques - qu'elle génère, au piégeage de ce même  $\text{CO}_2$  (Staudigel *et al.*, 1989). Les basaltes sont les matériaux les plus altérables parmi la variété de roches volcaniques présentes à la surface de la Terre (Amiotte-Suchet et Probst, 1993). D'après une étude de Dessert *et al.* (2003), le flux de  $\text{CO}_2$  consommé lors des processus d'altération des basaltes est d'environ  $4,08 \times 10^{12}$  mol/an et 40% de la valeur de ce flux correspond aux basaltes des îles indonésiennes et de régions d'Amérique Centrale. Ces flux de  $\text{CO}_2$  représentent à eux seuls 30% à 35% des flux générés par l'altération de l'ensemble des roches silicatées à la surface de la Terre (Gaillardet *et al.*, 1999). Le modèle de Taylor et Lasaga (1999) a permis d'estimer la participation des mécanismes d'altération des basaltes du Columbia aux processus de piégeage du  $\text{CO}_2$ . Il apparaît que cette altération a eu pour conséquence une

augmentation de 0,75 à 2% des vitesses de consommation du CO<sub>2</sub> atmosphérique il y a de ça entre 16,5 et 13,5 millions d'années. La forte altérabilité des basaltes (et notamment des verres basaltiques, plus réactifs que les basaltes cristallins (Bluth et Kump, 1994)) ainsi que leur présence en abondance à la surface de la terre font ainsi de ces roches des acteurs privilégiés des processus de piégeage du CO<sub>2</sub> atmosphérique, participant à très long terme à la régulation du climat (Berner *et al.*, 1983).

Le stockage géologique du CO<sub>2</sub> est aujourd'hui une solution envisagée pour résoudre les problèmes engendrés par l'augmentation de la concentration atmosphérique en dioxyde de carbone. Le principe général repose sur la capture du CO<sub>2</sub> en sortie des centrales électriques, suivie de son injection dans des formations géologiques souterraines, où il sera stocké pour des millénaires. On trouve dans la littérature un certain nombre d'études traitant de la faisabilité et de l'efficacité d'un tel protocole et notamment de l'utilisation des basaltes comme de bonnes roches d'accueil (Guyot *et al.*, 2011; Galeczka *et al.*, 2014; Peuble *et al.*, 2015).

▷ *Recyclage de la croûte océanique* ◁

Le cycle de l'oxygène, à la surface comme dans les profondeurs de la Terre, est à prendre en compte dans l'étude de l'évolution des propriétés des roches terrestres, des interactions entre manteau et noyau de la Terre et de la composition chimique de l'atmosphère au cours de l'histoire de notre planète. Le redox du manteau est généralement estimé à l'aide de valeurs de fugacité de l'oxygène, elles-mêmes calculées sur la base de la distribution  $\frac{Fe^{2+}}{Fe^{3+}}$  au sein des roches le constituant (Virgo *et al.*, 1988). De telles mesures ont permis d'affirmer que le redox du manteau terrestre était complètement hétérogène, passant de très réduit à modérément oxydé (O'Neill *et al.*, 1993; Kadik, 1997).

L'oxydation du manteau terrestre est un processus complexe et difficile à modéliser. La croûte terrestre, réduite lorsque générée au niveau des dorsales (Christie *et al.*, 1986), est aussi capable de concentrer du fer ferrique, notamment par l'accrétion de sédiments marins oxydés, par l'altération progressive des surfaces érodées au contact de l'atmosphère ou d'eau, ou par l'accumulation de dépôts métallifères à l'émergence des sources thermales sous-marines (fumeurs noirs). Le renouvellement de la croûte terrestre, autrement dit la subduction de ces plaques altérées induirait ainsi un flux de fer ferrique à travers les profondeurs du manteau. Ce flux est d'ailleurs en partie contrebalancé par des flux inverses, prenant naissance à partir des zones de volcanisme, à savoir les dorsales océaniques, les monts hydrothermaux et les arcs ou îles volcaniques (Lécuyer et Ricard, 1999). Ceux-ci sont

représentés sur la Figure 1.2.

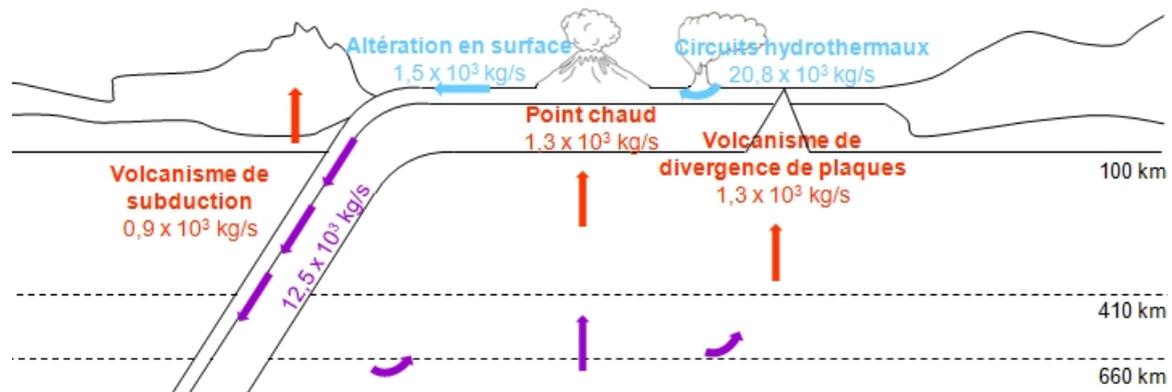


FIGURE 1.2: Bilan schématique des flux et quantités de  $\text{Fe}^{3+}$  dans les principaux réservoirs terrestres. Un flux net de  $12,5 \times 10^3$  kg/s de  $\text{Fe}^{3+}$  subduit en direction du manteau est notamment calculé (d'après Lécuyer et Ricard (1999)).

D'après Lécuyer et Ricard (1999), les échanges entre atmosphère et manteau/croûte terrestres induiraient, sur une échelle de 10 Ma, des variations de la teneur en dioxygène de l'atmosphère de l'ordre de  $\pm 30\%$ . L'altération de la croûte océanique basaltique contribue donc finalement de manière significative à la régulation de la composition atmosphérique (Kastaing, 1987).

Il est établi que la croûte terrestre actuelle tend vers une composition andésitique ( $\text{SiO}_2 = 57\text{-}64$  w%) et que des laves plus anciennes ont généré une croûte basaltique ( $\text{SiO}_2 = 45\text{-}55$  w%) (Rudnick, 1995). L'altération des basaltes couplée aux processus de subduction a été proposée comme l'un des mécanismes ayant progressivement modifié la masse et la composition de la croûte terrestre (Hart et Staudigel, 1982; Lee *et al.*, 2008). L'utilisation croissante des techniques de spectroscopies de masse a permis la multiplication des études isotopiques traitant de l'altération de ces roches (Huh *et al.*, 1998; Pistiner et Henderson, 2003; Rouxel *et al.*, 2003; Pogge von Strandmann *et al.*, 2008, 2012). Liu et Rudnick (2011) ont par exemple montré, à travers les bilans de masse isotopiques du lithium, que l'altération chimique de la croûte terrestre était responsable à hauteur de 25% de la perte de masse de cette croûte à travers les temps géologiques et que le couplage des processus d'altération et de subduction contribuait très largement à l'évolution de sa composition. De la même façon, Bach et Edwards (2003) rappellent que la subduction de fragments de croûte océanique altérés influence profondément l'évolution chimique et isotopique de la croûte et du manteau terrestres. Cette influence est d'autant plus forte qu'environ  $5 \times 10^{16}$  kg de basalte sont recyclés, par an, par le phénomène de subduction (Staudigel *et al.*, 1996).

### 1.1.2.2 L'analogie aux verres nucléaires

Les déchets radioactifs, issus de la production d'énergie nucléaire et du retraitement des combustibles usés, sont confinés dans des matrices vitreuses, coulées à l'intérieur de conteneurs en acier et enfouis à plusieurs centaines de mètres de profondeur. L'altérabilité de ces matrices vitreuses et en particulier leur résistance à l'eau devrait être étudiée à très long terme pour attester du caractère durable de ce stockage, mais de telles études sont irréalisables à l'échelle humaine. L'analogie en termes de mécanismes d'altération et d'énergies d'activation des réactions impliquées, entre verres volcaniques et verres nucléaires, a été proposée pour la première fois en 1979 par Ewing. Les verres basaltiques sont ainsi devenus des outils naturels permettant d'évaluer et de quantifier les conséquences d'une altération en milieu aqueux à très long terme (Techer *et al.*, 2001a; Libourel *et al.*, 2011; Paruzot *et al.*, 2015). Si les verres nucléaires contiennent un certain nombre d'éléments absents d'une composition basaltique traditionnelle, en particulier le bore ajouté en forte quantité (14% de B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) pour abaisser le point de fusion du matériau, ils ont une teneur en SiO<sub>2</sub> similaire. L'utilisation des verres basaltiques en tant qu'analogues des verres nucléaires est également légitimée par le fait qu'on retrouve des basaltes d'âges variables (de plusieurs dizaines de milliers à plusieurs millions d'années) sous toutes les latitudes et dans des environnements naturels très divers. La validation de cette analogie sur une large échelle de temps géologiques nécessite la réalisation d'expériences de lixiviation en laboratoire, couplée à la caractérisation d'échantillons basaltiques naturels ainsi que la construction d'un modèle permettant de simuler l'altération des verres analogues à long terme (Petit, 1992). Un tel modèle permet ainsi de confirmer ou d'infirmer les mécanismes d'altération déduits des études expérimentales et d'évaluer le degré de similitude, en terme de mécanismes d'altération, entre verres basaltiques et verres nucléaires.

L'analogie entre verres volcaniques et verres nucléaires est très intéressante dans la mesure où la littérature regorge d'études sur l'altération des verres de stockage et donc d'informations très utiles pour l'interprétation des résultats d'expériences de dissolution de verres basaltiques. Parmi ces études, on trouve notamment des travaux sur les cinétiques initiales de dissolution (Luckscheiter et Nesovic, 2004; Fournier *et al.*, 2014) ou au contraire sur les vitesses résiduelles (altération à très long terme) (Curti *et al.*, 2006; Libourel *et al.*, 2011; Gin *et al.*, 2012, 2013, 2014). Ces travaux font intervenir des paramètres variables, tels que le pH ou la température (Pierce *et al.*, 2008) ou la composition du verre (Gin *et al.*, 2012). La formation du *gel d'altération* (on reviendra sur ce terme un peu plus loin dans ce chapitre) a fait notamment l'objet d'un certain nombre d'études expérimentales (Rebiscoul *et al.*, 2005; Jollivet *et al.*, 2008). La caractérisation des produits secondaires d'altération ainsi que les mécanismes de leur formation ont également été étudiés (Pelegri *et al.*, 2010). Les tests de

lixiviations sont réalisés en eau pure, ou dans une eau enrichie en éléments du verre (Thien *et al.*, 2002; Luckscheiter et Nesovic, 2004) ou encore dans des solutions salines (Godon *et al.*, 1988; Abdelouas *et al.*, 1993).

### 1.1.2.3 L'application aux basaltes martiens et lunaires

Sur la Lune, les basaltes constituent la surface des *mers lunaires*, sombres plaines formées par d'anciennes coulées volcaniques et causées par l'impact de très grosses météorites. Ils seraient aussi des constituants importants de la croûte de Mars, que des études ont montré très semblable aux basaltes altérés hawaïens (*e.g.* Minitti *et al.*, 2007). Cette analogie, couplée à une littérature fournie traitant des processus d'altération de verres basaltiques naturels de tous âges, permettrait donc de retracer une partie de l'histoire géologique de Mars (Allen *et al.*, 1981). De plus, la présence ancienne d'eau sur Mars et le potentiel nutritif que représentent les basaltes terrestres pour les métabolismes bactériens sous-marins font des basaltes martiens la cible privilégiée d'une exploration astrobiologique (Izawaa *et al.*, 2003).

## 1.2 Processus d'altération des verres basaltiques et implication des microorganismes

### 1.2.1 Phénoménologie de l'altération des verres basaltiques naturels

Dans cette partie on s'attachera à donner une description mécanistique des processus d'altération des verres basaltiques, s'appuyant de manière conjointe sur les études expérimentales d'altération et sur la littérature des basaltes naturels.

#### 1.2.1.1 Rappels sur les mécanismes

On trouve dans la littérature un certain nombre de propositions de mécanismes d'altération, en milieu aqueux et représentatifs de l'ensemble des verres silicatés. Évidemment, les réactions d'hydrolyse du réseau vitreux reposent sur un jeu de conditions variables (externes mais également intrinsèques au verre) et de ces conditions dépendent leurs contributions respectives au processus global de l'altération. On peut toutefois en donner une description générale.

La dissolution des verres silicatés implique deux types de mécanismes : (1) les méca-

nismes de diffusion (transport des espèces en solution vers l'interface réactionnelle, réaction et transport des produits résultant de la réaction hors de l'interface) se produisant lorsqu'il existe un gradient de concentration entre deux points donnés du système réactionnel et régis par les lois de Fick, (2) les mécanismes de réaction de surface (adsorption, réaction, désorption) régis par la théorie de l'état de transition.

*L'échange d'ions ou hydrolyse des oxydes métalliques alcalins et alcalino-terreux*

La première étape de la dissolution d'un verre complexe est le relâchement préférentiel des éléments alcalins et alcalino-terreux en solution (sodium, potassium, calcium, magnésium), c'est-à-dire la **dissolution sélective** des cations modificateurs du réseau (Rana et Douglas, 1961a,b). Cette dissolution sélective s'opère par le biais d'un échange entre une espèce hydrogénée (matérialisée par le terme  $H^+$  dans les équations qui suivent) de la solution et un cation modificateur du verre. L'équation schématique de la réaction d'échange ainsi que sa constante sont respectivement données dans les équations (1) et (2) (Bunker, 1994).



$$K = \frac{[\equiv Si - OH][M^+]}{[\equiv Si - OM][H^+]} \quad (2)$$

où  $M$  est un élément alcalin ou alcalino-terreux (sodium, potassium, calcium, magnésium). La réaction d'échange résulte de la diffusion de l'espèce hydrogénée (on parle *d'hydratation*) puis du cation (on parle *d'interdiffusion*) à travers la structure du verre. Ce mécanisme de diffusion a pour conséquence la consommation des protons de la solution et l'augmentation du pH.

L'équation (2) met en évidence l'influence de la composition du verre sur la réaction d'échange et plus précisément du site d'échange concerné (terme  $[\equiv Si - OM]$ ). L'équation (1) résume les réactions d'échange s'opérant pour les verres silicatés alcalins simples, dans lesquels les cations modificateurs susceptibles d'être échangés compensent tous les oxygènes non-pontants. Cependant, au sein des verres aluminosilicatés alcalins (catégorie à laquelle appartiennent les verres basaltiques), certains cations trivalents comme  $Al^{3+}$  ou encore  $Fe^{3+}$  font également office d'éléments formateurs de réseau. Dans ce cas, les cations modificateurs sont également susceptibles de jouer le rôle de compensateurs de charge des sites  $AlO_4^-$  et  $FeO_4^-$ . La réaction d'échange dépend alors fortement de la nature du site d'échange et de la distribution de la charge électronique. Ceci est montré dans la Figure 1.3, tirée d'une étude de Bunker (1994), qui compare notamment l'efficacité de la protonation des oxygènes non-pontants (sites  $[\equiv Si - OM]$ ) et des groupements  $AlO_4^-$ .

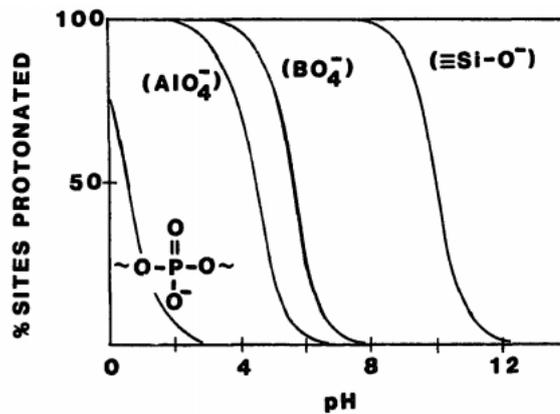
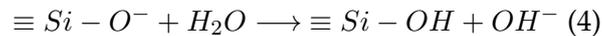
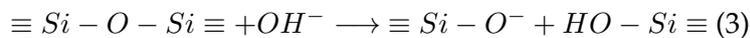


FIGURE 1.3: Mise en évidence de l'influence du site de protonation et du pH sur la réaction d'échange d'ions. Exemple du Na, compensateur de charge des sites anioniques,  $AlO_4^-$ ,  $BO_4^-$  ou des oxygènes non-pontants (groupes silanols et sites d'oxygènes non-pontants des verres phosphates) (Bunker, 1994).

La protonation des oxygènes non pontants se fait bien plus favorablement (taux de protonation égal à 100% pour un pH inférieur à 8) que la protonation des sites  $AlO_4^-$  (taux de protonation maximal à des pH très acides seulement), indiquant que les cations compensateurs de la charge électronique négative des groupes  $AlO_4^-$  sont plus résistants à la lixiviation.

#### *Hydrolyse du réseau vitreux*

Elle s'opère en parallèle de la réaction de diffusion, à l'interface verre/solution. Il s'agit de l'étape de libération des formateurs du réseau du verre, elle correspond donc à la destruction des liaisons pontantes du réseau silicaté (Si-O-Si, Si-O-Al ou Si-O-Fe dans le cas des verres basaltiques). Elle s'opère par hydroxylation des oxydes formateurs à la surface du verre, selon le mécanisme suivant :



Tandis que les réactions d'interdiffusion constituent un processus limité par le transport des ions à travers la couche progressivement hydratée, la réaction d'hydrolyse, elle, s'opère en surface. Si les deux types de réaction se produisent simultanément, il existe donc néanmoins deux fronts réactionnels : le premier se situe à l'interface verre sain/verre hydraté, le deuxième à l'interface entre verre hydraté/solution altérante. La stabilisation de ces deux fronts est gouvernée par les cinétiques d'interdiffusion et d'hydrolyse, qui seront abordées un peu plus loin (§1.2.3).

*La remise en question des mécanismes de diffusion*

Sur la base des mécanismes décrits dans les paragraphes précédents, la lixiviation sélective de la surface du verre lors de l'étape d'échange d'ions conduirait à l'appauvrissement, en éléments lixiviés, de la partie du verre exposée à l'eau. Petit *et al.* (1990), Techer (1999) et Stroncik et Schmincke (2001) observent d'ailleurs en surface une étroite zone désalcalinisée, poreuse, mais dont la structure demeure celle du verre. Par la suite, l'hydrolyse du réseau et notamment des éléments formateurs du verre conduit à la saturation progressive de la solution en ces éléments et à la *précipitation* ou *condensation*, à la surface du verre, d'une structure hydratée amorphe que l'on désigne par le terme "palagonite-gel" ou "gel d'altération" dans les études portant sur l'altération des verres nucléaires. À titre anecdotique, le terme original "palagonite" décrit un verre de couleur brune associé aux tuffs et laves rencontrés à Palagonia, à l'Est de la Sicile (Von Waltershausen, 1845). Les mécanismes de formation de ce gel sont à l'origine de nombreuses discussions scientifiques, deux théories plausibles s'affrontant généralement. On peut d'abord considérer que cette première phase d'altération se forme par reprécipitation à la surface du verre des éléments dissouts saturant la solution (mécanismes de dissolution/précipitation) (Jercinovic *et al.*, 1990; Daux *et al.*, 1994; Stroncik et Schmincke, 2001; Crovisier *et al.*, 2003). Sont aujourd'hui plus généralement admis des mécanismes d'hydrolyse/condensation (Valle *et al.*, 2010; Gin *et al.*, 2015). La différence entre ces deux types de mécanismes est principalement le lieu où s'opère l'équilibre thermodynamique : pour les mécanismes de dissolution/précipitation il s'agit d'un équilibre global dans la solution d'altération, alors que pour les mécanismes d'hydrolyse/condensation qui s'opèrent *in situ*, on envisage un équilibre local entre la solution et le gel formé. On en vient donc à s'interroger, dans le cas des verres basaltiques, sur les mécanismes de formation de la palagonite. En effet, les analogies entre gel et palagonite sont nombreuses, parmi-elles on retiendra des similarités en termes de (1) localisation de ces phases d'altération (à l'interface franche solution/verre) (Jercinovic *et al.*, 1990), (2) de structure (amorphe), (3) de composition (gel et palagonite sont riches en silicium, aluminium, fer et calcium) et enfin (4) de signature isotopique. On s'attardera un peu plus longuement sur ce dernier point : l'utilisation de traceurs isotopiques est en général un excellent outil pour la compréhension des mécanismes de dissolution des verres et des échanges entre la solution et le matériau. On a par exemple recours aux isotopes de l'hydrogène pour comprendre les mécanismes d'interdiffusion (Anovitz *et al.*, 2009). Pour la caractérisation de la porosité du gel d'altération, ou encore les mécanismes de sa formation, des auteurs ont remplacé la solution altérante par un mélange H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O (Cailleteau *et al.*, 2008) ou par une solution enrichie en <sup>29</sup>Si (Jollivet *et al.*, 2008). Dans une étude de Valle *et al.* (2010), ceci permet en outre d'observer que la signature isotopique du gel d'altération formé est un intermédiaire entre celle du verre sain et celle de la solution, ce qui met fortement en doute l'idée de sa

formation par un mécanisme de précipitation des éléments libérés en solution. Les mêmes observations ont été faites pour une palagonite (Le Gal *et al.*, 1999). Un changement de redox du fer (oxydé dans la structure amorphe de la palagonite d'un verre initialement réduit) est même également constaté.

Evoquons à présent les approches récentes de Daval *et al.* (2011), Hellmann *et al.* (2015) ou Geisler *et al.* (2015), généralisées à l'ensemble des matériaux silicatés et mettant en question l'existence-même d'une couche lixiviée. Ces auteurs mettent en évidence, par des observations en Microscopie Electronique en Transmission à très haute résolution (nanométrique voire subnanométrique) la formation d'une couche de silice amorphe en surface, perméable au fluide. Un changement brutal, aussi bien chimique que structural, caractérise l'interface entre le matériau parent et cette couche, ce qui est incompatible avec un modèle de diffusion tel que celui décrit dans les paragraphes précédents. D'après ces études, la dissolution des matériaux silicatés serait donc une succession de réactions de dissolution-précipitation s'opérant à cette interface.

Avec le temps et quelque soit son mécanisme de formation, il apparaît que ce gel de silice amorphe évolue vers une phase plus cristallisée chimiquement très proche, se rapprochant à terme d'une smectite (Jercinovic *et al.*, 1990; Stroncik et Schmincke, 2001; Zhou *et al.*, 2001; Crovisier *et al.*, 2003). Ceci est expliqué, selon divers auteurs (Stroncik et Schmincke, 2001; Valle *et al.*, 2010) par la règle des étapes successives d'Ostwald. Appliquée à notre système, cette règle statue que se forme le plus rapidement une phase instable mais que celle-ci évolue à terme vers des phases de plus en plus stables. On qualifie le résultat de cette évolution de *palagonite fibreuse*. Cette phase, partiellement cristallisée, translucide, est reconnaissable à sa couleur au microscope optique (jaune-orangé voire marron, en fonction de la température d'altération), à sa faible biréfringence par rapport au verre sain et à son caractère anisotrope. Elle se démarque du verre frais par une limite franche. La composition chimique de la palagonite fibreuse est très variable et vouée à évoluer avec le temps et en fonction des variations climatiques ou géomorphologiques que peut subir le verre dans son environnement naturel. Des auteurs ont démontré le caractère isovolumique du processus de palagonitisation, par l'étude des relations structurales entre le verre et la palagonite, ou tout simplement en observant que le verre ne se fendillait pas le long de fissures palagonitisées (si le processus engendrait une augmentation du volume de la roche, celle-ci se lézarderait) (Hay et Iijima, 1968; Jercinovic *et al.*, 1990; Techer *et al.*, 2001b). Cette théorie a toutefois été décriée par Crovisier, qui ne retrouve pas, sur ses échantillons, de lien entre l'épaisseur du verre basaltique soumis à altération et celle de la palagonite mesurée (Crovisier, 1989).

### 1.2.1.2 Formation des produits secondaires

Si la palagonite-gel est caractérisée par une composition intermédiaire entre celles du verre sain et de la solution, les phyllosilicates/argiles/zéolithes (Techer, 1999; Crovisier *et al.*, 2003) et autres phases formées après plusieurs mois d'altération figent la composition de la solution. Ces phases, ultérieures à la palagonite-gel, sont ainsi formées par des mécanismes de dissolution/précipitation. La précipitation étant régie par les équilibres thermodynamiques, la nature des phases formées dépend donc plutôt des conditions expérimentales (pH, température, atmosphère, concentrations des éléments dissouts...) et non de la composition du verre. Gislason et Eugster (1987a) observent par exemple, à 25°C, la formation de zéolites ou d'argiles en fonction du caractère fermé ou ouvert de l'expérience de dissolution. La précipitation de tels minéraux semble aussi d'autant plus rapide que le rapport  $\frac{S}{V}$  est grand. La Figure 1.4 répertorie quelques phases secondaires ayant été observées après quatre mois à deux ans d'altération à la surface de verres basaltiques altérés au laboratoire, en eau pure.

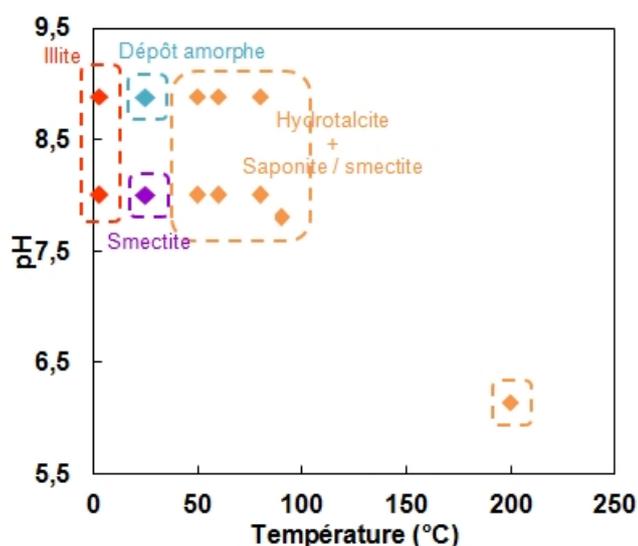


FIGURE 1.4: Produits secondaires d'altération détectés à la surface de verres basaltiques, en fonction des conditions expérimentales (pH et température) (d'après Thomassin (1984); Crovisier *et al.* (1985); Crovisier (1989); Crovisier *et al.* (1990); Abdelouas (1996)).

Les études menées sur des échantillons basaltiques naturels sont indispensables à l'identification des phases secondaires se formant à des échelles de temps expérimentalement inaccessibles. Ceux-ci sont en effet âgés de quelques dizaines de milliers à quelques milliards d'années pour les volcanismes les plus anciens. Dans ces études, l'analyse corrélée des eaux altérantes et des échantillons basaltiques prélevés permet, par un raisonnement empirique, d'évaluer quelles sont les séquences minéralogiques caractéristiques de l'altération et de retracer l'histoire de leurs formations. Le Tableau 1.5 fait état des produits secon-

daires formés à la surface/dans les fractures de verres basaltiques issus d'un panel d'échantillons géographiquement et historiquement très varié (altération continentale/marine, hydrothermale/à basses températures).

On retrouve, en dépit des conditions d'altération différentes, des séquences minéralogiques similaires. Est systématiquement détectée une phase argileuse, le plus souvent de type smectite (montmorillonite, saponite ou nontronite en fonction des conditions). Cette phase est la première phase formée. On retrouve ensuite des oxydes ou oxyhydroxydes de fer, des phases carbonatées de calcium ou de magnésium (le plus souvent la calcite) et enfin des zéolithes (phillipsite, chabazite, analcime...). La Figure 1.5 fait apparaître les phases les plus couramment retrouvées.

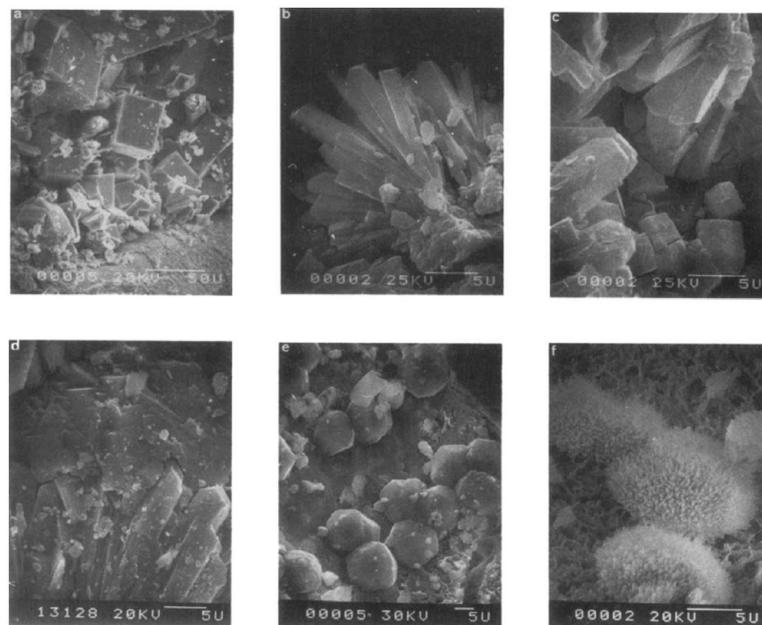


FIGURE 1.5: Images MEB des principales phases cristallisées retrouvées à la surface de basaltes naturels altérés en milieu océanique : (a) zéolithes (chabazite) sur smectite, (b) et (c) phillipsite, (d) chabazite sur phillipsite, (e) analcime, (f) silicate de Ca (Jercinovic *et al.*, 1990).

### 1.2.2 Des indices d'une action microbienne

Il est difficile de quantifier, ni même d'avoir des preuves de l'implication des bactéries dans les mécanismes d'altération des verres volcaniques. Cette dernière a été suggérée pour la première fois il y a une trentaine d'années par Jones et Goodbody (1982) et Ross et Fisher (1986). Si à l'époque il était difficile d'expliquer de manière convaincante les mécanismes impliqués, il apparaissait déjà que l'action des microorganismes influait sur les textures d'altération, mais aussi sur les vitesses de dissolution et sur la nature même des phases formées.

Site de provenance	Auteurs	Eaux altérantes	Séquence minéralogique			Remarques
			Argiles et Phyllosilicates	Oxydes métalliques	Autres phases	
Hawaii	Hay et Iijima (1968)	Souterraines (ambiantes)	Smectite <sup>a</sup>		Opale Carbonates (calcite)	Chabazite Thomsonite Gonnardite Natrolite Analcime Analcime Phillipsite Chabazite
	Cowan et Ewing (1989)	Météoriques (ambiantes)				Palagonite à faible teneur en Al
Montagnes de l'Atlas, Maroc	Karrat <i>et al.</i> (1998)	Météoriques (ambiantes)	Smectite Kaolinite Halloysite Illite		Quartz	Détectés mais non identifiés
Paraná, Brésil	Yokoyama <i>et al.</i> (2015)	Météoriques (ambiantes)	Non identifiés	Oxyhydroxydes de Fe	Quartz	Non identifiés
British Columbia, Canada	Jercinovic <i>et al.</i> (1990)	Glaciaires (<4°C)				
Islande	Crovisier <i>et al.</i> (1990)	Glaciaires	Smectite <sup>b</sup>		Carbonates (calcite)	Phillipsite Chabazite Analcime
Ride médio-Atlantique	Zhou et Fyfe (1989)	Océaniques (5°C)	Smectite	Oxydes de Fe/Mn	Carbonates (calcite)	Phillipsite
Ride Est-Pacifique	Schramm <i>et al.</i> (2005)	Océaniques (5°C)	Céladonite Smectite <sup>c</sup> Chlorite	Oxyhydroxydes de Fe		Phillipsite
	Hunter <i>et al.</i> (1999)	Océaniques (5°C)	Céladonite Smectite <sup>c</sup> Chlorite	Oxyhydroxydes de Fe	Carbonates Quartz	Non identifiés
	Honnorez (2003)	Océaniques (<60°C)	Céladonite Smectite <sup>c</sup> Glauconite	Oxyhydroxydes de Fe	Carbonates (calcite, aragonite)	Phillipsite

Tableau 1.5: Phases d'altération observées sur des basaltes naturels soumis à des conditions d'altération variées ((a) montmorillonite (b) nontronite (c) saponite).

Si, malgré les avancées dans ce domaine, l'étude des phénomènes de bioaltération est toujours une tâche ardue à l'heure actuelle, c'est avant tout en raison de la diversité microbienne en milieu naturel (Stotsky, 1972) et de la grande variété de textures et de figures d'altération qui peuvent en découler. De façon générale, plus la température est basse, plus les souches sont diversifiées et présentes en abondance. On considère que les conditions optimales à la croissance bactérienne se situent entre 15 et 80°C (Furnes et Staudigel, 1999), 110°C étant la limite haute au développement d'une vie microbienne (Furnes *et al.*, 2001a; Walton et Schiffman, 2003; Staudigel *et al.*, 2006). Qui plus est, les espèces présentes dans l'environnement d'altération évoluent généralement avec le temps, en se succédant les unes aux autres en fonction de l'évolution du pH et des concentrations en nutriments, concentrations qui varient en particulier au fil des besoins des communautés microbiennes précédentes.

Depuis l'émergence d'une vie microbienne sur Terre, les microorganismes peuvent pourtant avoir continuellement et de manière significative affecté la minéralogie à la surface de la planète en participant à des réactions de précipitation, de dissolution, mais aussi à la transformation de certains minéraux. Lorsqu'un microorganisme meurt, les structures cellulaires et molécules organiques qui le constituent sont dégradées très rapidement, à l'exception de certains cas particuliers de préservation sélective de molécules très résistantes, comme celles composant les polymères extracellulaires (Vandenbroucke et Largeau, 2007). Les rares molécules organiques pouvant subsister sont ensuite soumises à un ensemble des processus physico-chimiques et biochimiques au travers desquels elles sont transformées en roches sédimentaires, puis altérées (diagénèse et métamorphisme). Alternativement, les microorganismes peuvent induire la formation de biominéraux (sursaturation de l'environnement cellulaire vis-à-vis de certaines phases minérales, stimulation d'une nucléation hétérogène et modification de la croissance minérale) (Benzerara *et al.*, 2011). Ces derniers, plus résistants au métamorphisme, peuvent figer certains indices d'une vie bactérienne. Les biominéraux peuvent tout aussi bien être des carbonates que des phosphates, silicates, sulfides, oxydes, hydroxydes, ils impliquent donc une grande variété de cations comme le fer, calcium, magnésium, manganèse (Weiner et Dove, 2003) et peuvent également piéger des molécules organiques ou dissimuler des encroûtements de cellules mortes (processus de *fossilisation*) (Li *et al.*, 2013). Ils recèlent donc un grand nombre d'informations sur l'évolution de la vie sur Terre et l'implication bactérienne dans les processus d'altération, informations souvent difficiles à interpréter au vu de leur composition et morphologies variées, liées d'une part à la complexité des processus de biominéralisation ayant conduit à leur formation et d'autre part aux transformations diagénétiques et métamorphiques qu'ils ont pu endurer. Ces transformations font d'eux des phases difficiles à distinguer des produits de la palagonitisation observés sur des verres basaltiques vieux de plusieurs Ma voire Ga (Benzerara *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2013).

De nombreux auteurs ont travaillé sur la caractérisation physico-chimique des verres issus du volcanisme et à l'identification de ces phases biominéralisées. À travers ces études, certaines propriétés texturales ou physico-chimiques se distinguent de manière suffisamment significative pour être considérées comme des indices d'une action microbienne.

**(1) Arguments chimiques :** on note généralement la présence, 10 à 30 fois supérieure au verre sain, des éléments carbone et azote dans la couche d'altération des verres susceptibles d'avoir été en présence de microorganismes (Torsvik *et al.*, 1998; Thorseth *et al.*, 2003). Ces éléments sont très probablement accumulés dans les organismes bactériens à l'interface entre le verre et la solution altérante. Le rapport  $\frac{N}{C}$  est parfois caractéristique de cette activité microbienne, lorsqu'équivalent à celui mesuré dans les cellules. Entre 0,15 et 0,35 il traduit généralement la présence de bactéries marines (Torsvik *et al.*, 1998). Le phosphore, un des principaux macronutriments utilisés par les bactéries, peut être aussi un marqueur de l'altération microbienne. La raison de sa présence peut être biotique lorsqu'il n'est pas réparti uniformément à la surface de la couche d'altération et si de plus dans ces zones on le retrouve en quantités largement supérieures par rapport au verre sain ou à l'eau de mer où il n'est présent qu'en traces (Torsvik *et al.*, 1998). La présence notable de potassium peut également être un marqueur chimique de l'altération, les cellules bactériennes ayant la propriété de concentrer le potassium de l'environnement, qui joue en particulier un rôle énergétique (Thorseth *et al.*, 1995b; Torsvik *et al.*, 1998; Thorseth *et al.*, 2003). Enfin, une accumulation de carbone au niveau des motifs d'altération peut témoigner d'une interaction roches/bactéries (Furnes *et al.*, 2001b). Le fractionnement isotopique du carbone, représenté par le ratio des teneurs en  $^{13}C$  et  $^{12}C$  d'un échantillon (ratio noté  $\delta^{13}C$ ), est également caractéristique d'une activité bactérienne. Des faibles valeurs de  $\delta^{13}C$  mesurées dans les carbonates localisés à la surface ou dans les fractures de verres basaltiques altérés témoignent par exemple des processus d'oxydation de carbone organique par les microorganismes (Furnes *et al.*, 2001a).

**(2) Marqueurs biologiques :** la détection d'ADN dans les zones d'altération est également un bon moyen d'attester des processus de bioaltération. Pour ce faire, on recourt généralement à des agents colorants de l'ADN (bromure d'éthidium, 4',6'-diamidino-2-phénylindole, orangé d'acridine) puis à des techniques d'observation microscopique, pour la mise en évidence de la présence d'acides nucléiques (Thorseth *et al.*, 1995a; Torsvik *et al.*, 1998).

**(3) Indices texturaux :** certaines textures sont considérées comme caractéristiques de la bioaltération. De façon générale, l'altération abiotique est caractérisée par

des fronts d'altération réguliers, progressant de manière concentrique dans le verre sain et par un contact étroit entre palagonite et verre. Au contraire, la bioaltération est caractérisée par des figures plus diverses, irrégulières et asymétriques, des petits trous répartis de façon non homogène, parfois regroupés assez densément autour de zones fracturées (Herrera et Cockell, 2008; Staudigel *et al.*, 2008). Cette dissolution se fait en effet préférentiellement sur des sites à forte énergie de surface, généralement des irrégularités (coins, fractures, trous, dislocations), d'où l'obtention d'un front d'altération ponctué de défauts et dont le dessin est dentelé (Staudigel *et al.*, 2008). Cette irrégularité peut-être également expliquée par l'hétérogénéité physico-chimique du système, entraînant la formation de phases secondaires variées. Enfin, les bactéries à la surface du verre créent leurs propres microenvironnements et conditions de pH, ce qui peut localement accélérer la dissolution et être responsable de la texture irrégulière des fronts d'altération et de l'épaisseur très variable de la couche altérée (Thorseth *et al.*, 1992).

Les textures caractéristiques de l'altération à basse température par voie bactérienne principalement décelées à la surface de basaltes âgés de 1 à 2,5 Ma affleurant sur le plancher océanique, peuvent être répertoriées selon deux catégories, représentées par la Figure 1.6 (Furnes *et al.*, 2001b) :

- **les textures granulaires**, les plus courantes (Figure 1.6.G). Il s'agit de regroupements, de l'ordre du micromètre, de puits de dissolution, remplis de produits secondaires de type argiles ou oxydes de fer, mais aussi de phases biominéralisées et de résidus de biofilms (Thorseth *et al.*, 2003). On prête à la formation de ces textures granulaires le mécanisme suivant : le fluide altérant s'immisce dans le verre par le biais des fractures, apportant avec lui son lot de microorganismes. Au point de contact, la bactérie, en produisant des protons/groupements hydroxyles/molécules organiques, creuse dans le verre une cavité hémisphérique dont le diamètre correspond à la taille d'une cellule, puis se divise, favorisant la création de nouvelles cavités et accélérant le mécanisme d'altération. Avec le temps, la précipitation de phases secondaires authigènes conduit au remplissage de la fracture, stoppant le flux de solution altérante porteuse de microorganismes et par la même occasion tout processus d'altération (Smits, 2006; Staudigel *et al.*, 2008).

- les textures tubulaires, ou microtubules (Figure 1.6.T). On les retrouve assez systématiquement dans les océans à des profondeurs de 100 à 200 mètres (Furnes *et al.*, 2001b). Elles mesurent de une à plusieurs dizaines de micromètres de diamètre et pénètrent dans le verre de plusieurs dizaines à centaines de micro-

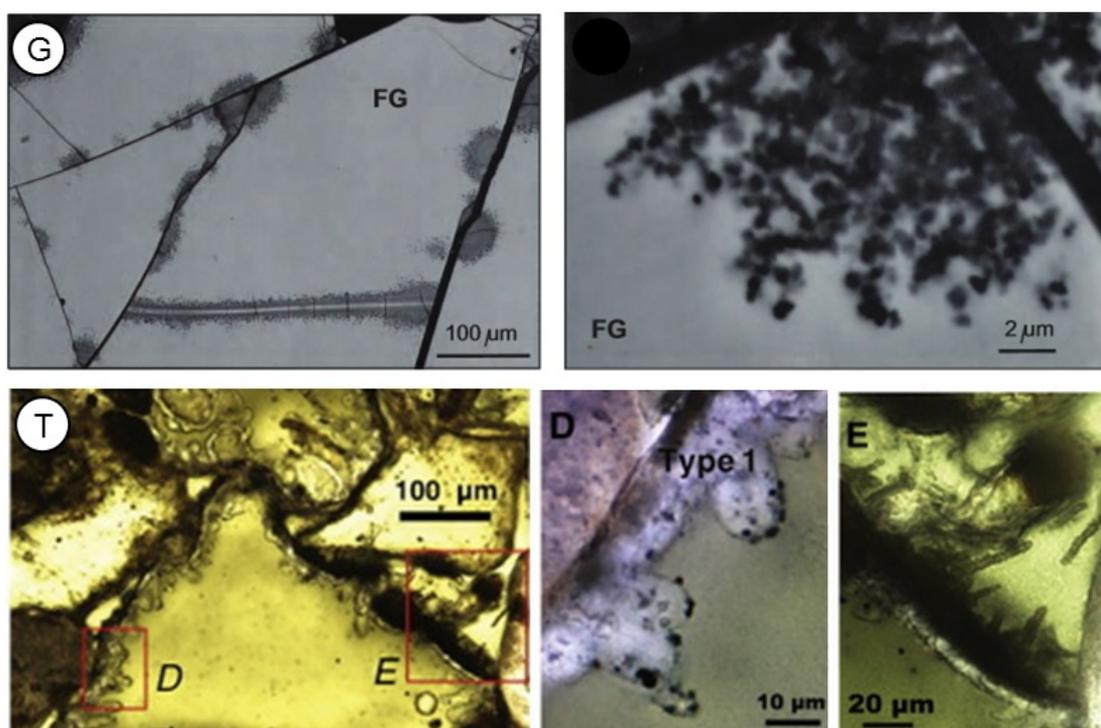


FIGURE 1.6: Bio-textures granulaires (G) et tubulaires (T), prenant naissance au niveau des fractures du verre (FG : verre sain). Les images MEB des structures granulaires sont tirées d'une étude de Furnes *et al.* (2001b), tandis que les images multiplan des tubules sont extraites d'une étude de Lepot *et al.* (2011).

mètres. Leur direction est la plupart du temps perpendiculaire aux fissures traversant le verre, d'où elles prennent naissance. Comme pour les textures granulaires, les diamètres des tubules sont généralement comparables aux dimensions des cellules bactériennes, c'est pourquoi on leur attribue généralement une origine microbienne (Alt et Mata, 2000; Furnes *et al.*, 2001b), mais cette origine est soumise à des discussions (Benzerara *et al.*, 2007; Lepot *et al.*, 2011). Après formation de la cavité hémisphérique au point d'attache verre/bactérie, la colonisation de la zone de dissolution permettrait de creuser le verre depuis la cavité initiale. À la différence des textures précédentes et selon Thorseth *et al.* (1992), la forme tubulaire observée est liée au fait que les cellules filles, en se divisant, forment un filament. Ces tunnels sont ensuite le lieu de précipitation de phases secondaires de type palagonite, généralement des smectites, mais aussi des phases carbonatées et des oxydes de fer (Benzerara *et al.*, 2007; Staudigel *et al.*, 2008).

Ces indices ont été décelés sur des échantillons volcaniques recoupant un panel extrêmement varié de lieux et temps géologiques. Le plus ancien témoignage d'une action microbienne se situe sur des échantillons vieux de 3,5 Ga, retrouvés au niveau des ceintures de

roches vertes de Barberton (Afrique du Sud) et Pilbara (Australie) (Staudigel *et al.*, 2008). Bien qu'il demeure difficile de dissocier clairement processus biotiques et abiotiques, on peut envisager que les microorganismes affectent/participent à l'évolution chimique de la croûte océanique/des eaux environnantes. Cette hypothèse soulève plusieurs questions, récapitulées ci-dessous :

- (1) L'activité microbienne optimise-t-elle l'altération, par une action directe ou par production de métabolites organiques par exemple ?
- (2) L'eau ne demeure-t-elle pas tout de même le principal agent altérant ? Comment différencier de façon certaine l'altération liée au fluide, de celle liée aux bactéries ?
- (3) Est-il possible que les bactéries tirent profit des produits de l'altération, en puisant par exemple dans les éléments relâchés dans le système, sans toutefois accélérer ou intervenir dans le processus d'altération, ni influencer sur sa vitesse ?

Ceci nous conduit finalement à nous intéresser aux cinétiques de dissolution des verres basaltiques et aux contributions possibles des microorganismes, et en particulier des bactéries.

### 1.2.3 Cinétiques d'altération

#### 1.2.3.1 Rappel sur les cinétiques d'altération en eau pure

Les paragraphes qui vont suivre ont pour but de faciliter la discussion des résultats des expériences d'altération réalisées dans le cadre de cette thèse. On s'intéressera donc finalement prioritairement aux cinétiques de dissolution pour des conditions loin de l'équilibre (vitesse d'échange d'ions, vitesse initiale) en eau pure et dans une fourchette de températures s'étendant de 5 à 90°C avec un intérêt particulier pour les études faites à 25°C et à pH neutre.

---

#### | VITESSE D'ÉCHANGE D'ION |

---

Vitesses d'échange d'ions ( $v_e$ ) et coefficients de diffusion ( $D$ ) des espèces hydrogénées et alcalines/alcalino-terreuses sont intimement liés, le relâchement des alcalins suivant notamment une loi en racine carrée du temps qui peut être exprimée par la loi de Fick :

$$e = 2 \times \sqrt{\frac{D \times t}{\Pi}}$$

$$v_e = \rho \times \sqrt{\frac{D}{\Pi \times t}}$$

où  $e$  représente l'épaisseur de diffusion et  $\rho$  la masse volumique du verre.

Ces deux paramètres dépendent de la température selon une loi d'Arrhenius :

$$v_e = A' \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (5)$$

$$D = A'' \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (6)$$

où  $A'$  et  $A''$  sont deux termes pré-exponentiels,  $E_a$  est l'énergie d'activation associée à la réaction d'hydratation du verre ( $J/mol$ ),  $R$  est la constante des gaz parfaits ( $R = 8,314$  kJ/mol/K) et  $T$  la température ( $K$ ). La réaction d'échange d'ions est donc d'autant plus rapide que la température est élevée. D'après l'équation (1) (§1.2.1.1), la diffusion des éléments alcalins à travers le verre dépend aussi du pH de la solution (représenté par le terme  $[H^+]$ ), qui favorise d'autant plus la réaction d'échange qu'il est acide. Si la détermination des coefficients de diffusion des éléments à travers le verre s'avère complexe et que les valeurs obtenues sont difficilement comparables entre elles, les calculs étant basés sur la prise en compte de modèles différents (Boksay *et al.*, 1967; Doremus, 1975; Mularie *et al.*, 1979; Landford *et al.*, 1979), une vue d'ensemble de la littérature suggère une réduction du coefficient de diffusion d'un ordre de grandeur environ toutes les deux unités de pH (Verney-Carron, 2008) et une dépendance de ce coefficient en racine carrée du temps. Quelques valeurs de coefficient de diffusion d'une espèce alcaline (ici le sodium) à travers le verre sain ou la pellicule d'altération, extrapolées pour des températures utiles à cette étude à partir des données récentes de Parruzot (2014), sont consignées dans le Tableau 1.6.

Température	$D_{Na}$ { verre sain }	$D_{Na}$ { pellicule d'altération }
5°C	$3,9 \times 10^{-23}$	$3,6 \times 10^{-25}$
25°C	$2,6 \times 10^{-22}$	$1,7 \times 10^{-24}$
45°C	$1,4 \times 10^{-21}$	$7,0 \times 10^{-24}$
90°C	$3,0 \times 10^{-20}$	$9,2 \times 10^{-23}$

Tableau 1.6: Coefficients de diffusion (en  $m^2/s$ ) du Na lors de l'altération d'un verre basaltique à faible ( $E_a = 66$  kJ/mol) et à fort ( $E_a = 55$  kJ/mol) progrès de réaction. Ces coefficients ont été extrapolés pour des températures variant entre 5 et 90°C d'après les données fournies dans la thèse de Parruzot (2014).

---

| VITESSE D'HYDROLYSE |

---

La dissolution d'un verre est complète lorsqu'on assiste à la rupture des liaisons Si-O du réseau vitreux (Oelkers, 2001). Pour cette raison, le taux de relâchement du silicium

au cours du temps est considéré comme représentatif de la vitesse globale de dissolution du verre. Après immersion d'un verre aluminosilicaté dans une solution d'eau ultrapure, la libération des éléments formateurs de réseau (silicium, aluminium, Fe(III)) se produit rapidement. Au regard des mécanismes décrits précédemment (§1.2.1.1), le taux de relâchement des éléments formateurs est équivalent à la vitesse d'hydrolyse du réseau vitreux. Ce relâchement est dans un premier temps proportionnel au temps. On peut alors calculer une vitesse de dissolution, constante et désignée par le terme "vitesse initiale de dissolution". Dans ces conditions loin de l'équilibre, on admet qu'il n'y a pas de rétroaction de l'évolution de la composition de la solution sur la vitesse initiale.

La vitesse d'hydrolyse, tout comme la vitesse d'échange d'interdiffusion, montre une dépendance vis-à-vis de la température en loi d'Arrhénius (Gislason et Oelkers, 2003) :

$$v_0 = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (7)$$

La Figure 1.7, tirée d'une étude de Techer *et al.* (2001a), répertorie les vitesses initiales de dissolution de verres basaltiques ou nucléaires en eau de mer, en fonction de la température. Ces données, tirées de la littérature, ont été homogénéisées pour correspondre à une valeur de pH de 8,4. Le logarithme des vitesses est représenté sur la Figure 1.7 en fonction de l'inverse de la température. Il est alors possible de déduire l'énergie d'activation  $E_a$  de la réaction de dissolution d'un verre basaltique, à savoir ici à 72,4 kJ/mol. Dans une eau ultrapure à pH neutre, Verney-Carron *et al.* (2011) estime l'énergie d'activation de la réaction d'hydrolyse à  $76,5 \pm 9,5$  kJ/mol.

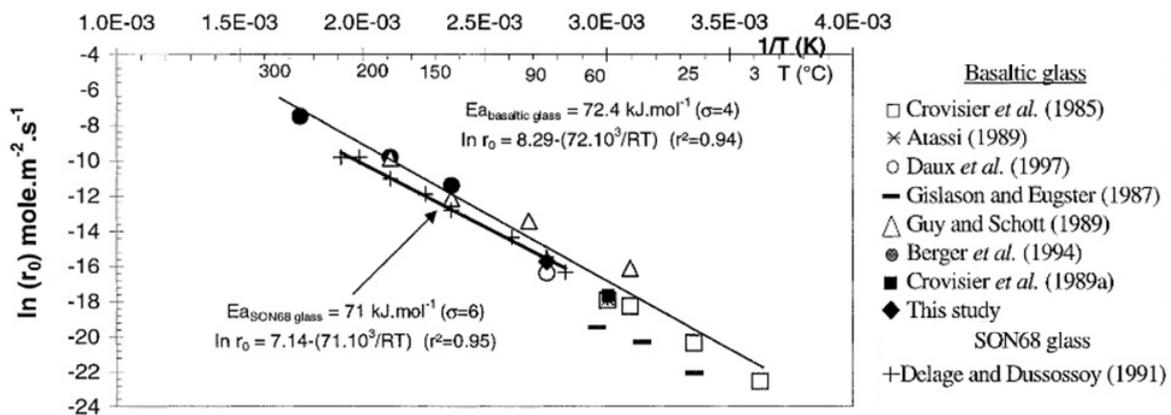


FIGURE 1.7: Vitesses d'hydrolyse de verres basaltiques et du verre nucléaire SON68 issues de plusieurs études expérimentales pratiquées à diverses température (d'après Techer *et al.* (2001a)).

On en vient à évoquer l'influence du pH sur la vitesse initiale de dissolution d'un verre basaltique. Guy et Schott (1989) ont expérimentalement démontré la dépendance vis-à-vis du pH de la réaction d'hydrolyse, comme montré sur la Figure 1.8.a.

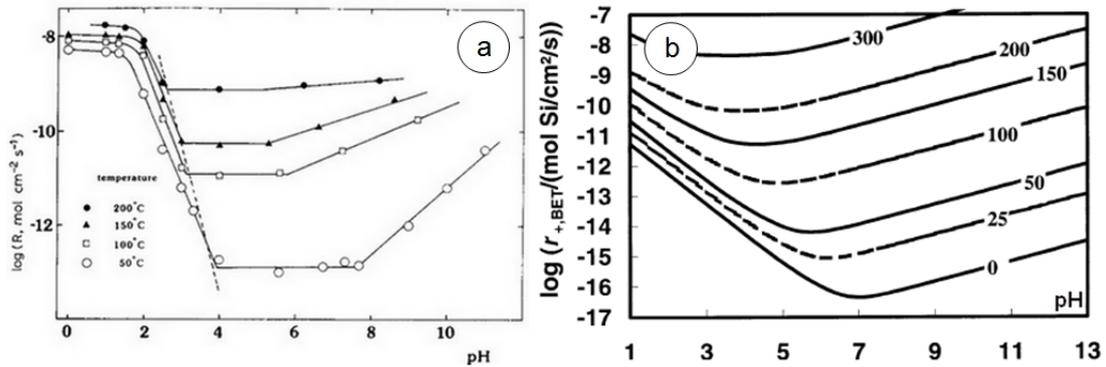


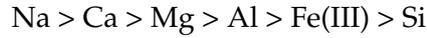
FIGURE 1.8: (a) Évolution des vitesses de dissolution d'un verre basaltique en fonction de la température et du pH (d'après Guy et Schott (1989)). (b) Vitesses de dissolution (normalisées à la surface BET du verre) d'un verre basaltique loin de l'équilibre, prédites pour des températures variant de 0 à 300°C et en fonction du pH. Les vitesses ont été calculées d'après l'équation (7), en utilisant respectivement les valeurs  $10^{5,6}$  mol de Si/cm<sup>2</sup>/s et 25,5 kJ/mol pour les termes  $A_A$  et  $E_a$  (figure tirée d'une étude de Gislason et Oelkers (2003)).

On note que la dépendance en pH est d'autant plus marquée que le pH est acide. Cette dépendance diminue avec l'augmentation de la température. Le domaine de pH pour lequel  $v_0$  est constante est d'autant plus large que la température est faible. Enfin, c'est à basse température et à pH neutre que les vitesses de dissolution calculées sont les plus faibles. Oelkers et Gislason (2001) et Gislason et Oelkers (2003), en recourant à la modélisation pour exprimer la dépendance entre vitesse initiale et pH/température, ont plus récemment abouti à des résultats similaires (Figure 1.8.b). Les vitesses initiales de dissolution ont été calculées d'après l'équation (8) :

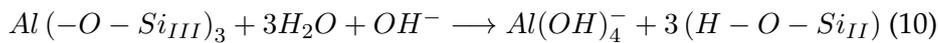
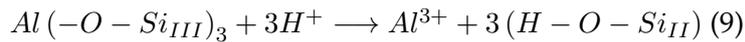
$$v_0 = A_A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \left(\frac{a_{\text{H}^+}^3}{a_{\text{Al}^{3+}}}\right)^{1/3} \quad (8)$$

où  $A_A$  est un terme pré-exponentiel,  $E_a$  est l'énergie d'activation de la réaction d'échange entre  $\text{Al}^{3+}$  et les espèces hydrogénées présentes en solution et  $a_{\text{Al}^{3+}}$  et  $a_{\text{H}^+}$  sont les activités aqueuses des cations  $\text{H}^+$  et  $\text{Al}^{3+}$  déterminées grâce au code de simulation EQ3/6. Cette expression fait apparaître la dépendance en pH et en température de la réaction d'hydrolyse, mais aussi le rôle joué par  $\text{Al}^{3+}$  en tant qu'espèce précurseur de la dissolution. En effet, l'approche d'Oelkers consiste à considérer la dissolution d'un verre aluminosilicaté comme une succession de réactions d'échanges d'ions, les énergies nécessaires à la rupture des liaisons au sein d'un réseau vitreux variant parfois de l'une à l'autre de plusieurs ordres de grandeur. Les constantes d'équilibre des réactions d'échanges impliquant des cations monovalents ou divalents, connus pour n'être connectés au réseau vitreux que par le biais de liaisons à caractères ioniques, sont ainsi suffisamment élevées pour que ces métaux soient complètement lixiviés en surface du verre. Au contraire, les constantes d'équilibre des réactions impliquant des cations trivalents formateurs, engagés dans des liaisons covalentes

avec les atomes d'oxygène du réseau (oxygènes *pontants*), sont plus faibles. Les cations du verre seraient donc préférentiellement échangés dans cet ordre :



L'étape contrôlant cinétiquement la dissolution est finalement la destruction des liaisons Si-O. Les tétraèdres de silice peuvent être connectés au réseau vitreux via un ( $\text{Si}_I$ ), deux ( $\text{Si}_{II}$ ) ou trois oxygènes ( $\text{Si}_{III}$ ) pontants. Les  $\text{Si}_I$  sont libérés le plus rapidement tandis  $\text{Si}_{II}$  et  $\text{Si}_{III}$  prédominent finalement en surface du verre. Oelkers et Gislason (2001) font l'hypothèse selon laquelle la dissolution est contrôlée par la concentration en  $\text{Si}_{II}$  à la surface du verre. Les principales sources de  $\text{Si}_{II}$  sont les atomes de silicium voisins des espèces trivalentes (l'aluminium dans le cas des verres basaltiques), dont le départ en solution est compensé par trois atomes d'hydrogène. Trois liaisons  $\text{Al}^{3+}\text{-O}$  sont ainsi remplacés par des liaisons  $\text{H}^+\text{-O}$ . Ceci conduit au détachement partiel de trois  $\text{Si}_{II}$ , comme schématisé par les équations (8) et (9), respectivement pour des pHs acides ou alcalins.



Oelkers et Gislason (2001) admettent finalement que les vitesses initiales de dissolution des verres basaltiques sont proportionnelles à la concentration, en surface du verre, en  $\text{Si}_{II}$  formés à la suite des échange entre les cations  $\text{Al}^{3+}$  et les espèces hydrogénées de la solution, ce qui nous éclaire quant à l'expression de la vitesse  $v_0$  donnée en (8).

Enfin, il existe peu d'études expérimentales, dans la littérature, traitant d'un possible effet de la solution (force ionique et composition chimique) sur les processus de dissolution des verres et en particulier des verres basaltiques. De plus, lorsque de telles études existent, elles sont parfois contradictoires. Verney-Carron (2008) explique ces dissemblances par la complexité des effets associés à ces paramètres. La composition du verre, notamment, peut influencer sur le gradient de concentration entre le verre et la solution et ainsi impacter sur les cinétiques de dissolution. Les rôles structuraux des éléments, parfois différents d'un verre à un autre, sont aussi à prendre en compte. Enfin, les conditions expérimentales et notamment le pH influent énormément sur les propriétés des éléments en solution. Le Tableau 1.7 fait un bref récapitulatif des effets de la chimie de la solution altérante sur la dissolution de verres basaltiques ou d'analogues nucléaires, pour des pH proches de la neutralité et des températures de 25 à 90°C.

Espèces	Auteurs	Impact sur la dissolution
"Sel" (NaCl), Na <sup>+</sup>	Gislason et Eugster (1987a); Godon <i>et al.</i> (1988); Guy et Schott (1989); Berger <i>et al.</i> (1994); Chave <i>et al.</i> (2007)	L'ajout de sels en solution (0,1 à 3M) a pour effet d'accélérer les vitesses initiales de dissolution de certains verres nucléaires. On relève peu ou pas d'effet sur les cinétiques de dissolution des verres basaltiques, pour des concentrations en sel de quelques mM à 0,05 M. Paradoxalement, l'utilisation de solutions altérantes saturées en sels entraîne la chute des vitesses d'interdiffusion. L'effet est toutefois d'autant moins marqué que le pH avoisine 4, il est donc faible pour des expériences d'altération pratiquées à pH neutre. Cette diminution des vitesses pourrait s'expliquer par une compétition entre les cations introduits et les protons en solution, dans les réactions d'échange d'ions.
Carbonates	Stockmann <i>et al.</i> (2011)	L'utilisation d'une solution d'altération supersaturée en NaHCO <sub>3</sub> n'a pas d'impact sur les vitesses de dissolution, on note toutefois la précipitation de carbonates de Ca.
Si, Al (formateurs)	Berger <i>et al.</i> (1994); Daux <i>et al.</i> (1997); Oelkers et Gislason (2001); Techer <i>et al.</i> (2001a); Luckscheiter et Nesovic (2004)	La réalisation d'expériences de dissolution dans des solutions enrichies en Si conduit à l'observation d'une chute des vitesses de dissolution. Cet effet est notamment très marqué pour des solutions enrichies en silicium. On attribue ce résultat à la saturation prématurée de la solution en acide orthosilicique (H <sub>4</sub> SiO <sub>4</sub> ). Techer <i>et al.</i> (2001a) définit même une loi cinétique permettant d'exprimer la dépendance de la vitesse de dissolution en [H <sub>4</sub> SiO <sub>4</sub> ]. Cependant l'activité d'H <sub>4</sub> SiO <sub>4</sub> en solution, seule, ne permet pas d'expliquer complètement la chute parfois importante des vitesses de dissolution, que l'on attribue aussi en partie à l'effet passivant d'une couche de silice condensée à la surface du verre. En présence d'une solution en équilibre avec une phase de silice amorphe, la dissolution devient contrôlée par les relâchements des autres formateurs de réseau (Al et Fe), peu solubles à pH neutre. Pour des solutions enrichies en Al ([AlCl <sub>3</sub> ] = 0,3 × 10 <sup>-3</sup> M), un effet sur la dissolution du verre ne peut être mesuré qu'à pH acide, la concentration en Al étant tamponnée, à pH neutre, par la précipitation d'oxyhydroxydes ou de produits secondaires silicatés.
Ca, Mg (modificateurs)	Thien <i>et al.</i> (2002)	On observe une chute des vitesses de dissolution en raison de l'incorporation du Mg et du Ca (introduits à 400 ppm après 1 mois d'altération) dans la palagonite-gel, qui favorise aussi la précipitation de smectite.
Sulfates	Flaathen <i>et al.</i> (2010)	Une accélération des vitesses de dissolution est observée, jusqu'à pH 4 seulement ([SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] = 0,1 M), cependant aucun effet n'est relevé à pH neutre. Cette accélération est probablement due à la complexation de l'Al du verre par les sulfates en solution. L'influence du pH s'explique par le fait qu'une telle réaction de complexation ne s'opère pas à pH 7.

Tableau 1.7: Impact de la présence de certaines espèces chimiques en solution sur les processus de dissolution de verres basaltiques (ou verres modèles).

▷ *Compétition entre réactions d'échange d'ions et d'hydrolyse* ◁

La dissolution d'un verre silicaté fait intervenir, on l'a dit, deux fronts réactionnels : le premier (*réactions d'échange d'ions*) se situe à l'interface verre sain/verre hydraté, le deuxième (*hydrolyse*) à l'interface entre verre hydraté/solution altérante. La coexistence de ces deux processus est régie par les cinétiques des réactions engagées. Ainsi, lorsque la vitesse d'hydrolyse est égale à la vitesse d'échange d'ions, c'est-à-dire lorsque ce mécanisme prend le pas sur les processus de diffusion, un état dit "stationnaire" est atteint et l'espace entre les deux fronts se stabilise. La dissolution devient congruente. Le passage du mode sélectif au mode congruent se fait pour une valeur critique du pH, voisine de 7 (Atassi, 1989) et l'atteinte de ce pH dépend elle même des conditions d'altération. Le temps d'établissement du régime stationnaire peut être extrapolé, en fonction de la vitesse initiale déterminée expérimentalement et du coefficient de diffusion caractérisant le verre, à l'aide d'abaques dont un exemple est donné sur la Figure 1.9.

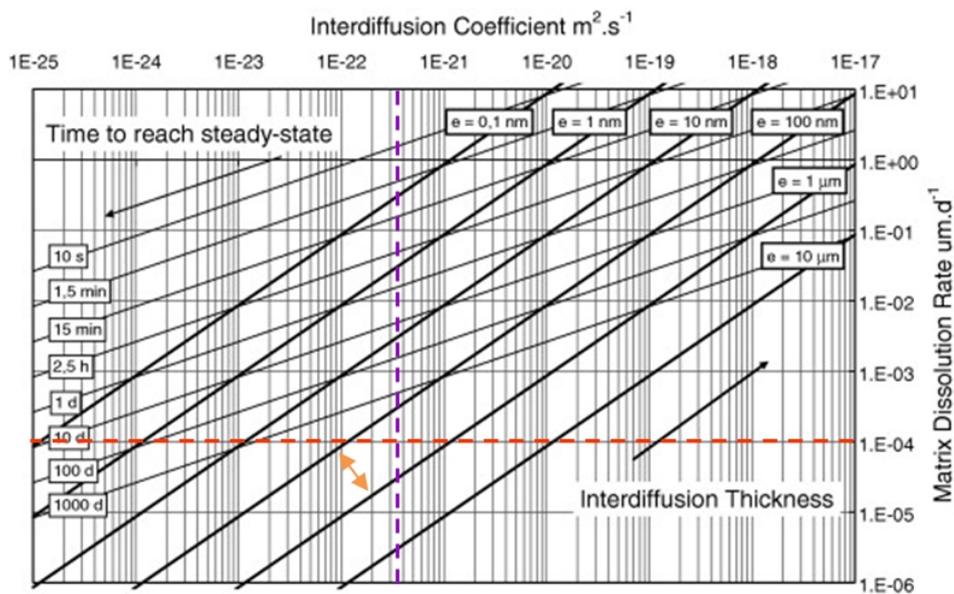


FIGURE 1.9: Temps d'atteinte de l'état stationnaire et épaisseur d'interdiffusion en fonction du coefficient de diffusion du cation échangé lors du processus d'interdiffusion et de la vitesse d'hydrolyse (Frugier *et al.*, 2006). Les tracés sur la figure guide la détermination du temps d'atteinte du régime stationnaire et de l'épaisseur d'interdiffusion pour un verre basaltique immergé à 25°C dans les conditions expérimentales utilisées par Gislason et Oelkers (2003).

Si, pour un verre basaltique immergé à 90°C dans une eau dont le pH est neutre ou alcalin, Crovisier *et al.* (1990) ou Guy et Schott (1989) observent que le régime stationnaire est atteint très rapidement (en quelques heures), les mécanismes d'interdiffusion et d'hydrolyse coexistent à plus long terme à température ambiante. En effet pour une vitesse estimée à  $10^{-4} \mu m/j$  (calculs faits d'après les données de Gislason et Oelkers (2003)) et un coefficient

de diffusion égal à  $2,6 \times 10^{-22}$  (d'après Parruzot (2014), cf. Tableau 1.6 présenté un peu plus loin dans le texte), la dissolution d'un verre basaltique à 25°C et pour un pH de 6,5 n'atteint l'état stationnaire qu'après 1000 jours d'altération. L'épaisseur d'interdiffusion serait dans ce cas comprise entre 100 nm et 1  $\mu\text{m}$  (Figure 1.9). On s'attend donc, dans nos expériences à court terme et en considérant comme valide un tel modèle de diffusion, à constater la dissolution incongruente des verres basaltiques étudiés. Ces calculs présupposent que, dans ces conditions, mécanismes d'interdiffusion et d'hydrolyse coexistent au cours des 1000 premiers jours d'altération.

---

| CHUTE DE VITESSE |

---

On trouve dans la littérature plusieurs modèles cinétiques empiriques de dissolution des verres basaltiques. Ces modèles sont généralement fondés sur une loi de vitesse de la forme :

$$v = v_0 \times \left(1 - \frac{Q}{K}\right) \quad (11)$$

où le ratio  $\frac{Q}{K}$  est un terme traduisant l'affinité de la réaction d'hydrolyse et le degré de saturation de la solution par rapport à l'espèce précurseur de la dissolution.  $v_0$  est la vitesse de dissolution loin de l'équilibre et dans ces conditions  $\frac{Q}{K} = 0$ . Ces modèles diffèrent finalement les uns des autres par l'identification de la ou des espèces précurseurs. Oelkers et Gislason (2001) et Gislason et Oelkers (2003), on l'a vu, considèrent l'extraction de l'aluminium structural du verre comme l'étape conduisant à la destruction du réseau silicaté. Berger *et al.* (1994) admettent que les espèces précurseurs à la surface d'un verre basaltique en contact avec une solution dont le pH est neutre sont en majorité les groupements  $\equiv SiOH$ ,  $= AlOH$  et  $= FeOH$ ,  $\equiv SiOH$  étant la plus réactive d'entre elles et aboutissent plutôt à une loi de vitesse de la forme :

$$v = k_i c_{\equiv SiOH}^* \times \left(1 - \left(\frac{Q}{K}\right)^{0,33}\right)_{Si.am.} \quad (12)$$

où  $Q$  est le produit d'activité ionique et  $K$  la constante de solubilité relatifs à la réaction d'hydrolyse de la silice amorphe ( $Si.am.$ ). Le coefficient 0,33 a été calculé d'après l'observation, par l'expérience, que les 2/3 du silicium relâché après hydrolyse étaient piégés dans le gel d'altération et que seulement 1/3 était finalement relâché en solution. L'approche de Daux *et al.* (1997) diffère dans le sens où ces auteurs considèrent que la réaction d'hydrolyse du verre hydraté et désalcalinisé formé en surface contrôle la dissolution initiale du matériau. Ce verre hydraté est considéré comme étant formé essentiellement des oxydes  $SiO_2$ ,  $Al_2O_3$  et  $Fe_2O_3$  (dans des proportions identiques au verre sain) et de molécules d'eau. Dans cette étude, la vitesse d'altération d'un verre basaltique s'exprime de la façon suivante :

$$v = k \times \left[1 - \frac{Q}{8,2 \times 10^{-5}}\right] \quad (13)$$

où  $k$  est un coefficient déterminé de manière empirique et  $Q$  est un terme dépendant des concentrations  $[H_4SiO_4^0]$ ,  $[Fe(OH)_3^0]$  et  $[Al(OH)_4^-]$  affectées de coefficients stœichiométriques directement liés à la composition du verre hydraté.

Notons aussi que la facilité à rompre les liaisons entre formateurs, éléments plus liés à la structure du verre, peut indirectement dépendre de l'étape d'échange d'ions. Dans le cas d'un verre aluminosilicaté ou borosilicaté, la Figure 1.3 montrait notamment que les cations modificateurs compensateurs de la charge des sites  $AlO_4^-$  étaient plus difficilement échangés. La protonation de ces sites facilite donc leur hydrolyse, l'échange entre protons et modificateurs/compensateurs pouvant difficilement se faire sans fragiliser aussi les liaisons covalentes reliant les formateurs. Ces échanges, en induisant le détachement partiel de certains cations métalliques trivalents formateurs de réseau, facilitent en conséquence la libération des atomes de silicium eux aussi partiellement détachés et l'hydrolyse globale du verre (Oelkers, 2001; Geneste *et al.*, 2006). Certaines études sur les verres borosilicatés soulignent d'ailleurs la corrélation entre le relâchement du bore (pourtant formateur) en solution et du sodium (compensateur de charge) (Chave *et al.*, 2007).

### 1.2.3.2 Cinétiques en milieux naturels

Il est difficile de "quantifier" la durée d'altération pour des échantillons basaltiques naturels. Le seul indice d'une cinétique d'altération pour les verres naturels est l'épaisseur de la couche d'altération. L'extrapolation d'une vitesse d'altération se fait en couplant épaisseur de la palagonite et âge du verre. On suppose en effet que le verre est soumis à un processus de dissolution depuis sa formation, le temps d'altération est donc considéré comme égal à l'âge de la roche volcanique. Ces considérations permettent d'estimer une vitesse d'altération en micromètres de palagonite par unité de temps. Cette approche se base sur de nombreuses suppositions et incertitudes, concernant notamment le temps de contact verre/solution (système ouvert ou fermé ? possible cimentation des verres par des produits secondaires, ou par sédimentation ?), l'épaisseur de la palagonite (est-elle représentative de l'épaisseur d'altération ?), la composition du fluide altérant... Il s'agit toutefois de l'unique façon d'appréhender les vitesses d'altérations des basaltes en milieu naturel et, d'après cette approche, celles-ci se situent entre  $10^{-4}$  et  $70 \mu\text{m}/1000$  ans (Techer *et al.*, 2001b). On note une forte dispersion dans ces valeurs, même pour un ensemble de roches provenant d'un même site, tant il est difficile de dater précisément un échantillon, ou de calculer une épaisseur moyenne de palagonite. On admet néanmoins comme plausible, en considérant une erreur de  $\pm 50\%$ , une vitesse inférieure à  $10 \mu\text{m}/1000$  ans. En grande partie parce que la vitesse d'altération tend à diminuer avec l'âge de l'échantillon (White et Brantley, 2003; Ma-

her *et al.*, 2004), les valeurs des vitesses d'altération des verres basaltiques en milieu naturel sont systématiquement inférieures (de plusieurs ordres de grandeur) aux vitesses déterminées expérimentalement loin de l'équilibre (Techer *et al.*, 2001b). Toutefois, la détermination très récente des vitesses résiduelles d'altération des verres basaltiques ( $0,28 \mu\text{m}/1000 \text{ ans}$ ,  $\Delta \approx 50 \%$ ) par Parruzot (2014) atteste d'un bon recouvrement entre ces valeurs expérimentales inédites et les estimations faites à partir de basaltes naturels jusqu'à  $10^5$  ans environ (Figure 1.10).

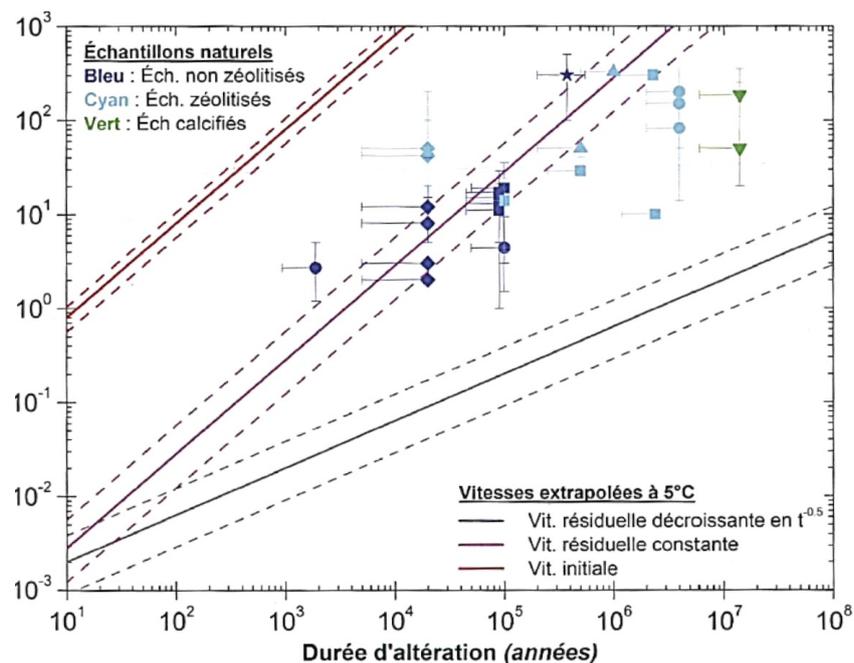


FIGURE 1.10: Extrapolation à long terme des vitesses d'altération des verres basaltiques et comparaison de ces vitesses à celles, données dans la littérature, de verres basaltiques naturels : ■ Crovisier (1989); ● Le Gal *et al.* (1999); ★ Jeong et Sohn (2011); ◆ Grambow *et al.* (1985); ▲ Pauly *et al.* (2011); ▼ Byers et Jercinovic (1987) (figure extraite de Parruzot (2014)).

Pour des basaltes plus altérés et zéolitisés, toutefois, la vitesse résiduelle constante calculée n'est plus représentative des vitesses moyennes, plus faibles, estimées à partir des mesures d'épaisseur d'altération de ces échantillons naturels.

### 1.2.3.3 Rôle des bactéries

La capacité des bactéries à solubiliser certains substrats minéraux/oxydes métalliques a été mise en évidence pour la première fois il y a plusieurs décennies (Duff *et al.*, 1962). Un certain nombre d'études a depuis appuyé l'hypothèse selon laquelle l'influence des bactéries sur la dissolution de ces phases se traduirait par une accélération des processus de dissolution (Ullman *et al.*, 1996; Rogers *et al.*, 1999; Kalinowski *et al.*, 2000; Bennett *et al.*, 2001; Hutchens *et al.*, 2003, 2006; Hutchens, 2009). A ce jour, on considère que l'interaction bactérie/substrat minéral peut être (1) *directe*, par un attachement des cellules bactériennes à la

surface, colonisant la surface et constituant des *biofilms* (Ehrlich, 2006), ou (2) *indirecte*, par le biais de réactions chimiques entre certains métabolites exsudés par les cellules et certains éléments spécifiques présents en surface des roches (Kalinowski *et al.*, 2000; Rogers et Bennett, 2004; Gorbushina, 2006), ou encore à travers des modifications locales des conditions de pH et redox à l'interface solide/bactéries (Thorseth *et al.*, 1992). On admet généralement que ces interactions sont motivées par un besoin en nutriments (Bennett *et al.*, 2001; Rogers et Bennett, 2004). Parmi les éléments majeurs ou *macronutriments* constituant les cellules bactériennes, on citera le carbone, l'oxygène, l'hydrogène, l'azote, le soufre, le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium et le fer. Le carbone est l'élément central du monde vivant, formant la matière organique et constituant une source d'énergie pour les bactéries hétérotrophes et l'oxygène est un accepteur final d'électrons pour les bactéries aérobies. Si l'on recoupe maintenant la liste de ces macronutriments avec les éléments constitutifs des matériaux silicatés et en particulier des verres basaltiques, on constate que ces derniers représentent une véritable source de nutriments pour les microorganismes. Le potassium est nécessaire à l'activité de plusieurs enzymes en particulier celles intervenant dans la synthèse protéique. L'ATP (*adénosine triphosphate*), qui est la principale source d'énergie cellulaire, doit former des complexes avec le magnésium pour être biologiquement active. Le magnésium joue aussi un rôle dans la stabilisation des composés polyphosphates, incluant ceux associés à la synthèse d'ADN ou d'ARN et est un cofacteur ("molécules d'assistance" aidant aux transformations biochimiques) de nombreuses enzymes. Le fer est également un cofacteur d'enzymes et de protéines, en particulier de celles associées au transport d'électrons. Il est aussi un constituant des cytochromes cellulaires, conférant à ces coenzymes de la chaîne respiratoire des propriétés oxydo-réductrices en changeant de valence. Enfin le calcium est notamment un constituant des endospores, structures se formant au sein du cytoplasme des bactéries lorsque les conditions dans l'environnement cellulaire sont défavorables à la croissance de ces dernières et leur permettant de survivre dans un état de vie ralenti. On citera aussi certains *micronutriments*, que l'on peut retrouver en concentrations mineures ou en traces dans les verres volcaniques, comme le manganèse, le nickel, le cuivre ou encore le zinc.

---

| IMPACT DIRECT |

---

Si des microorganismes peuvent être retrouvés à l'état libre et isolé dans l'environnement (état « planctonique »), la plupart des microorganismes est caractérisée par un mode de vie fixé sur un support, appelé état « sessile » (Filloux et Vallet, 2003). L'attachement à une surface va permettre aux bactéries de coloniser le milieu en résistant aux stress environnementaux. En effet, dans ces microenvironnements, les bactéries peuvent extraire nutriments

et énergie de la matrice que constitue le matériau sur lequel elles sont fixées et/ou des organismes environnants. Les mécanismes d'interaction entre membrane bactérienne et surface des roches environnantes ne sont à ce jour pas clairement élucidés. Les réactions s'opérant en surface (oxydation, réduction) pourraient néanmoins entraîner la déstabilisation structurale du réseau et favoriser sa dissolution (Newman, 2001; Uroz *et al.*, 2009). Il existe, dans la littérature, quelques études sur l'utilisation par les bactéries de certains minéraux ou oxydes comme accepteurs d'électrons et sur la réduction du Fe(III) structural sous l'effet de métabolismes bactériens : c'est le cas de la smectite en présence de *Shewanella putrefaciens*, *Geobacter metallireducens* ou *Pseudomonas putida* (Kostka *et al.*, 1999), de la goethite en présence de *Shewanella alga* (Roden et Zachara, 1996) ou encore de l'hématite en présence d'une souche hétérotrophe (Newman, 2001). De telles études n'existent pas pour les verres silicatés et notamment les verres basaltiques. Une étude de Munch et Ottow (1980) a simplement suggéré que ces processus de réduction du fer se dérouleraient plus favorablement en surface de matériaux amorphes plutôt que cristallins.

Les bactéries, dans leur état sessile, sont capables de développer des communautés organisées appelées « biofilms ». Un biofilm est une population bactérienne fixée à un support et enrobée d'une matrice d'exopolysaccharides (Flemming et Wingender, 2010). A titre d'exemple, pour la souche *Pseudomonas aeruginosa*, la matrice fibreuse est constituée d'un mélange de polysaccharides, de protéines et d'acides nucléiques. Au sein même d'un biofilm, on retrouve des gradients physico-chimiques (pH, potentiel d'oxydo-réduction) (Yu et Bishop, 2001). Les effets des communautés en biofilms sur la dissolution des roches peuvent finalement être liés à un impact direct comme indirect des bactéries : attachement à la surface, ou bien production très localisée de sidérophores/acides organiques, molécules organiques auxquelles on s'intéressera en détails dans le paragraphe suivant. Les biofilms sont souvent décrits dans la littérature comme accélérateurs de la dissolution (rétention d'eau, accumulation de composés pouvant renforcer des attaques locales) (Brehm *et al.*, 2005). Cependant, certains auteurs considèrent que l'adsorption d'exopolymères en surface inhibe à terme les échanges entre les roches et le fluide altérant, créant une barrière à la diffusion entre le verre et la solution et rendant toute dissolution congruente impossible (Ullman *et al.*, 1996; Aouad *et al.*, 2006). La sélectivité de la lixiviation découle alors de la vitesse à laquelle les éléments franchissent la barrière du biofilm et donc directement de l'épaisseur de ce biofilm et de sa densité (Ullman *et al.*, 1996). Enfin, certains auteurs n'observent qu'un effet négligeable des biofilms sur la dissolution (Stockmann *et al.*, 2011; Shirokova *et al.*, 2012).

---

| IMPACT INDIRECT |

---

Les bactéries, on l'a dit, peuvent créer des environnements à l'interface avec les roches pouvant représenter un potentiel nutritif. Outre l'augmentation du pH qui, comme montré dans la partie §1.2.3.1 pour les verres silicatés, peut localement exacerber la dissolution, la synthèse de molécules organiques dans l'environnement cellulaire et notamment de ligands tels que les acides organiques ou les sidérophores, présentant de très fortes affinités pour certains cations métalliques, peut affecter la réaction de dissolution de plusieurs façons : (1) en jouant sur la solubilité des roches en présence par la formation de complexes avec certains éléments structuraux, modifiant ainsi l'affinité de la réaction d'hydrolyse (2) en extrayant préférentiellement, en raison de ces réactions de complexation, certains cations du verre et ébranlant ainsi la structure du matériau.

### *Sidérophores*

Parmi le nombre impressionnant de substances susceptibles d'être synthétisées et relâchées en solution par les bactéries, les sidérophores sont des molécules particulièrement étudiées. Les sidérophores sont des ligands complexant très préférentiellement le Fe(III), synthétisés par des bactéries aérobies, généralement ferri-reductrices, cultivées dans des conditions notamment caractérisées par une très faible concentration en fer. Le fer est le quatrième élément le plus abondant de la croûte océanique (10,4% en masse d'oxyde) après l'oxygène, le silicium (50,5%) et l'aluminium (15,3%) (Hofmann, 1988). Pourtant, dans la plupart des systèmes aérobies à pH neutre, cet élément est très peu biodisponible (Schwertmann, 1991). On l'y trouve sous une forme soluble à des concentrations comprises entre  $10^{-9}$  et  $10^{-18}$  M tandis que le reste précipite sous forme d'oxydes (Braun et Killmann, 1999). Cet élément est, on l'a dit, pourtant nécessaire à de nombreux processus métaboliques bactériens tels que la synthèse d'acides nucléiques, le transport et le stockage de l'oxygène, la synthèse d'ADN et d'ARN ou encore le transfert d'électrons (Brandel *et al.*, 2012). La biosynthèse des sidérophores permet donc aux cellules d'accéder au fer présent dans le système et d'augmenter sa solubilité et sa biodisponibilité (Kraemer, 2004). Ce mécanisme bactérien est donc finalement contrôlé par l'abondance du fer dans le milieu (Meyer et Abdallah, 1978; Neilands, 1981; Hersman *et al.*, 2000). Expérimentalement, pour déclencher la production de sidérophores par les bactéries, on utilise des milieux dits minimaux, c'est-à-dire contenant une quantité micromolaire de fer. Une concentration en fer supérieure à  $10^{-6}$  M suffit pour que les bactéries parviennent à mobiliser cet élément depuis l'environnement cellulaire et à l'utiliser pour leur croissance (Liermann *et al.*, 2000). Une fois formés, les complexes  $Fe^{3+}$  sidérophore sont assimilés par les bactéries grâce à des affinités de structures importantes

avec la membrane des cellules (Schons *et al.*, 2005). Si le terme sidérophore, de par son étymologie, semble faire référence à la complexation du fer exclusivement (sidérophore vient d'ailleurs du grec *pherein* et *sideros* et signifie porter le fer), ces molécules sont pourtant capables de se lier à d'autres cations métalliques (Kalinowski *et al.*, 2000; Rogers et Bennett, 2004; Braud *et al.*, 2009). Cependant, la complexation du Fe(III) se fait de manière préférentielle. Les constantes de formation des complexes (1 :1) entre le Fe(III) et les sidérophores recensés à l'heure actuelle par la littérature s'étendent entre  $10^{23}$  et  $10^{52}$ .

La capacité à synthétiser des sidérophores en réponse à une limitation en fer est très répandue au sein de la communauté bactérienne aérobie. Par exemple, parmi les 302 souches de *Pseudomonas fluorescens* recensées, 297 produisent des sidérophores lorsqu'elles sont soumises à un stress nutritif (Cocozza et Ercolani, 1997). Les sidérophores sont généralement des molécules organiques de masse molaire faible, et de la diversité des souches susceptibles de les synthétiser découle une variété impressionnante de structures chimiques. On peut néanmoins les rassembler en fonction de la nature de certains groupements : les phénols/catéchols, les hydroxamates et, moins fréquents, les groupements  $\alpha$ -hydroxycarboxyliques (Kalinowski *et al.*, 2000; Faraldo-Gomez et Sansom, 2003) (Figure 1.11). Ces groupements sont ceux qui interviennent dans la formation des complexes métalliques.

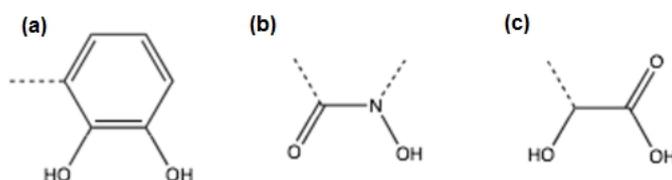


FIGURE 1.11: Les trois grandes catégories de groupements fonctionnels des sidérophores complexant le fer : (a) phénol/catéchol ; (b) hydroxamate ; (c)  $\alpha$ -hydroxycarboxyliques

La plupart des sidérophores sont des ligands hexadendates, c'est-à-dire qu'ils sont capables, en formant des complexes (1 :1), de satisfaire la coordinence préférentielle du Fe(III) (Kraemer, 2004). Les mécanismes de capture du fer par des sidérophores de type hydroxamate ou catéchol sont donnés en Figure 1.12.

Les groupements fonctionnels hydroxamates forment des complexes avec le Fe(III) en perdant un proton du groupement hydroxylamine (-NOH), se liant ainsi au fer par le biais des groupements carbonyle et hydroxylamine. Les groupements phénols/catéchols se lient quant à eux au Fe(III) par perte des deux protons des groupements alcools (-OH). On note que le complexe formé à partir d'un groupement hydroxamate est neutre, tandis qu'un complexe impliquant un motif catéchol est négativement chargé. Généralement, trois groupements hydroxamates (ou trois groupements catéchols) dans une même molécule permettent de fournir les six ligands oxygène nécessaires à la complexation. Toutefois, certains

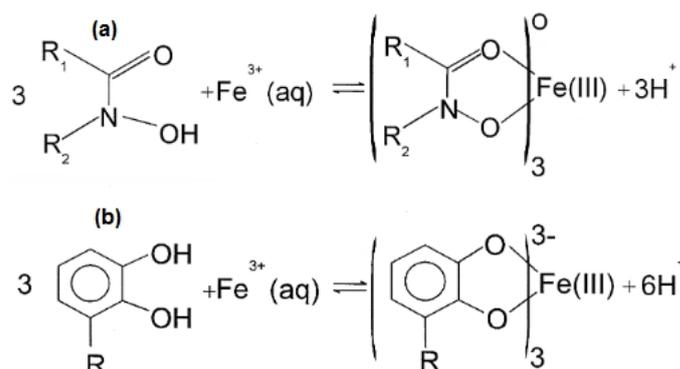


FIGURE 1.12: Mécanismes de complexation de Fe<sup>3+</sup> par un sidérophore de type hydroxamate (a) et catecholates (b) à pH neutre (d'après (Kalinowski *et al.*, 2000))

sidérophores portent à la fois des motifs catéchols et hydroxamates, notamment la pyoverdine, un sidérophore de *Pseudomonas aeruginosa* qui jouera un rôle prépondérant dans les travaux présentés dans ce manuscrit.

#### *Acides organiques*

Autres molécules aux propriétés complexantes, les acides organiques sont susceptibles d'être synthétisés par de nombreuses souches. Ce sont des espèces de faible masse moléculaire, contenant généralement des groupements carboxyles, hydroxyles ou amines. Certains d'entre eux (acides formique, acétique, lactique) sont libérés en tant que sous-produit de la fermentation du glucose, qui est une source d'énergie pour les bactéries (Neaman *et al.*, 2005). De plus, une variété d'acides organiques constitués d'une plus grande chaîne aliphatique (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) peut être synthétisée par certaines souches en réponse à une carence en fer dans le milieu. Les plus référencés dans la littérature sont notamment les acides fumarique, citrique, salicylique, malique, ou oxalique (Neaman *et al.*, 2005). Ces molécules organiques sont capables de former des complexes métalliques, dont la solubilité dépend de la structure du complexe en lui-même et la stabilité en solution est directement liée au pH. On les divise en deux catégories, à savoir les acides dits « faiblement complexants » (acides acétique, aspartique) et les acides « fortement complexants » (acides citrique, oxalique, salicylique, tannique) (Huang et Keller, 1972). Bien qu'élévées, les constantes de complexation du fer des acides les plus complexants restent tout de même largement inférieures à celles qui caractérisent les sidérophores (10<sup>8</sup> et 10<sup>12</sup> respectivement pour l'acide oxalique et l'acide citrique (Kalinowski *et al.*, 2000)).

Sidérophores et acides organiques forment donc très volontiers des complexes très stables et solubles. L'incertitude concerne finalement l'endroit exact où s'opère la complexation : en solution, après que le cation métallique ait été relâché de manière abiotique, ou

bien directement à la surface du verre, auquel cas un mécanisme de détachement du métal, une fois complexé, s'opère (Furrer et Stumm, 1986). Dans chacun des cas, l'interaction métal/ligand favorise la dissolution du matériau. Dans le premier scénario, la complexation des cations relâchés entraîne la diminution de leur activité en solution et l'augmentation de la solubilité apparente du matériau, encourageant la dissolution. La deuxième hypothèse est l'extraction privilégiée des cations métalliques structuraux directement depuis la surface, forçant la rupture de liaisons chimiques (*ioniques* ou *covalentes*) et favorisant la fragilisation du réseau silicaté. La plupart des études concernant les mécanismes de dissolution de phases minérales en présence de ligands s'accorde sur le deuxième scénario (Stillings *et al.*, 1998; Rosenberg et Maurice, 2003; Cama et Ganor, 2006; Daval *et al.*, 2010). Le rôle joué par les ligands comme moteurs de l'altération a été largement discuté pour de nombreuses phases minérales silicatées/oxydes (Bennett *et al.*, 1988; Welch et Ullman, 1993; Franklin *et al.*, 1994; Holmen et Casey, 1996; Drever et Stillings, 1997; Stillings *et al.*, 1998; Kalinowski *et al.*, 1999; Cheah *et al.*, 2003; Rosenberg et Maurice, 2003; Kraemer, 2004; Cama et Ganor, 2006; Ferreira et Bussetti, 2007; Rozalen *et al.*, 2013). Cependant, encore peu d'études concernent les verres basaltiques (Oelkers et Gislason, 2001; Wolff-Boenisch *et al.*, 2011). Le Tableau 1.8 entend fournir un échantillon des données contenues dans la littérature. Les concentrations en ligands utilisées dans les études de dissolution se situent entre quelques dizaines de  $\mu\text{M}$  et 10 mM. On observe, pour un même type de matériau, des vitesses initiales recoupant les mêmes ordres de grandeurs. En présence d'acide oxalique, l'effet de la présence de ligands est parfois peu significatif pour les gammes de concentrations choisies. Au contraire, les sidérophores accélèrent systématiquement la dissolution des roches étudiées. Cette accélération semble liée à la nature de la roche et augmenter avec la concentration en sidérophore. On observe enfin que les sidérophores, pourtant utilisés dans les expériences à des concentrations inférieures ou égales à celles des acides organiques, ont une influence plus notable sur les cinétiques de dissolution.

Il est très rare, dans la nature, de ne se trouver en présence que d'un seul type d'acide organique. La question d'une éventuelle additivité ou plutôt compétitivité entre les ligands n'est pas encore vraiment résolue. Cependant, on considère souvent que les ligands présents aux concentrations les plus importantes sont déterminants dans les mécanismes de dissolution (Huang et Keller, 1972). De la même façon, acides organiques et sidérophores sont généralement présents simultanément dans le système. Certains auteurs se sont d'ailleurs penchés sur la coexistence de ces deux types de molécules complexantes et sur les mécanismes de dissolution en résultant. Les résultats ne sont pas toujours corrélés aux constantes de complexation : au vu de l'affinité entre fer et sidérophores, on s'attend à la prédominance d'un mécanisme dont le moteur est l'interaction sidérophore-fer (Liermann *et al.*, 2000). Les sidérophores ont en effet une meilleure affinité avec le fer, cependant leur taille imposante

Référence	Substrat	pH	$v_0(Si)$ (g/m <sup>2</sup> /j)	$v_0(Fe)$ (g/m <sup>2</sup> /j)	[L]	$v_0^l(Si)$ (g/m <sup>2</sup> /j)	$v_0^l(Fe)$ (g/m <sup>2</sup> /j)	Effet sur les cinétiques
<b>Acide oxalique</b>								
Welch et Ullman (1992)	Feldspath	6,0	$5,3 \times 10^{-5}$	-	1,000	$3,9 \times 10^{-4}$	-	x7
Stillings <i>et al.</i> (1996)	Feldspath	7,5	$1,5 \times 10^{-5}$	-	8,000	$1,6 \times 10^{-5}$	-	≈
Cheah <i>et al.</i> (2003)	Goethite	5,0	-	-	8,000	-	$6,4 \times 10^{-6}$	-
Kraemer (2004)	Goethite	5,0	-	-	0,100	-	$1,3 \times 10^{-6}$	-
Akafia <i>et al.</i> (2014)	Goethite	6	-	$1,5 \times 10^{-5}$	1,000	-	$1,9 \times 10^{-5}$	x1,3
Rosenberg et Maurice (2003)	Kaolinite	5,5	$7,2 \times 10^{-1}$	-	1,000	$7,2 \times 10^{-1}$	-	≈
Rozalen <i>et al.</i> (2013)	Tremolite	7,5	$1,5 \times 10^{-6}$	-	1,500	$4,9 \times 10^{-6}$	-	x3
Oelkers et Gislason (2001)	Verre basaltique	3,2	$2,7 \times 10^{-3}$	-	0,100	$5,3 \times 10^{-3}$	-	x2
Oelkers et Gislason (2001)	Verre basaltique	3,2	$2,7 \times 10^{-3}$	-	1,000	$6,7 \times 10^{-3}$	-	x2,5
Wolff-Boenisch <i>et al.</i> (2011)	Verre basaltique	3,5 <sup>(b)</sup>	$1,2 \times 10^{-2}$	-	0,120	$1,3 \times 10^{-2}$	-	≈
<b>Sidérophores</b>								
Watteau et Berthelin (1994)	Goethite	3,0	-	$9,6 \times 10^{-8}$	0,126	-	$9,6 \times 10^{-7}$	x10
Cheah <i>et al.</i> (2003)	Goethite	5,0	-	-	0,080	-	$7,9 \times 10^{-7}$	-
Stewart <i>et al.</i> (2013)	Goethite	6,5	-	≈ 0	0,270	-	$8,1 \times 10^{-6}$	↗
Akafia <i>et al.</i> (2014)	Goethite	6	-	$1,5 \times 10^{-5}$	0,100	-	$2,9 \times 10^{-5}$	x2
Rosenberg et Maurice (2003)	Kaolinite	7,0	$2,4 \times 10^{-1}$	-	0,240	1,2	-	x5
Liermann <i>et al.</i> (2000)	Hornblende	6,5	-	$2,9 \times 10^{-6}$	0,024	-	$1,9 \times 10^{-5}$	x7
Liermann <i>et al.</i> (2000)	Hornblende	6,5	-	$2,9 \times 10^{-6}$	0,120	-	$3,4 \times 10^{-5}$	x12
Liermann <i>et al.</i> (2000)	Hornblende	6,5	-	$2,9 \times 10^{-6}$	0,240	-	$5,3 \times 10^{-5}$	x18
Hersman <i>et al.</i> (1995)	Hornblende	3,0	-	$9,2 \times 10^{-6}$	0,240	-	$1,4 \times 10^{-5}$	x2
Wolff-Boenisch <i>et al.</i> (2011)	Verre basaltique	3,6 <sup>(b)</sup>	$1,2 \times 10^{-2}$	-	0,120	$1,9 \times 10^{-2}$	-	x2

Tableau 1.8: Vitesses initiales de dissolution et vitesses de relâchement du fer de plusieurs substrats minéraux/oxydes de fer en eau pure/eau de mer<sup>(b)</sup> en absence ( $v_0$ ) et/ou présence ( $v_0^l$ ) de ligands organiques (L), entre 22 et 30°. Les ligands en question (ici l'acide oxalique et quelques sidérophores) ont été sélectionnés en lien avec les expériences qui seront décrites dans ce manuscrit. Les sidérophores utilisés dans ces études sont des sidérophores hydroxamates formant des complexes (1 :1) avec le fer.

génère d'importantes contraintes stériques aux mécanismes de complexation (Buss *et al.*, 2007). Dans une étude sur les mécanismes de dissolution de la goethite en présence de desferrioxamine-B et d'acide oxalique, Cheah *et al.* (2003) ont émis l'hypothèse d'une action combinée de ces deux ligands. Les sidérophores, en solution, seraient capables de complexer le Fe(III) à partir des complexes *oxalate-Fe<sup>3+</sup>* préalablement formés à la surface du verre puis relâchés dans le système. Une fois libérés de leur cation, les ions oxalates seraient à nouveau capables de se lier avec le fer à la surface du matériau.

### 1.3 Impact global de l'implication bactérienne et conclusions

On peut aujourd'hui trouver dans la littérature un nombre important d'études attestant de l'impact des bactéries sur les processus de dissolution des matériaux silicatés et sur le contrôle exercé par ces microorganismes sur les échanges entre la croûte océanique et l'eau de mer (Furnes et Staudigel, 1999; Banerjee et Muehlenbachs, 2003). Les processus de bioaltération des basaltes ont été particulièrement étudiés sur des échantillons naturels en s'appuyant sur les indices décrits dans la partie §1.2.2 et il a été observé que les processus biologiques pouvaient être présents voire dominants jusqu'à une profondeur de 300 mètres (température et disponibilité en oxygène pouvant soutenir une vie microbienne). Lorsque calculés en tant que pourcentages de l'altération globale, ces mécanismes de bioaltération représentent selon Furnes *et al.* (2001b) 20 à 90 % dans ces profondeurs, contre à peine 10 % à 500 mètres. L'implication des bactéries dans les mécanismes de dissolution des basaltes se traduisant généralement par une plus grande efficacité des échanges entre basaltes et eau de mer et par l'accélération des vitesses de dissolution, l'action des microorganismes se doit d'être prise en compte dans les bilans de masses à la surface de la Terre et dans les modèles géodynamiques terrestres. De plus, en gardant en tête que la composition des océans était *a priori* très différente avant l'émergence de la vie sur Terre, l'apparition de microorganismes peut avoir provoqué de nettes dissemblances dans les mécanismes de dissolution de la croûte océanique et les processus de biominéralisation ont pu affecter la minéralogie à la surface de la Terre (Furnes *et al.*, 2001b). Il apparaît donc que non seulement la profondeur de l'altération fournit une dimension verticale à l'étude de la biosphère océanique, mais que son âge permet aussi d'obtenir des informations sur l'apparition et l'évolution de cette biosphère au cours des temps géologiques. Toutefois, à l'heure actuelle, la participation de la biomasse océanique aux processus d'altération des basaltes n'a pas été quantifiée.

L'influence bactérienne sur les processus d'altération persiste néanmoins à être re-

mise en question. Si certaines études expérimentales démontrent que les vitesses de dissolution des verres basaltiques en présence de microorganismes peuvent être jusqu'à plusieurs ordres de grandeur plus importantes qu'en conditions abiotiques (Thorseth *et al.*, 1995a), l'activité microbienne dans des environnements naturels comme la croûte océanique est supposée moins agressive. A noter aussi que les processus bactériens dans les fonds océaniques sont généralement discontinus, interrompus par de nouvelles éruptions qui provoquent la stérilisation forcée des roches présentes. Il est ainsi possible que le processus de colonisation d'un même fragment de verre basaltique se répète plusieurs fois (Thorseth *et al.*, 1995b), limitant l'impact bactérien. Il est également important de considérer que dans de nombreux habitats, les bactéries sont exposées à des périodes de faste comme à des périodes de famine, durant lesquelles le métabolisme microbien est limité par un mauvais approvisionnement en énergie. S'enchaînent donc ainsi des épisodes d'active division cellulaire et d'autres, beaucoup moins prolifiques, où la croissance bactérienne est à un stade stationnaire et où les mécanismes de bioaltération ne sont pas dominants (Hutchens *et al.*, 2003). Sur la base de ces divers scénarios, des travaux mettant en doute la prédominance ou même une quelconque influence des microorganismes sur les mécanismes de dissolution des roches silicatées se sont multipliés. Certains auteurs vont même jusqu'à remettre en question l'origine biotique des textures supposées caractéristiques de la bioaltération. Ainsi dans une étude de Saebo (1998), des motifs d'altération compatibles, en termes de taille et de forme, avec les dimensions de nombreux microorganismes ont été observés lors d'expériences en environnement stérile. De la même façon, Crovisier *et al.* (1987) ne considèrent pas les structures tubulaires comme résultant d'une interaction verre/bactérie, mais les décrivent plutôt comme des micro-fissures d'origine abiotique. Alt et Mata (2000) concluent également que les microtubules observés sur des basaltes altérés de la croûte océanique Pacifique ne peuvent pas, étant donné leurs faibles diamètres, avoir été occupés par des cellules bactériennes avant la précipitation des phases de smectites. D'autres études, comme celle de Smith *et al.* (2000), attribuent la présence d'ADN ou de carbone au niveau des faciès d'altération à une contamination liée au processus d'échantillonnage. Cependant, il est important de garder à l'esprit, comme le soulignent Furnes *et al.* (2001b), que si la détection d'un seul indice (textural, chimique, biologique) ne prouve certes pas systématiquement l'interaction bactérie/minéral, l'observation d'une combinaison de ces indices implique de manière assez convaincante l'occurrence de mécanismes de bioaltération.

#### ★ Quels sont finalement les enjeux de ce travail ? ★

Les bilans phénoménologiques, mécanistiques, ou encore cinétiques dressés dans ce chapitre d'introduction mettent en évidence que l'influence bactérienne sur la dissolution des verres basaltiques océaniques, bien que massivement étudiée, est encore trop discutée/remise en question pour être quantifiée. La difficulté à distinguer les contributions abio-

tiques des contributions biologiques dans les mécanismes d'altération, mais aussi la complexité des systèmes impliquant des microorganismes sont les deux principaux freins à la compréhension des processus de bioaltération. Toutefois, ce chapitre fait aussi état d'une excellente connaissance des mécanismes et cinétiques de dissolution des verres aluminosilicatés et notamment des verres basaltiques en systèmes d'eau ultrapure, ainsi que des métabolismes bactériens. L'action des ligands organiques, notamment, a été étudiée pour de nombreux substrats minéraux/oxydes métalliques et la littérature recèle ainsi une impressionnante banque de données concernant les cinétiques de dissolution à court terme de ces substrats, en fonction du pH, de la composition des roches, des concentrations en ligands... Enfin, ce chapitre atteste d'excellents progrès concernant l'identification des souches peuplant les pourtours vitrifiés des basaltes océaniques. Ces éléments constituent autant de cartes en main pour entreprendre l'étude expérimentale des processus d'altération des verres basaltiques en présence de bactéries, ciblant les effets à court terme de la biosynthèse d'acides organiques et de sidérophores sur les mécanismes et cinétiques d'altération.



## Chapitre 2

# Echantillons et Méthodologies

Trois verres basaltiques ont été préparés. Les synthèses ont été réalisées au *Laboratoire Géomatériaux et Environnement*, dans des fours à hautes températures. Les premiers mois de cette thèse ont été dédiés à l'optimisation d'un protocole pour la préparation et la mise en forme de ces verres modèles, qui sera explicité dans ce chapitre. Ce protocole a ensuite été mis en œuvre autant de fois que nécessaire au cours de la thèse pour alimenter les expériences d'altération. Les résultats relatifs à la caractérisation des échantillons obtenus (caractère vitreux, rugosité, surface spécifique...) seront également présentés dans cette partie. Les protocoles suivis pour la réalisation des expériences d'altération seront ensuite détaillés. Enfin, l'analyse des solutions altérantes/surfaces altérées a nécessité la combinaison d'un certain nombre de techniques d'analyses, qui seront également décrites. Le *Laboratoire Géomatériaux et Environnement* ayant fait l'acquisition, au début de l'année 2013, d'une Spectrométrie Optique d'Émission à Plasma Induit (ICP-OES), notamment couplée à un système de prélèvement par ablation laser, j'ai eu l'opportunité de pouvoir participer activement à sa mise en fonctionnement, autant pour la partie analyse d'échantillons liquides que solides. Des détails sur les protocoles mis en place pour l'analyse des solution altérantes (calibration, longueurs d'onde étudiées, limites de détection, incertitudes analytiques) sont d'ailleurs donnés dans ce chapitre. La mise en place d'un protocole d'analyse de verres altérés par des techniques de spectrométrie couplées à un système d'ablation laser (plutôt inédites dans le domaine de l'altération), a fait l'objet d'une mobilité de deux mois à Londres (*University College London* et *Birkbeck School*) et d'un travail de méthodologie qui sera présenté dans le Chapitre 5.

Enfin, pour plus de clarté, un récapitulatif des expériences réalisées et des échantillons obtenus sera fait en fin de chapitre.

## 2.1 Echantillons basaltiques

Les trois verres préparés dans le cadre de cette thèse diffèrent principalement les uns des autres par leur teneur en Fe(II)/Fe(III). Selon les expériences, les échantillons ont été utilisés sous forme de poudres et/ou de monolithes. Les étapes de synthèse et de mise en forme ayant conduit à l'obtention de tels échantillons vont maintenant être détaillées.

### 2.1.1 Synthèse des verres

Les verres étudiés sont des verres synthétiques modèles de composition basaltique simplifiée, de type Mid-Ocean Ridge Basalt (Condie *et al.*, 1982). Pour des soucis de clarté, la dénomination des verres sera la suivante dans la suite du document : MORB2 représentera le verre contenant le maximum de fer sous sa forme Fe<sup>2+</sup>, MORB3 représentera le verre contenant majoritairement du fer sous sa forme Fe<sup>3+</sup> et HAPLO désignera le verre sans fer. Les compositions de ces échantillons sont données en pourcentages massiques d'oxydes dans le Tableau 2.1.

Oxydes	MORB2/3	HAPLO
SiO <sub>2</sub>	48,6	51,6
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	15,7	16,7
FeO	12,5	0
CaO	11,1	11,8
MgO	7,7	15,2
Na <sub>2</sub> O	2,7	2,9
TiO <sub>2</sub>	1,4	1,5
K <sub>2</sub> O	0,2	0,3

Tableau 2.1: Composition des verres synthétiques MORB2, MORB3 et HAPLO.

Les verres MORB2 et MORB3 ont une composition chimique identique et diffèrent uniquement par leur rapport  $\frac{Fe(II)}{Fe(III)}$ . Le verre HAPLO est proche en composition, à l'exception près que l'absence de fer est contrebalancée par une teneur en magnésium plus importante.

Des poudres d'oxydes (SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>) et de carbonates (CaCO<sub>3</sub>, MgCO<sub>3</sub>·3H<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ont été préalablement étuvées à 100°C pour se débarrasser de l'eau puis précautionneusement pesées, mélangées, broyées et introduites dans un creuset en platine. La synthèse s'est alors déroulée en plusieurs étapes, récapitulées sur la Figure 2.1.

Deux étapes, toutes deux pratiquées dans un four à moufle *Carbolite 1700*, sont néces-

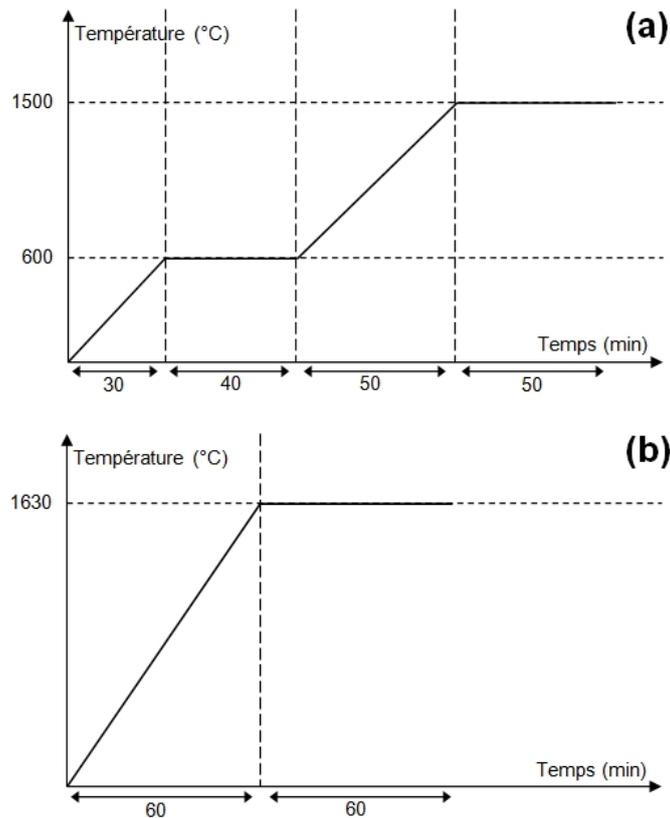


FIGURE 2.1: Programmes de synthèse des échantillons MORB3 et HAPLO : **(a)** première synthèse et trempe sous air ; **(b)** deuxième fusion sous air et coulée dans le moule en graphite.

saires à la préparation d'un échantillon de type MORB3 ou HAPLO. La première (Figure 2.1.a) inclut un palier 600°C, permettant l'amorçage de la décarbonatation du mélange de poudres. Après un deuxième palier à 1500°C pour homogénéiser le verre, une trempe est effectuée à température ambiante, en immergeant le fond du creuset dans l'eau. Le verre est ensuite récupéré, concassé en grains grossiers, puis réintroduit dans le creuset. Le verre est alors refondu, cette fois-ci à plus haute température (1630°C). Cette deuxième étape (Figure 2.1.b) est nécessaire pour diminuer la viscosité du verre en fusion, afin de rendre possible sa coulée, pratiquée très rapidement dans un moule en graphite cylindrique maintenu à température ambiante (Figure 2.2). Fondre le verre une deuxième fois est également un moyen de s'assurer d'une meilleure homogénéité du matériau.

Ces deux étapes successives conduisent finalement à l'obtention d'un échantillon cylindrique de 11 mm de diamètre et de hauteur variable (celle-ci dépend en effet de la réussite de l'étape de coulée et de la quantité de verre synthétisé) (Figure 2.3).

En ce qui concerne le verre MORB2, si la première phase de synthèse (décarbonatation, montée en température et première trempe) (Figure 2.4.a) reste la même et s'opère sous air, la

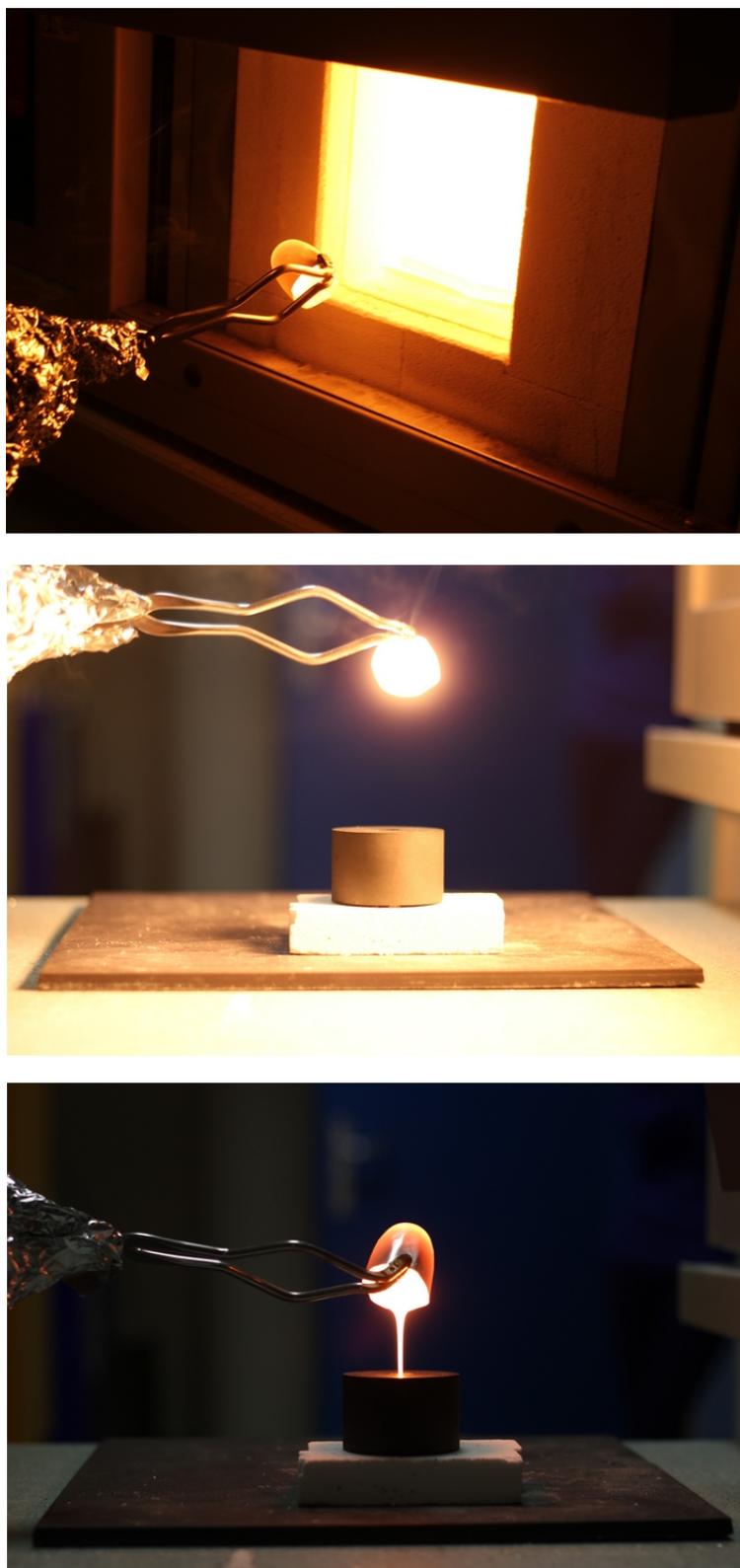


FIGURE 2.2: Étape de coulée du verre en fusion depuis la sortie du four jusqu'au remplissage du moule en graphite (crédits photographiques : Ana-Carolina AGNELLO).



FIGURE 2.3: Démoulage du verre (ici MORB3) après l'étape de coulée dans le moule en graphite (crédits photographiques : Stéphanie Rossano).

deuxième étape de préparation de ces échantillons a nécessité l'utilisation d'un four vertical, disponible au *Laboratoire Géomatériaux et Environnement* (Université Paris-Est) (Figure 2.5).

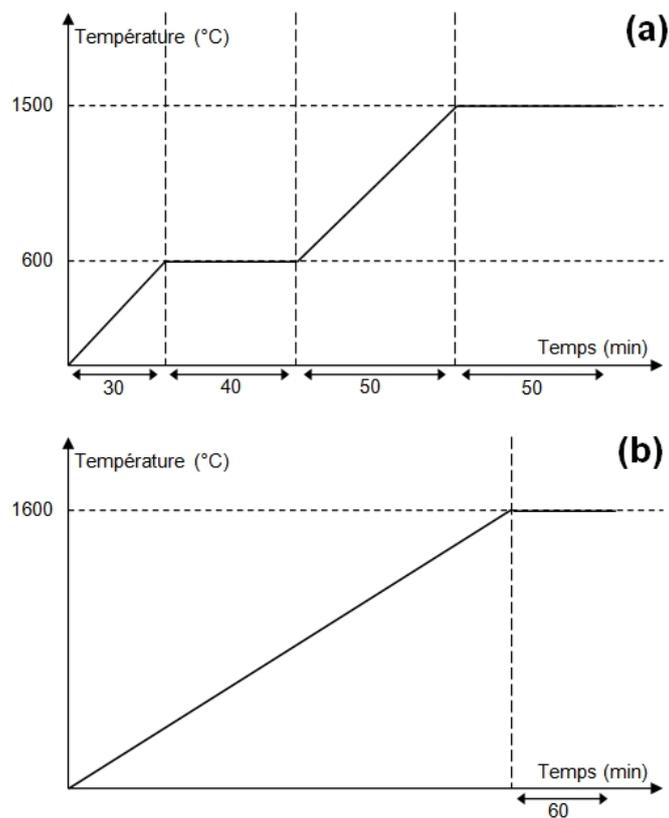


FIGURE 2.4: Programmes de synthèse d'un verre MORB2 : **(a)** première synthèse et trempe sous air ; **(b)** deuxième fusion sous atmosphère réductrice, avec une montée initiale en température de  $300^{\circ}\text{C}/\text{h}$ .

Ce four permet de réaliser des synthèses sous atmosphère réductrice ou oxydante. Il possède un système de trempe fixé au bas du four. Cette partie est refroidie par circulation



FIGURE 2.5: Four vertical du Laboratoire Géomatériaux et Environnement (Université Paris-Est Marne-la-Vallée) (crédits photographiques : Stéphanie Rossano).

d'eau et contient du sable gorgé d'eau. Lors de l'étape de trempe, le creuset tombe directement dans le sable qui amortit sa chute. Le creuset est alors immédiatement refroidi et de manière reproductible. Pour ces synthèses de verre sous atmosphère réductrice, le four a été relié à une arrivée de gaz. Le gaz insufflé dans le système est un mélange de dihydrogène (4,5% vol) et d'azote. Il faut garder à l'esprit, pour la suite, que l'utilisation de ce four vertical implique que la vitesse de montée en température ne peut pas être modulée et vaut  $300^{\circ}\text{C}/\text{h}$ , et que la deuxième étape de synthèse de ces verres n'est en conséquence pas identique à celle décrite pour la préparation des verres MORB3 et HAPLO (Figure 2.4.b). De plus, la trempe ne se faisant pas à l'extérieur du four, le creuset ne peut être manipulé et le verre ne peut donc pas être mis en forme dans le moule en graphite.

Une étape de recuit est absolument nécessaire pour la suite de la préparation des échantillons et notamment pour la mise en forme des monolithes. En effet elle permet d'éliminer les contraintes internes du matériau et facilite la mise en forme des échantillons par

découpe à la scie. La température de recuit a été estimée après analyse par Calorimétrie Différentielle à Balayage (DSC) de fragments d'échantillons MORB3 et HAPLO. Ces mesures ont été réalisées sur un calorimètre SETARAM labSys EVO-1600, au Synchrotron SOLEIL.

### { PRINCIPE } 2.1: Calorimétrie Différentielle à Balayage

La Calorimétrie Différentielle à Balayage (DSC) est une technique d'analyse thermique. Elle permet de mesurer des échanges de chaleur entre un échantillon et une référence (ici l'air) lors de traitements thermiques. Le sens de l'échange dépend de la nature endothermique ou exothermique du processus de transition. En mesurant ces flux de chaleur, cet appareil permet en outre d'accéder aux températures de transitions de phase de divers matériaux (température de transition vitreuse  $T_g$ , de fusion, de cristallisation) et à leurs enthalpies de réaction. Dans le cas du verre MORB3, on souhaite accéder à la température de transition vitreuse, qui est la température à laquelle on observe une augmentation brutale du coefficient de dilatation du verre. Le verre est à cet instant dans un état surfondu figé, thermodynamiquement métastable. La capacité de chaleur du matériau augmente, ceci se traduit sur le spectre DSC par un saut dans le sens *endothermique*. On peut alors déterminer  $T_g$  par la méthode des tangentes.

Les thermogrammes DSC obtenues pour les verres MORB3 et HAPLO sont donnés sur les Figures 2.6 et 2.7. La température de transition vitreuse du verre MORB2 n'a pas été mesurée.

Les températures de transition vitreuse des verres MORB3 et HAPLO sont respectivement égales à 676 et 733°C. Au vu de ces valeurs, une température de recuit commune aux trois compositions synthétisées a été choisie strictement inférieure à ces valeurs de température de transition vitreuse et a été fixée à 600°C. Dans le cas du verre MORB2, le recuit a été effectué sous atmosphère réductrice, à 600°C également.

## 2.1.2 Mise en forme des échantillons

### 2.1.2.1 Monolithes

Les cylindres recuits de verres MORB3 et HAPLO ont été débités en utilisant une scie diamantée *Buehler*. Des pastilles identiques de 11 mm de diamètre et 0,5 mm d'épaisseur ont été obtenues (Figures 2.8 et 2.9).

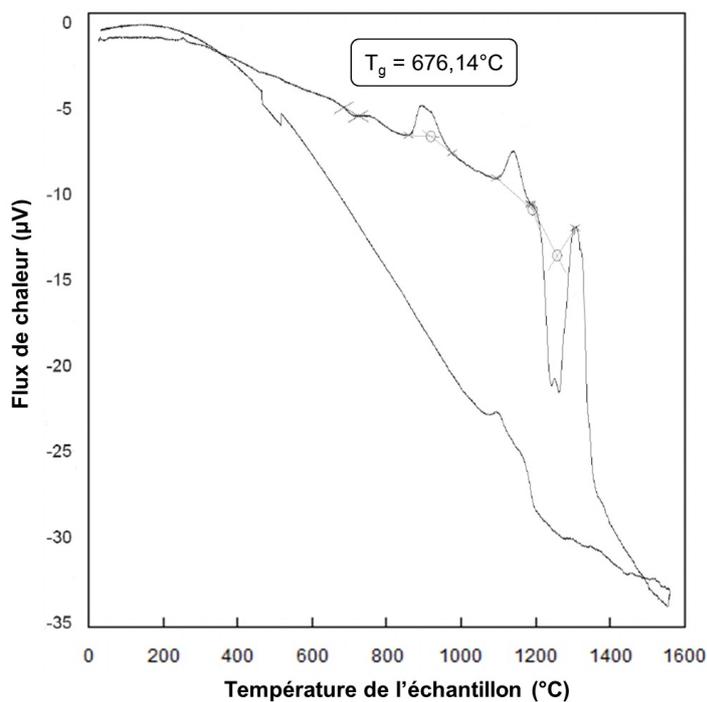


FIGURE 2.6: Thermogramme DSC d'un échantillon de verre MORB3 (30 - 1550°C, 10°C/min, mesure sous un flux d'air reconstitué).

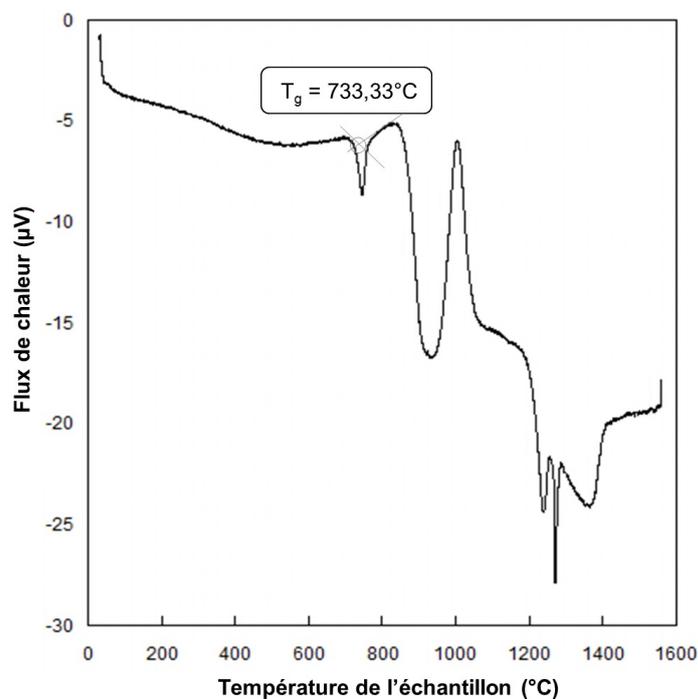


FIGURE 2.7: Thermogramme DSC d'un échantillon de verre HAPLO (30 - 1550°C, 10°C/min, mesure sous un flux d'air reconstitué).

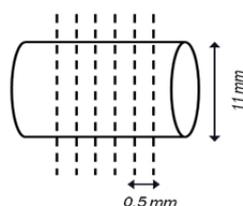


FIGURE 2.8: Lignes de coupe des échantillons

### 2.1.2.2 Poudres

En vue des expériences d'altération sur poudres, certains cylindres ont été réservés pour être manuellement broyés dans un mortier en agate. Les poudres obtenues ont été tamisées et seule la fraction de particules dont la granulométrie était comprise entre 100 et 200  $\mu\text{m}$  a été conservée. Afin d'éliminer les fines particules encore agglomérées à la surface des grains passés au tamis, les poudres ont été soumises à un lavage dans l'acétone. D'après la loi de Stokes, deux particules de tailles différentes en suspension dans un fluide mettront des temps différents à tomber au fond d'un récipient. L'application de ce principe permet notamment la séparation des poudres de granulométrie comprise entre 100 et 200  $\mu\text{m}$  (sédimentant plus rapidement au fond du récipient) de celles, plus fines, éliminées en se débarrassant du surnageant (Verney-Carron, 2008). La Figure 2.9 donne un aperçu des monolithes et des poudres obtenues.

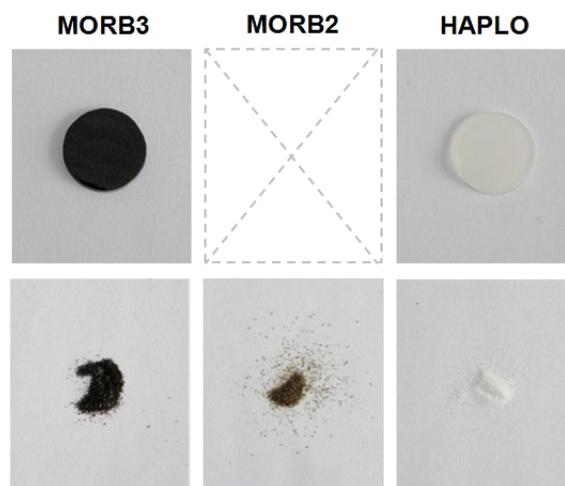


FIGURE 2.9: Poudres et/ou monolithes de verres MORB3, MORB2 et HAPLO.

On notera que les différences en termes de teneurs en Fe(II)/Fe(III) des trois verres entraînent des modulations de la couleur des échantillons : le verre HAPLO est incolore, tandis que les verres MORB sont très foncés, le verre MORB2 étant caractérisé par une teinte verte que l'on n'observe pas pour le verre MORB3.

## 2.1.3 Caractérisation des solides préparés

### 2.1.3.1 Contrôle des compositions

La composition des échantillons HAPLO, MORB2 et MORB3 a été contrôlée par analyse à la microsonde électronique. Ces analyses ont été réalisées au service de microanalyse de *Camparis* (Paris). L'appareil utilisé est une microsonde *Cameca SX Five*. Pour toutes les analyses, le voltage est de 15 kV et l'intensité de 4 nA. Les échantillons ont au préalable été inclus dans une résine (HARDCLEAR H59) puis, une fois la résine polymérisée, polis sur des disques de carbure de silicium à grains fixes (180 à 4000 fils/cm<sup>2</sup>).

#### { PRINCIPE } 2.2: Microsonde Electronique

La Microsonde électronique est une technique d'analyse quantitative, qui utilise la détection de photons X, émis lorsque le matériau à analyser est heurté par un faisceau d'électrons. Lors du bombardement, certains électrons cèdent une partie de leur énergie cinétique aux atomes, provoquant l'éjection d'un électron de leur structure électronique. En conséquence, un électron d'une couche périphérique va descendre vers une couche d'énergie plus faible. Ce processus entraîne l'émission d'un photon. Du fait de l'énergie de transition, ce photon appartient au domaine des rayons X et son énergie et sa longueur d'onde sont caractéristiques de l'atome émetteur. L'identification des radiations émises par l'échantillon-cible est obtenue en utilisant les propriétés de diffraction sélective des rayons X par un cristal monochromateur. Un compteur proportionnel à flux gazeux mesure alors l'intensité du rayonnement, rendant possible une analyse quantitative des éléments sondés.

Pour chaque échantillon, dix mesures ont été effectuées. Les concentrations mesurées, en pourcentages d'oxydes, ainsi que la dispersion pour chaque série de dix mesures (*évaluation de l'homogénéité des verres synthétisés*) et l'erreur relative aux concentration attendues (*évaluation du protocole de synthèse*), sont reportées dans le Tableau 2.2.

A l'exception du magnésium et potassium, pour lesquels on note des écarts aux valeurs attendues élevés, les compositions théoriques données en début de chapitre sont proches des résultats des analyses à la microsonde (bonne reproductibilité et erreurs < 10%). On expliquera les écarts observés pour le potassium et le magnésium par le fait que (1) le potassium est présent en faibles quantités dans les verres préparés et qu'il s'agit d'un élément volatile donc plus difficile à mesurer et que (2) le magnésium est initialement introduit sous la forme d'une poudre carbonatée trihydratée, certes préalablement séchée à l'étuve, mais pour laquelle la présence d'H<sub>2</sub>O résiduelle peut légèrement fausser les calculs de masse à introduire dans le creuset. Etant donné que, pour chaque composition de verre, les analyses

	HAPLO		MORB2		MORB3	
	<i>Mesure</i>	<i>Erreur</i>	<i>Mesure</i>	<i>Erreur</i>	<i>Mesure</i>	<i>Erreur</i>
SiO <sub>2</sub>	48,9 ± 0,4	5,2	47,0 ± 0,8	3,2	46,9 ± 0,6	3,5
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	17,2 ± 0,3	6,1	15,9 ± 0,3	1,5	15,8 ± 0,1	0,7
FeO	-	-	12,5 ± 0,5	0,3	12,9 ± 0,5	2,1
CaO	11,8 ± 0,1	0,0	10,9 ± 0,2	1,5	10,8 ± 0,1	0,7
MgO	17,7 ± 0,1	19,7	8,7 ± 0,2	12,9	8,9 ± 0,2	16,1
Na <sub>2</sub> O	2,6 ± 0,7	7,6	2,7 ± 0,1	0,1	2,7 ± 0,1	0,9
TiO <sub>2</sub>	1,6 ± 0,3	4,0	1,3 ± 0,2	6,2	1,4 ± 0,1	1,0
K <sub>2</sub> O	0,2 ± 0,0	36,7	0,3 ± 0,0	29,9	0,2 ± 0,0	13,9
<b>TOTAL</b>	100		99,3		99,6	

Tableau 2.2: Compositions (en % d'oxydes) des verres HAPLO, MORB2 et MORB3, mesurées par analyse de ces derniers à la microsonde électronique. Les écarts-types calculés attestent de la dispersion des 10 mesures réalisées pour chaque échantillon. Les erreurs données (en %) représentent l'écart aux concentrations théoriques attendues dans ces verres.

à la microsonde n'ont pu être pratiquées que sur un seul échantillon (au regard du grand nombre de synthèses réalisées pour toutes les expériences d'altération), on considèrera plutôt dans la suite du manuscrit les compositions nominales données dans le Tableau 2.1.

### 2.1.3.2 Évaluation du caractère amorphe après la trempe

Le caractère vitreux des trois types d'échantillons synthétisés a été contrôlé par Diffraction des Rayons X. Le *Laboratoire Géomatériaux et Environnement* dispose d'un diffractomètre *D8 Advance* équipé d'une anode de cuivre et d'un détecteur *SolX* résolu en énergie. Cet appareil permet d'étudier des échantillons polycristallins sous forme de poudre et fonctionne à une tension de 40 kV et une intensité de 40 mA. La discrimination en énergie du détecteur permet de filtrer la raie  $K\beta$  ainsi que la fluorescence provenant de certains échantillons. L'acquisition a été effectuée entre 10 et 90° ( $2\theta$ ), avec un pas de 0,01° et 11 secondes par pas.

**{ PRINCIPE } 2.3: Diffraction des Rayons X**

Les cristaux ont la particularité d'être constitués de plans atomiques équidistants les uns des autres. La rencontre entre un faisceau de rayons X et un solide cristallin provoque ainsi que la dispersion du faisceau lumineux dans des directions spécifiques. La Diffraction des Rayons X (DRX) est une technique basée sur l'application de la loi de Bragg, qui relie les distances interréticulaires  $d$  entre les plans de ces cristaux à l'angle de diffraction (angle d'incidence du faisceau de rayons X) selon la relation :

$$n\lambda = 2d \times \sin\Theta$$

avec  $n$  l'ordre de diffraction et  $\lambda$  la longueur d'onde des rayons X incidents. A partir de la mesure des angles et de l'intensité des rayons réfractés, on obtient une image tridimensionnelle de la densité électronique dans le matériau fournissant des informations sur la position moyenne des atomes, leurs liaisons chimiques et ainsi des phases cristallines en présence. Dans le cas d'un verre, ne possédant pas d'ordre structural à proprement parler, cette technique est généralement employée pour vérifier l'absence de cristaux, qui auraient pu se former lors de l'étape de trempe.

Les diffractogrammes enregistrés (donnés sur la Figure 6.3 en Annexe), témoignent bien de l'absence de cristaux et du caractère vitreux des échantillons synthétisés.

**2.1.3.3 Aspect de la surface**

Les échantillons préparés ont été observés par Microscopie Electronique à Balayage (MEB). L'équipement utilisé est un microscope *Zeiss Ultra55* possédant une source électronique de type *FEG-Schottky* : canon à émission de champ (cathode chaude) et équipé de la colonne électronique Ultra Haute Résolution *Gemini*, boostée pour l'amélioration des performances à basse tension. Il est couplé à un microanalyseur par spectrométrie de rayons X à dispersion d'énergie (EDS) *QUANTAX* pour l'analyse élémentaire X avec logiciel *Esprit*, *Hypermap* (cartographie X, profils...). Ces analyses ont été réalisées à l'*Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie*, à l'*Université Pierre et Marie Curie* (Paris) en collaboration avec François Guyot.

### { PRINCIPE } 2.4: Microscopie Électronique à Balayage

La Microscopie Électronique à Balayage est avant tout un outil d'observation. Cette technique est en effet basée sur l'interaction entre un faisceau accéléré (1 à 40 kV) d'électrons et la surface d'un échantillon et sur la reconstitution, par détection du signal produit par les électrons ayant interagi avec la matière, de la surface. Il existe deux modes de détection : 1/ la détection d'électrons secondaires (visualisation des contrastes topographiques) 2/ la détection d'électrons rétrodiffusés (visualisation des contrastes chimiques). Il est possible de coupler cette technique d'observation de surface à la spectrométrie de rayons X à dispersion d'énergie, qui permet d'avoir une analyse semi-quantitative de la composition des zones ciblées, ou de réaliser des cartographies de la composition élémentaire de ces zones.

Quelques images, obtenues à divers grossissements, des monolithes et des poudres (*avant expérience*) sont données sur la Figure 2.10.

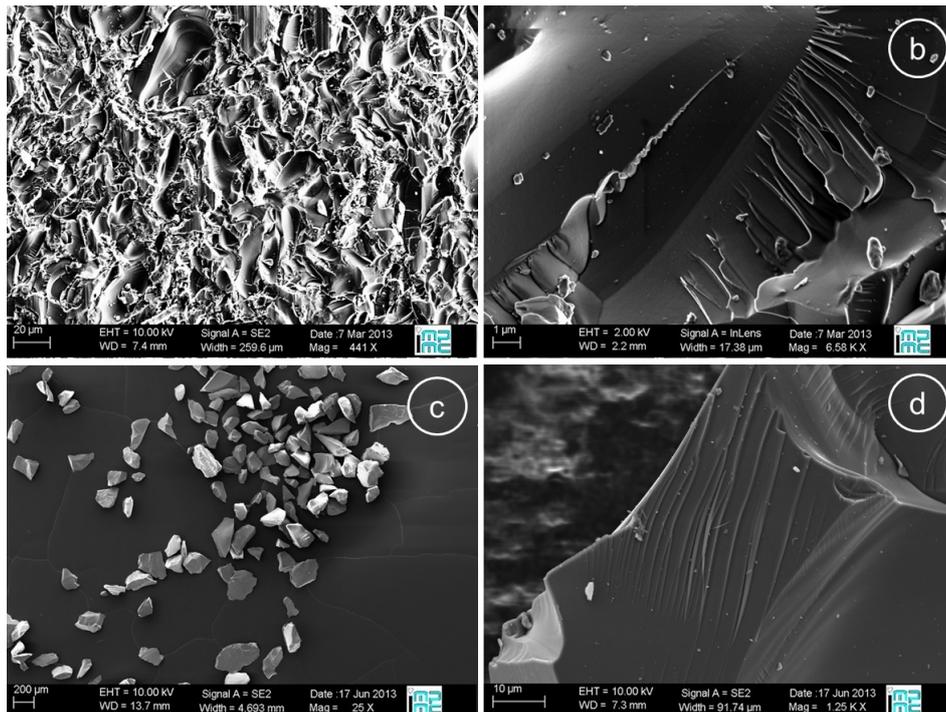


FIGURE 2.10: Images obtenues en mode de détection d'électrons secondaires (a) à faible grossissement (x441) de la surface non-altérée d'un échantillon monolithique MORB3 (b) à plus fort grossissement (x6580), de cette même surface, (c) à faible grossissement (x25) d'une poudre de verre MORB3 non-altérée et (d) d'un grain de poudre de verre MORB3 non-altérée (x1250).

L'observation des monolithes a dévoilé, à faible grossissement, une surface fortement accidentée, conséquence de la découpe à la scie diamantée (Figure 2.10.a). En s'affranchissant de cette vue d'ensemble très irrégulière de la surface, les images enregistrées font

apparaître une surface très lisse, plissée par endroits (Figure 2.10.b). Ces anomalies résultent probablement de l'étape de coulée. L'observation des poudres a permis de vérifier la bonne homogénéité, en terme de granulométrie, de la fraction récupérée pour être soumise aux expériences d'altération (Figure 2.10.c). A plus fort grandissement, on observe par endroits des reliefs en marches à la surface des grains, conséquences de l'étape de broyage (Figure 2.10.d).

#### 2.1.3.4 Environnement structural du fer

La Spectroscopie d'Absorption des rayons X (XAS) et en particulier le XANES (*X-ray Absorption Near Edge Structure*) au seuil *K* du fer a été utilisée pour la caractérisation des environnements structuraux de cet élément. Ces mesures ont été réalisées sur la ligne *LUCIA*, au *Synchrotron Soleil* (Gif-sur-Yvette).

##### { PRINCIPE } 2.5: Spectroscopie d'Absorption des Rayons X

La Spectroscopie d'Absorption des Rayons X est une technique utilisée pour déterminer la géométrie et/ou la structure électronique d'un élément au sein d'un échantillon. Elle utilise généralement le rayonnement synchrotron et si on l'emploie le plus souvent pour la caractérisation de phases solides, elle peut, selon les équipements, être appliquée à l'analyse de phases liquides, ou gazeuses.

Lorsque le rayonnement X correspond à l'énergie de transition d'un électron depuis un niveau profond de la structure électronique vers un niveau du continuum (0,1-100 keV), on observe un seuil d'absorption et cet électron est éjecté. Le nom du seuil d'absorption dépend du nombre quantique principal *n* de cet électron : les nombres quantiques 1, 2 et 3 correspondent respectivement aux seuils d'absorption *K*, *L* et *M*. A titre d'exemple, l'excitation d'un électron d'une couche 1s se fait à un seuil *K*, tandis que l'excitation d'électrons garnissant les niveaux 2s ou 2p se produit à un seuil *L*. Ces énergies étant spécifiques d'un atome donné, la mesure est sélective : on peut ainsi explorer l'environnement structural d'un atome précis (le fer dans ce travail).

Il existe diverses méthodes pour mesurer l'absorption. La méthode directe consiste à mesurer le flux transmis à travers l'échantillon. Pour les énergies plus faibles, on mesure la fluorescence ou le courant généré par les électrons éjectés. Le spectre d'absorption obtenu peut alors être divisé en trois parties : (1) la région du pré-seuil, (2) le seuil et (3) l'après seuil. L'étude des zones se situant à proximité du seuil (de quelques eV en dessous du seuil d'absorption à environ 50 eV au delà) se nomme le XANES (*X-ray Absorption Near Edge Structure*). Elle permet notamment de renseigner sur la coordinence de l'élément en question, ou sur son degré d'oxydation.

En parallèle des échantillons modèles HAPLO, MORB2 et MORB3, trois références ont été soumises à analyse : il s'agit de verres identiques aux verres MORB2 et MORB3 de

par leurs compositions, mais différents de par l'atmosphère de synthèse utilisée. MORB H<sub>2</sub> a, comme son nom l'indique, été synthétisé en présence de dihydrogène, le verre obtenu est donc très réduit. MORB O<sub>2</sub> est issu d'une synthèse en présence de dioxygène et est au contraire presque complètement oxydé. Enfin, MORB N<sub>2</sub> a été préparé sous atmosphère azotée et contient un mélange de Fe(II) et de Fe(III). Les teneurs respectives en Fe(II) et Fe(III) de ces trois échantillons ont été déterminées par spectrométrie Mössbauer (*communication personnelle de Stéphanie Rossano*) et sont consignées dans le Tableau 2.3.

	MORB H <sub>2</sub>	MORB O <sub>2</sub>	MORB N <sub>2</sub>
Fe(II)	90%	30%	27%
Fe(III)	10%	70%	73%

Tableau 2.3: Teneurs respectives en Fe(II) et Fe(III) (en % atomique) des échantillons MORB2 et MORB3, déduites de la confrontation des spectres XAS obtenus aux spectres des échantillons de référence.

Les spectres XANES ont été enregistrés en mode FY (*Fluorescence Yield*) avec un détecteur de fluorescence *Bruker SDD (Silicon Drift Diode)*. Au seuil K du fer, les spectres ont été enregistrés entre 7050 et 7170 eV et avec des pas différents d'un domaine d'énergie à un autre : (1) 2 eV entre 7050 et 7106, (2) 0,1 eV entre 7106 et 7120, (3) 0,2 eV entre 7120 et 7150 et (4) 0,5 eV entre 7150 et 7170. Pour minimiser les effets d'autoabsorption, la configuration d'acquisition a consisté à orienter la surface des échantillons perpendiculairement au faisceau incident et à détecter la fluorescence à 90° de ce faisceau incident.

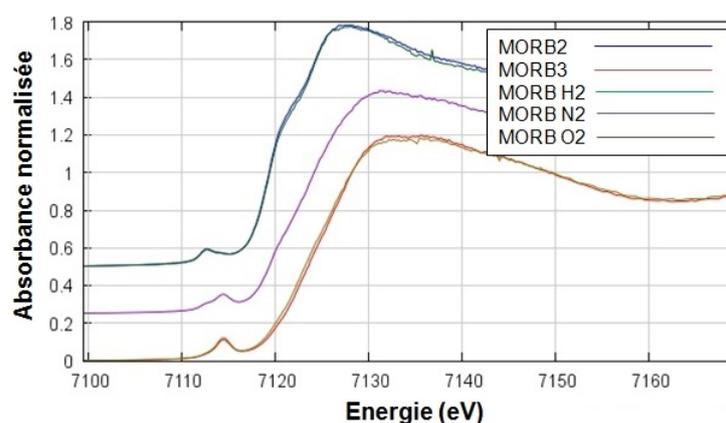


FIGURE 2.11: Spectres d'absorption au seuil K du Fe des échantillons HAPLO, MORB2, MORB3, MORB H<sub>2</sub>, MORB O<sub>2</sub> et MORB N<sub>2</sub>. Les spectres bruts obtenus ont été retraités à l'aide du logiciel Athena.

La confrontation des spectres des échantillons de référence et des verres modèles MORB2 et MORB3 et notamment la superposition parfaite des spectres MORB2 et MORB H<sub>2</sub> et des spectres MORB3 et MORB O<sub>2</sub>, a permis d'accéder aux teneurs (% atm) en Fe(II) et Fe(III) de ces échantillons. Celles-ci ont donc été, dans le reste du manuscrit, considérés

comme respectivement égales aux teneurs en Fe(II)/Fe(III) des verres MORB H<sub>2</sub> et MORB O<sub>2</sub> données dans le Tableau 2.3.

### 2.1.3.5 Surfaces d'altération

Les surfaces réactives des verres soumis à altération ont été calculées. Pour un monolithe, on admet que cette surface est équivalente à la surface géométrique de l'échantillon. Pour un verre sous forme de poudre, les valeurs des surfaces géométriques et spécifiques ont été confrontées.

#### *Surfaces géométrique et spécifique*

La détermination de la surface spécifique des poudres a été réalisée au *Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux (Université de Lorraine)*. Les mesures ont été effectuées par adsorption-désorption d'azote sur un absorbomètre automatique *Belsorp-mini II* par Angelina Razafitianamaharavo. L'absorbomètre est équipé d'un groupe de pompage turbomoléculaire qui assure un vide limite de 0,01 Pa.

#### { PRINCIPE } 2.6: Mesure de surface spécifique par méthode BET

Cette technique de mesure est basée sur la théorie *Brunauer, Emmett et Teller* qui explique l'adsorption physique de molécules de gaz (ici l'azote) à la surface d'un solide. L'absorbomètre permet la réalisation d'isothermes d'adsorption/désorption d'azote point par point, par introductions successives (ou pompage) d'azote à 77 K dans le domaine de pressions relatives 0 - 0,98. L'allure des isothermes obtenues dépend de l'adsorbat, de l'adsorbant et des interactions entre le gaz et la surface du solide (Figure 6.4 en Annexe). Ces isothermes sont caractérisées aux pressions faibles par la fixation de l'adsorbat (le gaz) sur les sites les plus actifs (1), puis par la formation d'une monocouche de molécules de diazote. Le volume adsorbé de ces molécules augmente progressivement (2). Lorsqu'il n'y a plus d'espace libre, un palier de saturation apparaît (3). La désorption de l'azote se fait à des pressions relativement plus faibles que l'adsorption, traduisant ce phénomène par une hystérésis (4). Le traitement des isothermes d'adsorption-désorption de diazote donne donc accès à certains paramètres, dont la surface spécifique qui définit la surface totale par unité de masse accessible aux atomes et aux molécules. Elle est représentative de la capacité moléculaire, c'est-à-dire du nombre de molécules d'adsorbat nécessaires pour recouvrir la surface de l'adsorbant d'une monocouche. Elle se déduit facilement connaissant l'aire occupée par une molécule de diazote et le volume de la monocouche, volume qui est déterminée à l'aide de l'équation BET (*Brunauer et al.*, 1938).

Les surfaces spécifiques des poudres MORB et HAPLO sont reportées dans le Tableau 2.4, ainsi que les valeurs des surfaces géométriques. Dans la suite du manuscrit et notam-

ment pour les calculs de pertes de masse, la surface spécifique des poudres a été prise en compte.

	$S_{spécifique} \text{ (m}^2/\text{g)}$	$S_{géométrique} \text{ (m}^2/\text{g)}$
Monolithes	-	0,052
Poudres MORB	$0,040 \pm 0,01$	0,16
Poudres HAPLO	$0,038 \pm 0,01$	0,16

Tableau 2.4: Surfaces géométrique (monolithes, poudres) ou spécifique (poudres) des échantillons soumis à altération.

#### *Rugosité de surface des monolithes*

Des mesures de rugosité ont été réalisées sur les monolithes MORB3 par microscopie interférométrique au *Laboratoire Inter-Universitaire des Systèmes Atmosphériques (Université Paris-Est Créteil, Paris)* en collaboration avec Aurélie Verney-Carron. L'équipement utilisé est un microscope interférométrique *Veeco*, modèle *NT1100*, muni de deux objectifs *Mirau* et d'une caméra CDD de résolution 736x480 pixels.

#### { PRINCIPE } 2.7: Microscopie Interférométrique

La microscopie interférométrique permet l'étude topographique des surfaces. Un microscope interférométrique est constitué d'un microscope optique qui permet de visualiser la surface d'un échantillon et d'un interféromètre, qui mesure la distance à cet échantillon. L'interferomètre utilise un faisceau divisé en deux par une lentille séparatrice, la première partie est réfléchiée par un miroir à l'intérieur de l'objectif tandis que la seconde est envoyée à la surface de l'échantillon et réfléchiée vers l'objectif. Les deux faisceaux sont ensuite recombinaés et la différence de phase génère une interférence. La mesure de la topographie de l'échantillon étudié repose sur l'analyse des franges d'interférences enregistrées. Lors d'une prise de vue, l'interféromètre effectue une course verticale du haut vers le bas et enregistre une série d'interférogrammes à différentes hauteurs. Chaque interférogramme est ensuite analysé pixel après pixel ce qui permet d'évaluer la hauteur Z de la surface pour chaque pixel et d'obtenir des profils 3D du relief de la surface d'un échantillon. Les valeurs de rugosité sont calculées, à partir de ces cartographies 3D, au moyen d'algorithmes, aboutissant à des paramètres d'amplitudes, comme la rugosité arithmétique  $R_a$ , la rugosité moyenne quadratique (variance de la rugosité) et la hauteur maximale de surface  $R_z$  (amplitude maximale mesurée).

Afin de représenter au mieux les échantillons préparés, des mesures ont été réalisées sur plusieurs monolithes, avec en moyenne 5 champs d'observation par échantillon. La rugosité arithmétique moyenne des surfaces des échantillons découpés est égale à  $1,10 \pm 0,07 \mu\text{m}$ .

## 2.2 Expériences d'altération

Les échantillons préparés ont été soumis à des expériences d'altération en conditions abiotiques mais aussi en présence d'une souche bactérienne. Les verres ont été immergés dans diverses solutions/milieus de culture, pour des temps d'altération variés. De manière générale, les expériences à court terme (1 semaine) ont été réalisées sur poudres tandis que les expériences à plus long terme (plusieurs mois) ont plutôt impliqué des monolithes.

L'objectif de ces expériences était d'évaluer/quantifier la contribution des microorganismes dans les mécanismes de dissolution des verres basaltiques. Des expériences ont d'abord été réalisées dans des systèmes simplifiés (verre au contact d'eau ultrapure), puis dans des systèmes plus complexes : (1) toujours en eau pure mais en présence de potentiels exsudats bactériens (en particulier des sidérophores), (2) dans des milieux de cultures riches en sels, (3) dans les mêmes milieux de culture et en présence d'une souche bactérienne (et des exsudats bactériens relargués dans le milieu tels que les sidérophores).

Ont alors été réalisées : (1) des analyses des solutions placées au contact des verres, à divers temps d'expérience (mesure du pH, composition chimique, détection de molécules organiques) et (2) l'exploration des surfaces altérées des verres récoltés en fin d'expérience (observation en MEB, LA-ICP-MS), principalement pour les échantillons altérés à long terme.

### 2.2.1 Protocoles expérimentaux

Les expériences d'altération ont été réalisées, on l'a dit, en immergeant un échantillon (une pastille ou une certaine masse de poudre de verre) dans un volume de solution. Ce volume a été choisi de manière à respecter un rapport constant entre la surface  $S$  du verre soumise à altération et le volume  $V$  de solution altérante. Ce rapport  $\frac{S}{V}$  est un paramètre clé dans le contexte d'expériences de dissolution en milieu aqueux. Il détermine notamment la chimie de la solution et la minéralogie des phases secondaires formées. L'utilisation de forts rapports  $\frac{S}{V}$  favorise l'atteinte rapide de la saturation de la solution et donc la formation de palagonite gel et la précipitation de phases secondaires. Le système tend ainsi plus rapidement vers un état d'équilibre thermodynamique. Au contraire, on privilégiera les faibles rapports  $\frac{S}{V}$  et donc des conditions plus diluées pour des études à court terme en régime de vitesse initiale de dissolution (permettant d'éviter d'éventuels effets de saturation de la solution en certains éléments du verre). Dans ce travail, nous nous sommes placés dans

le deuxième cas de figure. Un rapport  $\frac{S}{V}$  de  $1 \text{ cm}^{-1}$  pour les expériences sur poudres et  $0,05 \text{ cm}^{-1}$  pour les expériences sur monolithes a donc été choisi.

A titre de comparaison avec nos systèmes de dissolution, un échantillon des données expérimentales trouvées dans la littérature, pour des expériences de dissolution en régime de vitesses initiales, est donné dans le Tableau 2.5.

Références	Granulométrie ( $\mu\text{m}$ )	$S_{\text{reactive}}$ ( $\text{cm}^2/\text{g}$ )	$S/V$ ( $\text{cm}^{-1}$ )
Declercq <i>et al.</i> (2013)	125-250	324	-
Berger <i>et al.</i> (1994)	135-360	100	4,0
Daux <i>et al.</i> (1997)	100-125	450	4,1
Wolff-Boenisch <i>et al.</i> (2004)	45-125	250	3,8

Tableau 2.5: Quelques surfaces et rapports  $\frac{S}{V}$  d'altération utilisés dans des études d'altération antérieures à ce travail.

Dans ce travail, les expériences d'altération ont été la plupart du temps réalisées à  $25^\circ\text{C}$  et sous agitation (160 tours par minute). Afin d'obtenir une altération plus prononcée, certains tests ont été réalisés à  $45$  ou  $90^\circ\text{C}$ . Toutes ces expériences ont en commun un pH fixe de 6,5. Un pH proche de la neutralité, a été choisi pour minimiser les réactions d'échange entre les protons de la solution et les cations du verre et en contrepartie favoriser l'action des molécules organiques et de manière plus générale mettre en évidence l'action bactérienne sur les mécanismes de dissolution. Un pH proche de la neutralité était également nécessaire pour favoriser la croissance bactérienne. Pour assurer le maintien du pH à 6,5, les solutions ont été tamponnées par ajout d'hydrogénocarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ) ou de 2,2-Bis(hydroxyméthyl)-2,2',2''-nitrilotriéthanol (Bis-Tris) en fonction des conditions expérimentales.

Toutes les expériences ont été réalisées en conditions stériles. Pour ce faire, les solutions d'altération préparées ont été filtrées à l'aide de filtres-seringues (membrane hydrophile en acétate de cellulose,  $\varnothing 0,2 \mu\text{m}$ ) ou ont été autoclavées. Le verre, avant immersion, a été lui aussi stérilisé en étant placé dans le four *Carbolite* à  $200^\circ\text{C}$  pendant une quinzaine de minutes.

Au cours de ces expériences, de nombreux paramètres ont été testés et confrontés, qu'il s'agisse de la forme des échantillons, de la température ou encore du milieu d'altération utilisé. On peut néanmoins diviser l'ensemble des expériences réalisées en deux groupes : (1) les expériences en solutions d'eau ultrapure et (2) les expériences en milieu de culture.

### 2.2.1.1 Expériences en eau pure

Dans ces expériences abiotiques, les verres (poudre ou monolithe) ont été immergés dans 40 mL de solution altérante, contenus dans des flacons stériles en polypropylène (50 mL). On utilise autant de tubes que l'on étudie de temps d'altérations. Par exemple, pour une expérience d'altération à court terme "standard" (s'étalant sur une semaine), six tubes identiques (contenant un mélange de solution altérante et de poudre de verre respectant le bon rapport  $\frac{S}{V}$ ) ont été placés sous agitation et à 25°C au même instant  $t_0$  et ont été retirés respectivement après huit heures, un, deux, trois, quatre et sept jours. Des expériences à plus long terme ont également été réalisées en suivant le même protocole. Pour une même expérience, cinq monolithes ont notamment été immergés dans  $5 \times 40$  mL de solution altérante et récupérés après un, deux, trois, quatre et cinq mois d'incubation à 45°C. Lorsqu'un flacon est récupéré, la solution incubée au contact du verre est récupérée par filtration (filtre en acétate de cellulose,  $\varnothing 0,2 \mu\text{m}$ ) et le verre est séché à température ambiante et conservé pour être caractérisé. Ces étapes sont résumées dans la Figure 2.12. Afin de s'assurer de la reproductibilité des résultats, les expériences ont été réalisées en duplicats (de la synthèse du verre jusqu'à la préparation des solutions).

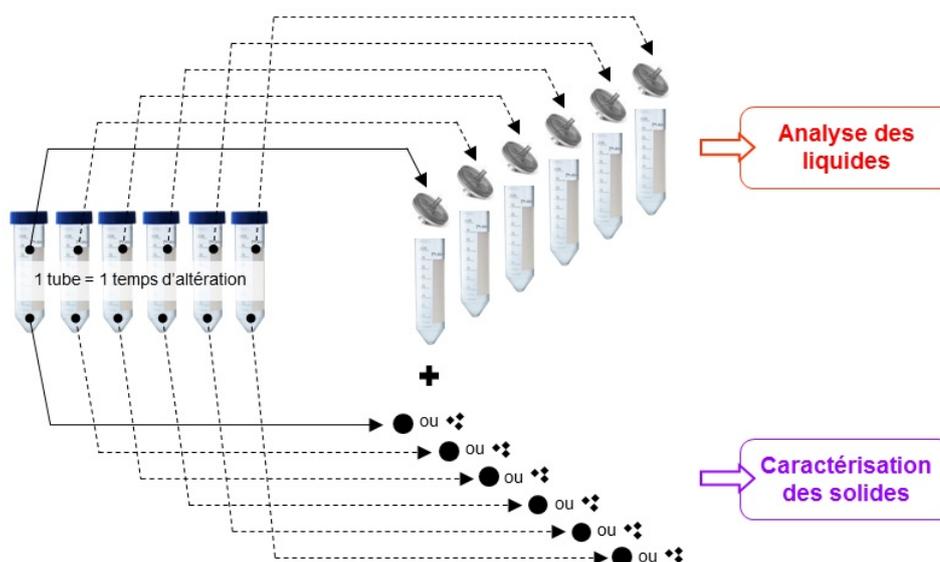


FIGURE 2.12: Expériences abiotiques : autant d'échantillons que de temps d'altération souhaités sont immergés dans 40 mL de solution altérante. A chaque temps d'altération, la solution placée au contact du verre est récupérée par filtration du surnageant pour analyse et le verre (poudre ou monolithe) est conservé.

Les expériences ont été réalisées dans des solutions d'eau ultrapure (EUP) et de divers ligands organiques (un acide organique et deux sidérophores). Comme expliqué dans le Chapitre 1 de ce manuscrit, acides organiques et sidérophores sont deux types de molécules organiques pouvant être synthétisées par un grand nombre de souches bactériennes et

sont des agents complexants du fer. Les ligands choisis dans cette étude diffèrent principalement les uns des autres de par leur affinité pour le fer ferrique/ferreux et par le nombre/la nature des groupements participant aux réaction de complexation et vont maintenant être présentés.

{ Acide oxalique }

L'acide oxalique est très largement produit par divers champignons (en outre *Aspergillus niger*, *Aspergillus ficuum*, *Penicillium oxalicum*, *Sclerotium rolsfsii*, *Gleophyllum trabeum*) (Strasser et al., 1994) et très présent dans les sols, ses concentrations dans ces environnements pouvant atteindre 1 mM (Fox et Comerford, 1990). Il est moins systématiquement décrit comme un produit abondant des métabolismes bactériens, mais pourtant très utilisé dans les études traitant de l'impact de la présence de ligands sur la dissolution et explorant les mécanismes de bioaltération. En effet sa forte affinité avec les cations  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  mais aussi, même si plus modérée, avec des cations divalents comme  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  ou  $\text{Ca}^{2+}$  (Grases et al., 1989; Cama et Ganor, 2006) ainsi que sa disponibilité légitiment son utilisation en tant que ligand dans les tests de dissolution de minéraux et de phases silicatées diverses et variées (Furrer et Stumm, 1986; Welch et Ullman, 1992; Stillings et al., 1996; Drever et Stillings, 1997; Oelkers et Gislason, 2001; Cheah et al., 2003; Wang et al., 2005; Olsen et Rimstidt, 2008; Martinez-Luevanos et al., 2011). L'acide oxalique peut complexer ces cations métalliques par perte des deux protons des groupements alcool (-OH) (Figure 2.13).

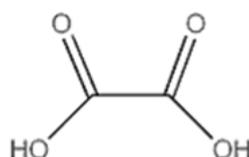


FIGURE 2.13: Structure chimique de l'acide oxalique.

Pour satisfaire la coordinence préférentielle des cations trivalents, trois molécules d'acide oxalique sont donc idéalement nécessaires à la complexation.

{ Desferrioxamine-B }

La desferrioxamine-B, bioproduit de la souche *Streptomyces pilosus*, est le sidérophore le plus utilisée dans les études portant sur la dissolution de phases minérales/oxydes (Watteau et Berthelin, 1994; Kraemer et al., 1999; Liermann et al., 2000; Cocozza et al., 2002; Cheah et al., 2003; Wolff-Boenisch et Traina, 2007). Elle est composée de trois groupements hydroxamates (Figure 2.14) et caractérisée par une constante de complexation avec le fer de  $10^{30,6}$ ,

contre  $10^{24,1}$  ou  $10^{2,6}$  pour les complexes formés respectivement avec l'aluminium ou le calcium (Kraemer, 2004).

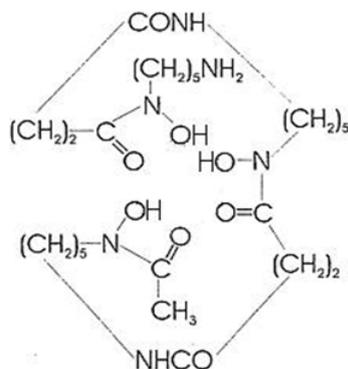


FIGURE 2.14: Structure chimique de la desferrioxamine-B (d'après Kalinowski *et al.* (2000)).

La DFA est un sidérophore hexadendate, c'est-à-dire qu'une seule molécule de DFA suffit, en théorie, à former un complexe octaédrique hexacoordonné stable avec le cation  $Fe^{3+}$ .

{ 2,2'-bipyridyle }

La 2,2'-bipyridyle est un complexant du fer ferreux ( $K_f = 10^{17,5}$ ), dont la structure est donnée dans la Figure 2.15. Elle se lie à ce dernier par le biais de ces deux atomes d'azote. C'est un sidérophore bidendate : trois molécules de 2,2'-bipyridyle sont nécessaires pour compléter la sphère octaédrique du fer. À l'inverse de l'acide oxalique ou de la desferrioxamine-B, l'influence de ce sidérophore sur les mécanismes de dissolution a fait l'objet de seulement quelques études (Coluccia *et al.*, 1978; Ferreiro *et al.*, 1983). De plus, on ne lui connaît *a priori* pas d'affinité pour d'autres cations que  $Fe^{2+}$ .

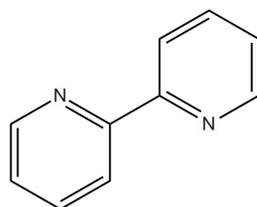


FIGURE 2.15: Structure chimique de la 2,2'-bipyridyle.

Chaque solution de ligand a été préparées dans 1 L d'EUP (résistivité 18,2 M $\Omega$ ), dans laquelle ont été introduits 1 mmol de tampon carbonaté ( $NaHCO_3$ ) et 30,8  $\mu$ L d' $HNO_3$  à 65% (afin de maintenir le pH à 6,5). L'acide oxalique (AO) a été introduit à 10 mM. Pour cela, 0,9 g d'AO, contrebalancée par 0,8 g de soude, ont été introduits dans cette solution d'EUP tamponnée. Les solutions à 1 mM de desferrioxamine-B (DFA) ou 1 mM de 2,2'-bipyridyle (BPI)

ont été préparées en introduisant 1 mmol de ces sidérophores dans 1 L d'EUP tamponnée. Des expériences "témoins" ont aussi été réalisées dans l'EUP tamponnée seule, en s'affranchissant de la présence de ces ligands. Une fois introduites dans les tubes et mélangées aux verres, les solutions ont été placées à 25°C, 45°C ou 90°C et soumises à une agitation continue de 160 tours/min pour des durées s'échelonnant de huit heures à sept jours. A chaque temps d'altération, un petit volume (3 mL) de chaque tube a été prélevé et le pH y a été mesuré, dans le but de contrôler sa stabilité au fil des jours. Ces mesures ont été faites à l'aide d'une électrode de type Ag/AgCl.

Le Tableau 2.6 récapitule les temps de prélèvement des expériences réalisées.

Echantillons	Durée	Températures	Temps de prélèvement
<b>Monolithes</b>	court terme	25°C	1, 3, 5, 7, 15, 25 jours
	long terme	25°C	5 mois
	long terme	45°C	1, 2, 3, 4, 5 mois
<b>Poudres</b>	court terme	25°C	8 heures, 1, 2, 3, 4, 7 jours
	court terme	90 °C	4, 8 heures, 1, 1,3, 2, 3 jours
	long terme	25 °C	3,5 mois

Tableau 2.6: Temps de prélèvement des solutions altérantes en fonction des conditions expérimentales [ conditions abiotiques].

Les solutions prélevées et filtrés ont ensuite été acidifiés à hauteur de 1% (vol.) d'HNO<sub>3</sub>.

### 2.2.1.2 Expériences en milieu de culture

Ces expériences ont été réalisées dans un milieu de culture liquide, dont une des particularités est d'être carencé en fer. En présence de microorganismes, le choix d'un tel milieu a notamment permis de stimuler la production de sidérophores. Afin de limiter les échanges entre le verre et le milieu de culture, des expériences utilisant des membranes de dialyse (confinant le verre) ont aussi été mises en place.

La souche choisie dans ce travail est *Pseudomonas (P.) aeruginosa*, bactérie gram-négative, du genre *Pseudomonas*. Il s'agit d'un petit bacille, mobile grâce à son flagel simple, que l'on retrouve abondamment dans la nature, dans l'eau, le sol et les êtres vivants, et notamment privilégié dans cette étude pour sa capacité à produire des sidérophores et à former des biofilms.

#### *Tests préliminaires*

La réalisation de ces expériences de bioaltération a nécessité un nombre important

de tests pour la mise au point du protocole le plus précis et permettant la meilleure étude cinétique possible, dans des conditions proches de celles utilisées dans les expériences abiotiques. Les principaux tests réalisés et validés pour l'établissement du protocole final ont été résumés sur la Figure 2.16. Dans le cadre de ces tests, ont été principalement étudiées la croissance bactérienne (par mesure de densité optique à 600 nm et/ou méthode de dénombrement) et la production de sidérophores. Plus d'informations sur les méthodes de dénombrement bactérien et de détection de sidérophores seront données en fin de chapitre (§2.2.2).

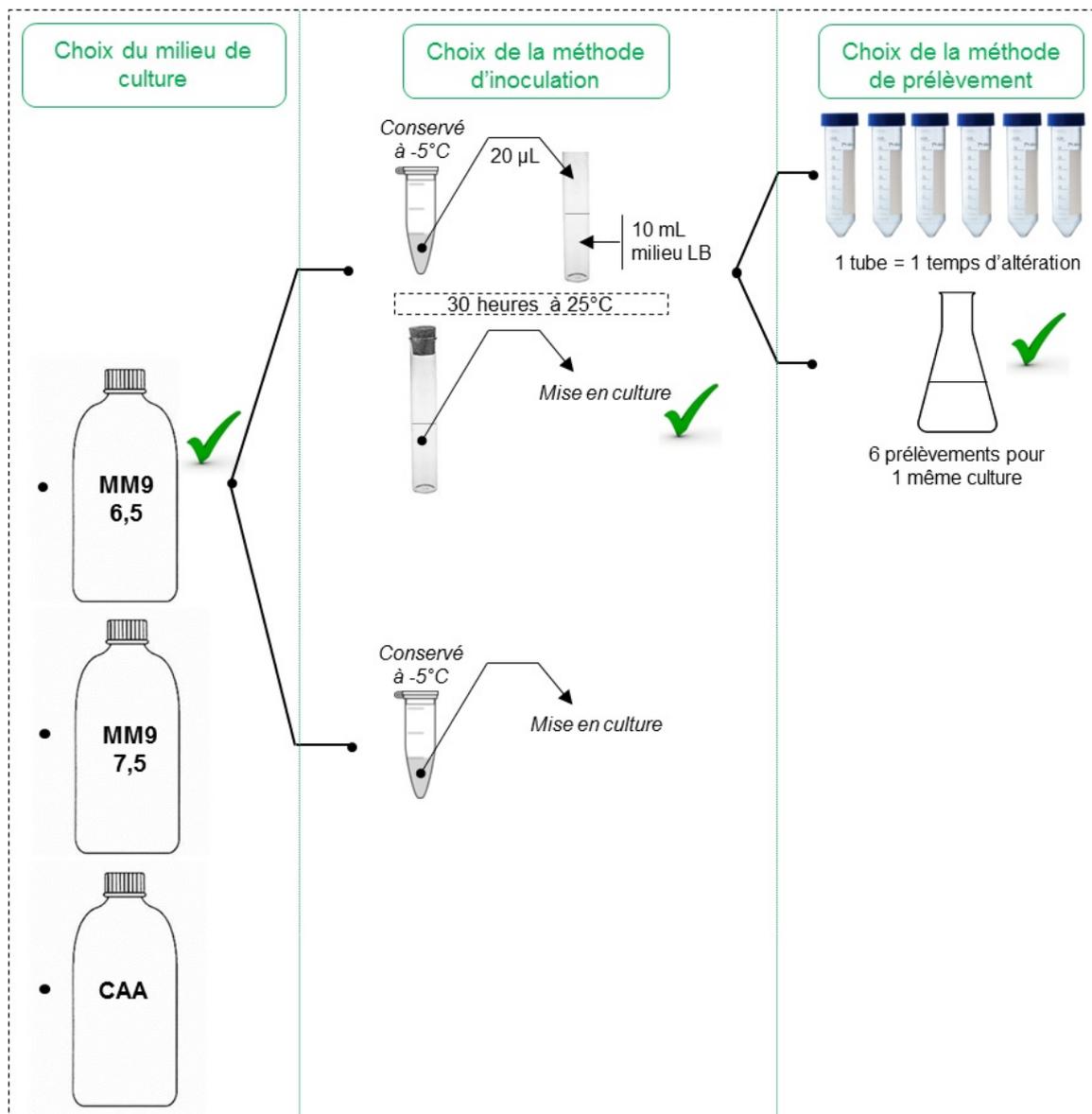


FIGURE 2.16: Cheminement expérimental pour la mise en place des expériences d'altération : choix du milieu de culture, du pH, de la méthode d'inoculation de la souche et du caractère ouvert/fermé de l'expérience.

La croissance bactérienne, pour être idéale dans ce contexte d'altération à très court terme, a été évaluée dans plusieurs milieux de culture minima (amplitude, durée de la phase de latence, de la phase exponentielle). Un milieu minimum MM9 a finalement été choisi en accord avec la littérature (Liermann *et al.*, 2000). Une fois la composition du milieu validée, diverses conditions de pH (pH 6,5 et 7,5 notamment) ont été testées. 7,5 est en effet un pH plus favorable à la croissance bactérienne, mais l'idéal était de rester au plus près des conditions d'altération abiotiques (pH 6,5). L'absence de différence significative, en terme de croissance bactérienne, d'un pH à un autre (Figure 2.17) nous a finalement encouragé à maintenir un pH de 6,5.

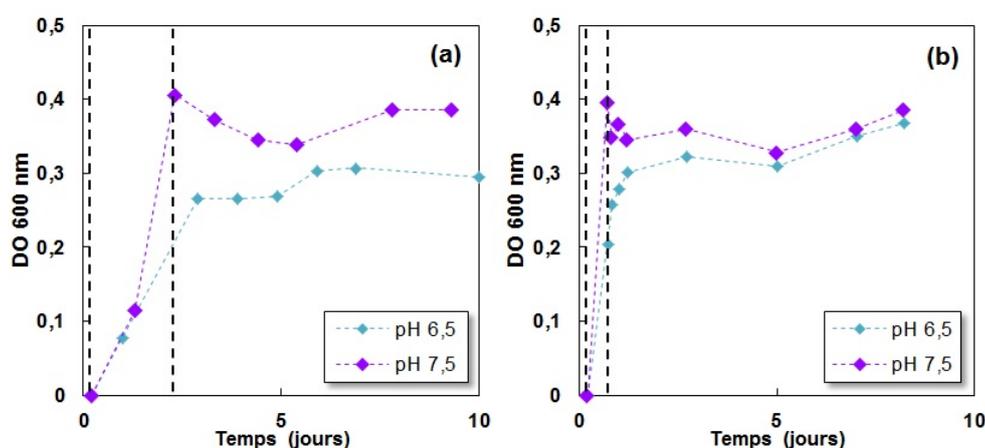


FIGURE 2.17: Courbes de croissance des cultures de *Pseudomonas aeruginosa* incubées en présence de verre MORB3 à 25°C et sous agitation (160 tours/min) dans un milieu MM9 tamponné à pH 6,5 ou 7,5. Les courbes en (a) ont été obtenues après inoculation de la souche à partir d'une culture cryogénisée, les courbes en (b) représentent la croissance d'un inoculat provenant d'une culture fraîche, incubée 24h dans un milieu nutritif à 25°C et sous agitation (160 tours/min).

Plusieurs approches pour l'inoculation de la souche *Pseudomonas aeruginosa* en milieu minimum stérile ont été envisagées : l'inoculation d'un petit volume prélevé à partir d'une culture antérieurement préparée et conservée à l'état congelée (croissance la plus lente observée) ou bien d'une culture fraîche en phase exponentielle de croissance dans un milieu riche incubé à 25°C (croissance la plus rapide) ont été testées (Figure 2.17). Les bactéries atteignant leur phase stationnaire de croissance deux fois plus rapidement lorsqu'introduites à partir d'une culture fraîche, cette approche a été retenue. La question du matériel à utiliser pour réaliser les cultures et permettre les prélèvements nécessaires aux différents types d'analyses envisagés s'est également posée. Ces premiers tests ont en effet été réalisés dans la continuité des expériences abiotiques (un tube pour un temps d'altération). Toutefois, en raison de la difficulté à obtenir des résultats reproductibles d'un tube à un autre (Figure 2.17), des cultures à plus gros volumes (erlenmeyers en verre fermés à l'aide de bouchons de coton, dans lesquels un volume fixe de solution est prélevée chaque jour) ont été mises

en place. La Figure 2.18 met en évidence la différence significative, en terme de croissance bactérienne, entre les cultures en tubes (*fermées*) et les cultures en erlenmeyer (*semi-ouvertes*). En effet, les erlenmeyers sont périodiquement ouverts et le reste du temps fermés par des bouchons en coton qui permettent l'oxygénation de la solution et le maintien de conditions aérobies.

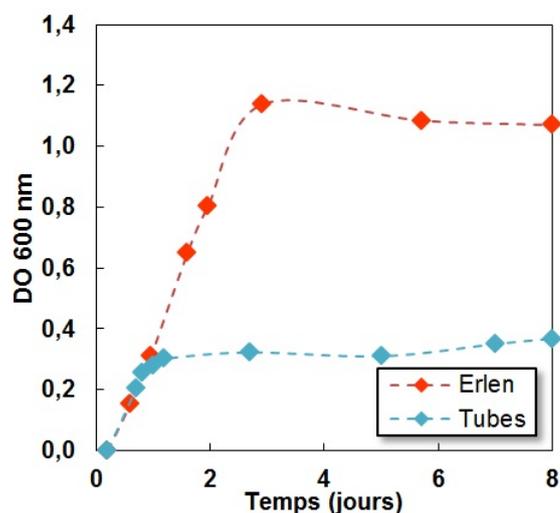


FIGURE 2.18: Courbes de croissance des cultures de *P. aeruginosa* incubées en présence de verre MORB3 dans une série de tubes contenant 40 mL de milieu de culture ou dans un erlenmeyer de 250 mL, à 25°C et sous agitation (160 tours/min).

Les cultures en erlenmeyers sont caractérisées par une croissance bactérienne plus importante. Pour cette raison, ainsi que pour la meilleure qualité des données obtenues à partir des prélèvements successifs depuis un même milieu, nous avons abandonné, dans cette partie, l'utilisation des tubes en polypropylène pour nos expériences de dissolution.

#### *Protocole final*

En s'appuyant sur les résultats des tests précédents, des expériences de (bio)altération s'accordant en termes de durée, de pH et de rapport  $\frac{S}{V}$  avec les expériences abiotiques ont été mises en place.

{ De la mise en culture à la récupération des lixiviats }

Le protocole expérimental est schématisé dans la Figure 2.19. Il s'articule en plusieurs étapes : (a) mise en culture de la souche bactérienne dans un milieu Lysogeny Broth (LB, milieu riche), (b) conservation de cette culture au froid jusqu'à son "réveil" dans un petit volume de milieu LB, (c) répartition de cette nouvelle culture dans des batchs stériles (milieu MM9 "pauvre" + échantillons de poudres basaltiques) et enfin (d) prélèvements, à divers

temps, du milieu incubé en vue des analyses .

**(a)** La souche *P. aeruginosa* ATCC 9027 a été achetée sous forme de disques Vitroids (Sigma-Aldrich). La concentration des bactéries est estimée à 1000 CFU par disque. Un disque a été introduit dans 100 mL de milieu LB préparé en dissolvant dans de l'EUP 10 g/L de tryptone, 5 g/L d'extrait de levures et 5 g/L de NaCl. La culture a ensuite été placée pendant 24 heures à 25°C et sous une agitation de 160 tours/min. Après 24 heures, 750  $\mu$ L de cette culture ont été successivement prélevés et placés dans divers tubes eppendorf stériles, puis mélangés à 250  $\mu$ L d'une solution de glycerol à 80% (volumiques). Ces tubes ont ensuite été conservés à -5°C et utilisés pour toutes les expériences de bioaltération, afin que toutes les cultures, préparées de la même façon, aient un âge et un statut nutritionnel initiaux identiques.

**(b)** Pour une expérience de bioaltération, 20  $\mu$ L de suspension bactérienne ont été prélevés dans un petit tube eppendorf, préalablement réchauffé à température ambiante. Ce volume a ensuite été inoculé dans 2 mL d'un milieu LB stérile fraîchement préparé et placé pour 30 heures à 25°C, sous une agitation de 160 tours/min.

**(c)** 4 x 125  $\mu$ L de cette culture ont ensuite été introduits dans quatre erlenmeyers en verre borosilicaté contenant 250 mL d'un milieu MM9 stérile et, pour 3 d'entre eux, 0,625 g de verre HAPLO, MORB2 ou MORB3. La culture ne contenant pas de verre fait office de culture *témoin* (contrôle). La recette de ce milieu est tirée d'une étude de Schwyn et Neillands (1987) et a été adaptée à partir des travaux de Liermann *et al.* (2000). Il s'agit d'un mélange d'EUP et de 6,06 g/L de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,3 g/L de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 g/L de NaCl, 1,0 g/L de NH<sub>4</sub>Cl et 50 mM de tampon BisTris. Le pH de la solution a été ajusté au pKa du BisTris (6,5) par ajout d'une solution d'acide chlorhydrique à 1 M. Une fois le pH fixé, la solution a été autoclavée puis refroidie à 25°C. Ont ensuite été rajoutés 0,2% (volumique) d'une solution à 1 M de MgSO<sub>4</sub>, 0,01% (volumique) d'une solution à 1 M de CaCl<sub>2</sub> et 1% (volumique) d'une solution à 20% (masse/volume) de glucose. Ces solutions ont été préparées et stérilisées séparément (à l'autoclave pour MgSO<sub>4</sub> et CaCl<sub>2</sub>, par filtration à travers un filtre seringue  $\varnothing$ 0,2  $\mu$ m pour le glucose). Les cultures ont ensuite été incubées à 25°C pendant 20 jours au total.

**(d)** À 0,6, 0,9, 1,6, 1,9, 2,9 et 5,7 jours, 4,2 mL de culture ont été prélevés dans chaque erlenmeyer pour être caractérisés. 1,7 mL ont été introduits dans une cuve en quartz pour des mesures d'absorbance par spectrophotométrie UV-Visible. 2,3 mL ont été filtrés à l'aide d'un filtre seringue stérile ( $\varnothing$ 0,2  $\mu$ m), placés dans un tube stérile et acidifiés à 1% (v/v) d'HNO<sub>3</sub>. Enfin, les 200  $\mu$ L restants ont été utilisés pour la méthode de dénombrement des colonies

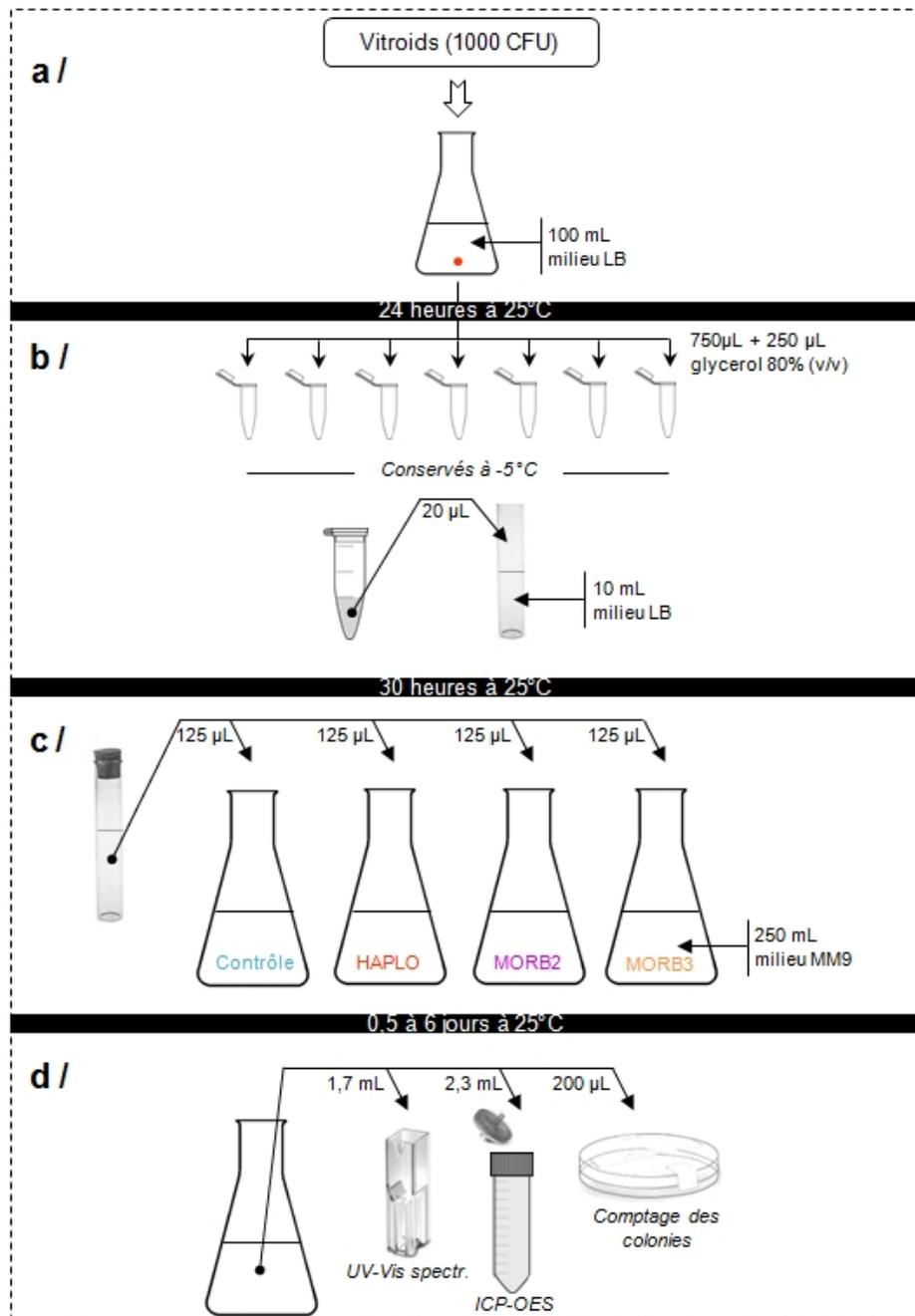


FIGURE 2.19: Déroulé des expériences de bioaltération des verres HAPLO, MORB2 et MORB3.

par étalement bactérien sur milieu gélosé.

À 2,9 et 5,7 jours, les 1,7 mL de culture introduits dans la cuve en quartz ont ensuite été filtrés ( $\varnothing 0,2 \mu\text{m}$ ). Un spectre d'absorption de ces échantillons a alors été enregistré entre 300 et 500 nm. Les cultures ont été maintenues sous incubation jusqu'à 20 jours avant récupération des verres altérés et contrôle de la stabilité du pH.

{ Membranes de dialyse }

Ces expériences de bioaltération ont été reproduites à l'identique, en plaçant cette fois le verre dans des membranes de dialyse en cellulose (*Membrane Filtration Products Inc*, diamètre à sec 47,7 mm, épaisseur 40  $\mu\text{m}$ ) (Figure 2.20). L'intérêt de ces membranes est d'empêcher, par filtration du milieu de culture, la suspension bactérienne d'accéder au verre. Cependant, elles permettent à une partie des métabolites produits par les microorganismes d'interagir avec le matériau. En effet, le seuil de rétention de ces membranes est de 12000-14000 g/mol, ce qui signifie que 90% des espèces dont la masse molaire est comprise entre 12000 et 14000 g/mol sont retenues par celles-ci et n'accèdent pas au verre. Ce seuil de rétention est suffisant pour permettre aux acides organiques ou sidérophores synthétisés par la souche au cours de l'expérience d'interagir avec la surface du verre.

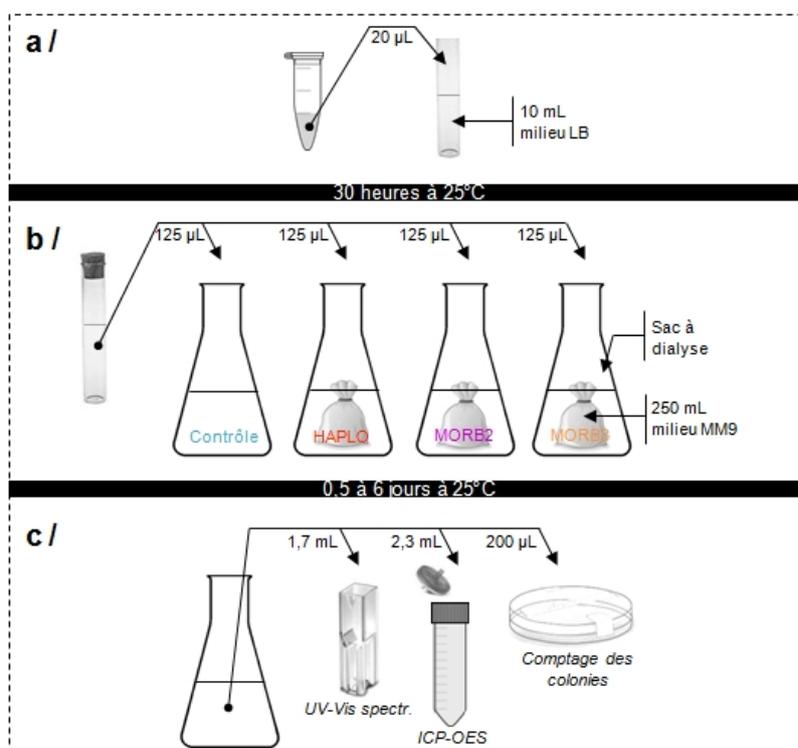


FIGURE 2.20: Déroulé des expériences de bioaltération des verres HAPLO, MORB2 et MORB3 utilisant des membranes de dialyse.

## { Récupération du culot bactérien }

Plusieurs cultures, incubées en présence ou l'absence des verres MORB3, HAPLO, ont été démarrées puis stoppées après six jours d'incubation. Les bactéries ont alors été récupérées, puis minéralisées. Le protocole mis en œuvre est donné sur la Figure 2.21.

Chaque culture, répartie dans des falcons de 50 mL, a été centrifugée à 4500 tours/min pendant une heure. Cette étape a permis d'isoler les bactéries sédimentées (formant un culot bactérien ou "pellet") au fond des tubes par élimination du surnageant. Les bactéries ont ensuite été re-suspendues dans une solution à 20 mM de trishydroxyméthylaminométhane (Tris) et 2 mM d'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) préparée dans de l'EUP et dont le pH a été ajusté à 8,0 par ajout de quelques gouttes d'une solution d'HCl à 1 mM. Ces tubes ont été centrifugés, cette fois-ci 20 minutes à 4500 tours/min et le surnageant a été éliminé. Les culots ont alors été récupérés sur des verres de montre préalablement pesés, puis placés à l'étuve toute la nuit, à 45°C. Après calcul des masses sèches, les "pellets" ont été introduits dans des tubes de digestion contenant 10 mL d'HNO<sub>3</sub> à 65% et portés à 95°C jusqu'à réduction du volume à 2 mL. Ces 2 mL ont été introduits dans des fioles jaugées de 20 mL, dont le volume a été complété par de l'EUP.

Le Tableau 2.7 récapitule les temps de prélèvement choisis pour les expériences réalisées.

Echantillons	Durée	Températures	Temps de prélèvement
<b>Poudres</b>	court terme	25°C	0,6 ; 1 ; 1,6 ; 2 ; 2,9 ; 5,7 ; 20 jours
	court terme	25 °C	5,7 jours

Tableau 2.7: Temps de prélèvement des solutions altérantes en fonction des conditions expérimentales [conditions biotiques].

L'ensemble des expériences d'altération réalisées est résumé sur la Figure 2.22

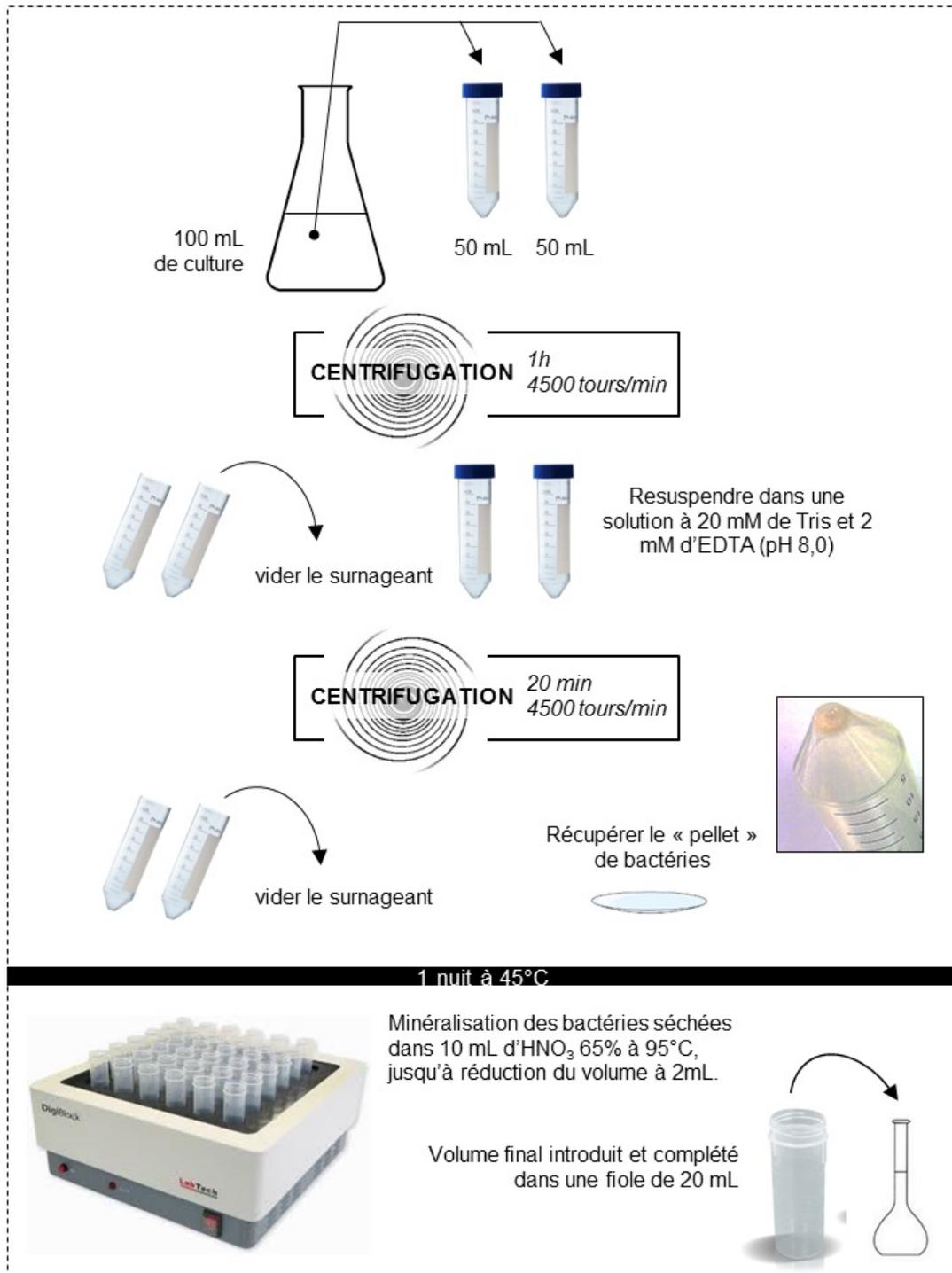


FIGURE 2.21: Protocole de minéralisation des bactéries cultivées pendant six jours au contact de verres MORB ou HAPLO.

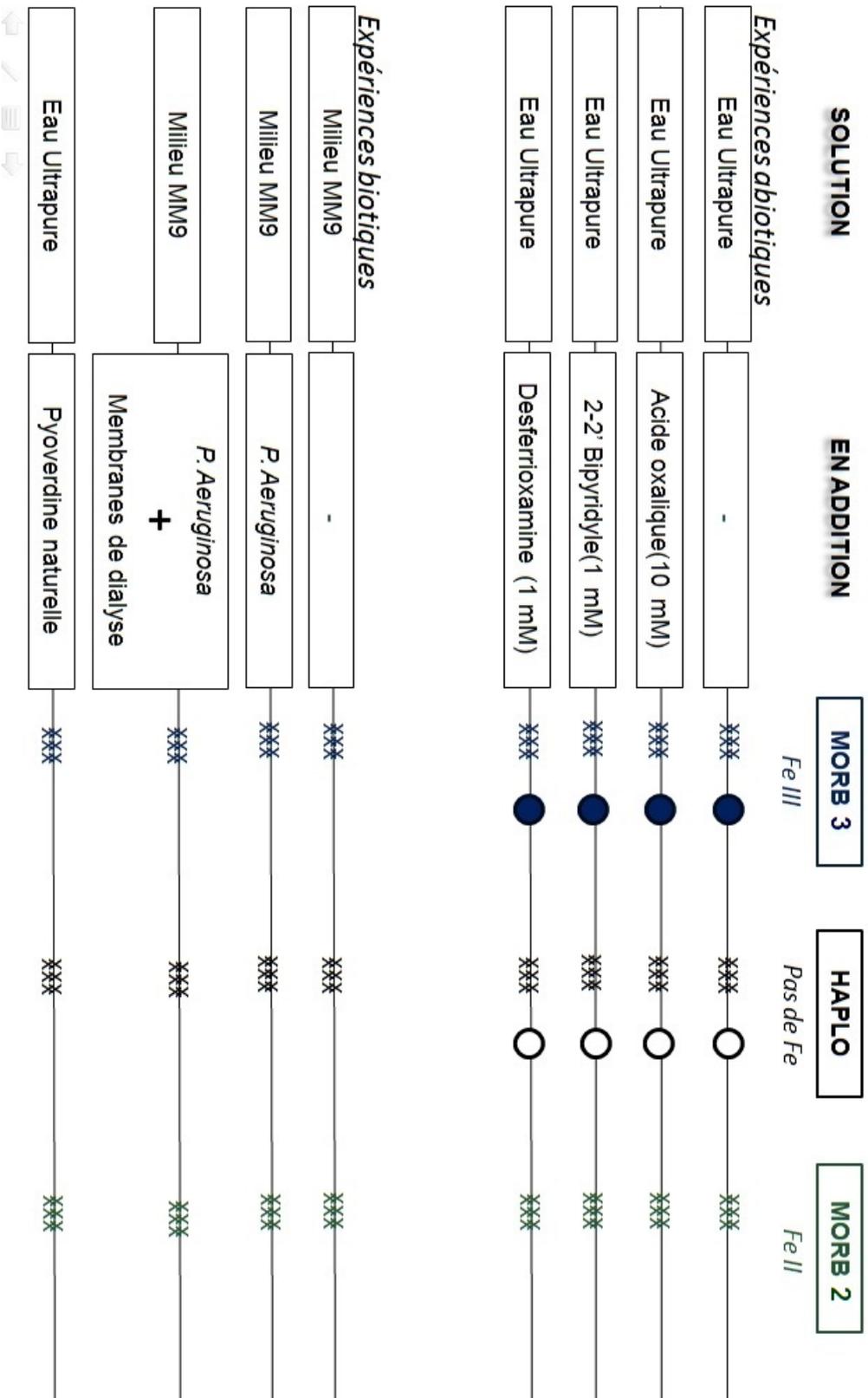


FIGURE 2.22: Plan des expériences d'altération à court terme réalisées. Les disques et les croix représentent respectivement les échantillons sous forme de monolithes ou de poudres.

## 2.2.2 Caractérisation des échantillons issus des expériences d'altération

### 2.2.2.1 Analyse des liquides

#### *Composition chimique*

Les échantillons liquides résultant des expériences d'altération ont été analysés au *Laboratoire Géomatériaux et Environnement* (Université Paris-Est) par Spectrométrie Optique d'Emission à Plasma Induit (ICP-OES). Ces analyses ont été réalisées pour le dosage de certains éléments majeurs (détectés en solution à des concentrations > 10 ppb environ). Pour les expériences en solution d'EUP, les concentrations des espèces dissoutes silicium, aluminium, fer, calcium et magnésium dans chaque échantillon ont été mesurées. Le titane et le potassium ont été écartés en raison de leur faible concentration dans le verre. Le sodium n'a également pas été mesuré, étant abondamment présent dans la solution (via le tampon carbonate à 1 mM). Pour les expériences en milieu de culture, seul le silicium, l'aluminium et le fer ont été mesurés, le magnésium et le calcium étant cette fois initialement présents dans le milieu MM9.

#### { PRINCIPE } 2.8: Spectrométrie optique d'émission à plasma induit

La Spectrométrie Optique d'Emission à Plasma Induit (ICP-OES) résulte du couplage entre un plasma d'argon induit par haute fréquence et un spectromètre. C'est un instrument de mesure destiné à réaliser des analyses élémentaires par spectrométrie d'émission atomique. Il permet en outre de doser plus de 70 éléments simultanément. Pour cela, un petit volume d'échantillon est prélevé, rendu à l'état de fin aérosol après passage dans un nébuliseur, puis injecté dans un plasma d'argon. Les électrons des atomes ionisés par le plasma, en retournant à l'état fondamental, émettent un photon dont l'énergie est caractéristique de l'élément. La détection du rayonnement émis par le plasma permet d'identifier et de quantifier les éléments présents en solution.

L'analyse par ICP-OES nécessite au préalable de calibrer l'appareil, en fonction des éléments dont on souhaite quantifier la concentration en solution. Afin d'éviter des erreurs liées à des effets de matrice, des étalons ont été réalisés dans des solutions identiques à celles utilisées dans les expériences d'altération. Pour cela, une solution multi-éléments (solution *Certipur* à 1000 ppm, *Merck Chemicals*) ou une solution de silicium (solution de  $(\text{NH}_4)_2\text{SiF}_6$  à 1000 ppm) ont été diluées dans des versions acidifiées des solutions utilisées dans les protocoles d'altération. Les facteurs de dilutions ont été calculés en fonction des concentrations attendues dans les échantillons. Les limites de détections, pour les longueurs d'onde analysées et en fonction de la matrice utilisée (EUP ou milieu de culture), ont été évaluées et sont

données dans le Tableau 2.8.

Élément	Longueur d'onde	Limites de détection	
		[ eau ultrapure ]	[ milieu de culture ]
<b>Si</b>	288,2	1,62	10,14
<b>Al</b>	396,2	0,39	1,93
<b>Fe</b>	239,6	2,01	5,92
<b>Ca</b>	317,9	9,62	-
<b>Mg</b>	285,2	2,15	-

Tableau 2.8: Longueurs d'onde (en nm) et limites de détection (en ppb) des éléments mesurés par ICP-OES.

Les erreurs analytiques absolues ont été déterminées pour les éléments silicium, aluminium, fer, calcium et magnésium, par l'analyse répétée (cinq mesures successives) des différentes dilutions (10 ppb, 50 ppb, 100 ppb, 200 ppb, 500 ppb et 1 ppm) des solutions calibrantes à 1000 ppm. Le calcul de l'écart-type entre ces cinq mesures a permis d'accéder aux valeurs des incertitudes liées à l'analyse. Ces incertitudes ont été considérées comme étant égales à  $\pm 2$  fois la valeur des écarts-types calculés, pour s'assurer d'un intervalle de confiance de 96%. Elles sont données dans le tableau 2.9. De plus, pour l'analyse d'un échantillon, chaque mesure ICP a résulté de la moyenne des résultats de trois analyses successives.

	Erreurs analytiques									
	[ eau ultrapure ]					[ milieu de culture ]				
	< 50	50-100	100-200	200-500	500-1000	< 50	50-100	100-200	200-500	500-1000
<b>Si</b>	2,6	1,2	1,7	2,0	2,8	7,2	9,1	5,9	7,3	17,0
<b>Al</b>	0,3	1,0	1,6	3,7	5,5	2,8	3,2	6,4	6,6	14,0
<b>Fe</b>	3,0	0,9	0,9	2,0	6,6	1,9	4,5	4,3	9,2	10,1
<b>Ca</b>	8,0	10,8	8,2	10,1	13,4	-	-	-	-	-
<b>Mg</b>	3,6	2,3	3,6	6,4	7,7	-	-	-	-	-

Tableau 2.9: Erreurs analytique (en ppb) sur des concentrations comprises entre 10 ppb et 1 ppm, mesurées par ICP-OES, en fonction de l'élément analysé et de la gamme de concentrations correspondante (en ppb).

Pour chaque élément  $i$  et à chaque temps d'altération, les concentrations mesurées ont été normalisées en pertes de masse (NL pour *Normalized Loss*), c'est-à-dire à la surface réactive et à la composition nominale du verre, d'après l'équation (1), puis tracées en fonction du temps d'altération.

$$NL_i = \frac{[i]}{\bar{V} \times x_i} \quad (1)$$

où  $[i]$  est la concentration (en mg/L) de l'élément  $i$  dans la solution,  $S$  est la surface BET du verre soumis à altération,  $V$  est le volume de la solution et  $x_i$  le pourcentage massique de l'élément  $i$  au sein du verre. Les variations de volume (relatives par exemple à la précision lors de l'échantillonnage) et de la surface (liées entre autre à l'étape de pesée du verre) d'un tube à un autre ont été considérées comme négligeables et n'ont pas été prises en compte dans les calculs.

Pour les expériences sur poudres, l'incertitude sur la valeur de la surface spécifique (dont dépend le terme  $S$  dans cette équation) est liée à la quantité d'échantillon introduite dans l'absorbomètre, cette quantité étant elle-même limitée par la capacité de la cellule de mesure. De plus, en raison de la granulométrie des poudres, les valeurs des surfaces spécifiques mesurées sont faibles. En conséquence, l'erreur absolue sur ces surfaces est élevée et n'a pas été en compte dans le calculs des erreurs relatives aux NLs. Pour une surface spécifique donnée et considérant les variations du volume de solution altérante et de la composition du verre d'une expérience à une autre comme négligeables, les erreurs relatives aux NLs ont donc été présumées égales aux erreurs relatives sur les concentrations (*erreurs analytiques*).

La vitesse initiale de dissolution a été calculée en effectuant une régression des quatre premiers points de la courbe obtenue (équation (2)).

$$r_i = \frac{dNL_i}{dt} = \frac{d[i]}{\frac{S}{V} \times x_i \times dt} \quad (2)$$

Enfin, la stœchiométrie de la dissolution a été évaluée par le calcul d'un indice de stœchiométrie ( $RRR_i$  pour *Relative Release Ratio*) qui quantifie le relâchement d'un élément  $i$  du verre par rapport au silicium (Holdren et Speyer, 1985) :

$$RRR_i = \frac{\left(\frac{i}{S_i}\right)_{solution}}{\left(\frac{i}{S_i}\right)_{verre}} \quad (3)$$

Quand  $RRR_i = 1$ , les relâchements respectifs de l'élément  $i$  et du silicium sont stœchiométriques. Quand  $RRR_i > 1$ , l'élément  $i$  est relâché préférentiellement au silicium. Quand  $RRR_i < 1$ , le silicium est relâché préférentiellement à l'élément  $i$ .

Enfin, les concentrations en silicium, aluminium et fer des solutions issus de l'étape de minéralisation des culots bactériens ont également été mesurées par ICP-OES, puis exprimés en teneurs (% massiques), en étant normalisés à la masse des culots introduits par

volume de solution.

### *Dénombrement bactérien*

Pour les expériences en présence de la souche *P. aeruginosa*, en supplément de l'analyse de la composition des solutions au contact du verre, la croissance bactérienne a été évaluée par deux méthodes. La première consiste à mesurer l'absorbance ou densité optique (DO) à 600 nm d'une culture, au fil du temps. Les mesures d'absorbance ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre *Lambda 10*. Pour une mesure, 1,7 mL de culture liquide a été introduit dans une cuve à usage unique (trajet optique standard) (Figure 2.19).

#### { PRINCIPE } 2.9: Spectrophotométrie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-Visible repose sur l'interaction entre un rayonnement électromagnétique et une substance absorbant dans le domaine UV-Visible (200-850 nm). L'absorbance  $A$  de tels composés est exploitée en analyse quantitative par application de la loi de Beer-Lambert :

$$A = \varepsilon_{\lambda} \times l \times c$$

où  $\varepsilon_{\lambda}$  est le coefficient d'extinction molaire (L/mol/cm),  $l$  est la longueur de la cuve de mesure (cm) et  $c$  la concentration de la substance dosée (mol/L).

Il est possible d'utiliser un spectrophotomètre UV-visible comme *opacimètre* pour mesurer des concentrations en biomasse dans un milieu de culture liquide. L'absorbance ou densité optique (DO) d'un tel milieu inclut alors deux composantes additives, l'une étant relative à la biomasse en présence (et se traduisant visuellement par une certaine turbidité de la solution), l'autre aux espèces constituant le milieu. A priori, toutes les longueurs d'onde du visible et du proche IR sont utilisables pour évaluer l'évolution de la turbidité d'un milieu. Les milieux absorbant généralement vers 400-550 nm et peu au delà de 550-600 nm, on la mesure traditionnellement avec un éclairage monochromatique aux alentours de 600 nm. La relation entre DO et concentration bactérienne est linéaire jusqu'à une certaine limite, généralement jusqu'à une absorbance de 0,5 à 0,7. Pour cette raison, on peut être amené, lors des mesures, à diluer les échantillons.

La deuxième méthode employée est une méthode de dénombrement des colonies par étalement bactérien sur milieu gélosé. Sur les 4,2 mL prélevés chaque jour depuis le milieu de culture, seulement 200  $\mu$ L ont été nécessaires pour accomplir cette étape (Figure 2.19). Ces 200  $\mu$ L ont été dilués de 10 à  $10^7$  fois (dilutions *décimales*) par une solution de KCl à 9 g/L. 50  $\mu$ L de ces solution diluées ont ensuite été étalés sur un milieu LB gélosé. Après 24 heures d'incubation à 25°C, les Unité Formant Colonie (UFC) ont été dénombrées sur boîte de Petri

et le nombre  $N$  de bactéries par mL de solution a pu être déterminé, d'après la relation :

$$N = \frac{x \times 10^n}{50 \times 10^{-3}} \quad (4)$$

où  $x$  est le nombre d'UFC et  $n$  est le nombre de dilutions décimales. Il est alors intéressant d'évaluer la corrélation entre les valeurs de DO mesurées et le nombre de bactéries calculé, pour attester de la fiabilité des courbes obtenues. Pour cela, on représente généralement les valeurs de DO en fonction du logarithme des UFC calculées. Le calcul du coefficient de corrélation, obtenu en effectuant une régression linéaire des points représentés, permet d'attester de la qualité des données obtenues. Lors de la présentation des courbes de croissance (Chapitre 4), ce coefficient sera indiqué dans les légendes des figures correspondantes.

#### *Détection de sidérophores*

Des spectres d'absorption des milieux de cultures ont également été enregistrés à l'aide du spectrophotomètre *Lambda 10*, entre 300 et 600 nm, pour l'identification de pics d'absorption caractéristiques de certains sidérophores. Avant chaque mesure, les échantillons ont été filtrés à travers un filtre seringue en acétate de cellulose ( $\varnothing 0,2 \mu\text{m}$ ).

#### **2.2.2.2 Analyse des solides**

L'analyse des liquides a été couplée à l'exploration des surfaces altérées pour l'identification des phases secondaires d'altération. Pour cela, plusieurs techniques d'analyse ont été exploitées.

#### *Microscopie Électronique à Balayage*

Les surfaces des échantillons (monolithes, poudres) altérés de un à cinq mois à 25°C, 45°C ou 90°C ont en premier lieu été observées par MEB, couplée à une analyse chimique semi-quantitative en EDS. Ces observations ont été réalisées à la surface des échantillons simplement récupérés des expériences de dissolution, placés sur du scotch carboné puis rendus conducteurs par dépôt d'un fin film de carbone à leur surface. La caractérisation des épaisseurs d'altération a aussi nécessité l'inclusion de certains échantillons dans des blocs de résine (HARDCLEAR H59). Ces blocs ont été découpés à la scie diamantée, afin de mettre à jour la section de l'échantillon, puis polis sur disques de carbure de silicium de granulométrie 180 à 4000 fils/cm<sup>2</sup>. Les sections polies ont ensuite également été rendues conductrices par un fin dépôt de carbone.

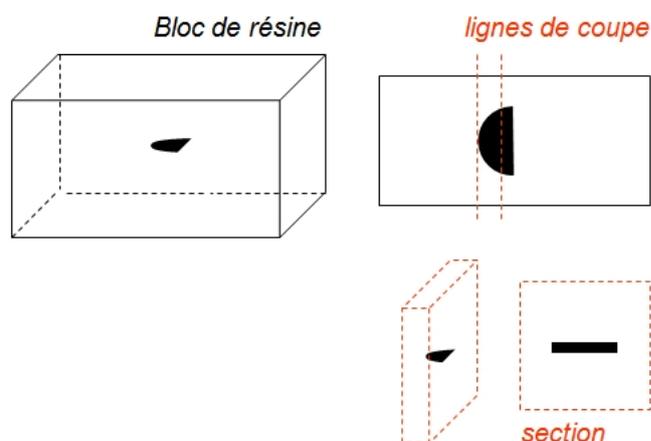


FIGURE 2.23: Préparation des échantillons pour l'analyse des sections polis par MEB.

Enfin, pour l'observation des verres altérés en présence de microorganismes, une alternative au séchage à l'air libre a été utilisée pour quelques échantillons. Les échantillons initialement immergés dans les cultures de *P. aeruginosa* ont été déshydratés, puis introduits dans une chambre de séchage par contournement du point critique. L'appareil utilisé est un *Leica EM CPD300*, disponible à *Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie (Université Pierre et Marie Curie)*. Le protocole complet de préparation des échantillons a été mis en place puis accompli avec l'aide de Fériel Skouri-Panet et Sébastien Charron.

#### { PRINCIPE } 2.10: Séchage au point critique

Le CPD (Critical Point Drying) est une technique de séchage d'échantillons biologiques hydratés en vue d'une analyse sous vide. En effet, la destruction des structures biologiques lors de l'évaporation de l'eau pendant un séchage à l'air est lié aux fortes tensions de surface qui se concentrent au niveau des membranes et parois biologiques. Ces tensions de surface sont plus faibles lorsque les gaz sont au contact d'un fluide supercritique (fluide soumis à des conditions de température et de pression telles qu'états liquide et gazeux sont indistinguables). Les échantillons sont préalablement fixés, lavés dans un tampon et déshydratés en échangeant l'eau par un solvant compatible avec le  $\text{CO}_2$  (ici l'éthanol). Le CPD vise alors à remplacer l'éthanol ou l'acétone par du  $\text{CO}_2$  liquide, puis à transformer ce dernier en fluide supercritique et enfin à l'évaporer. Pour ce faire, la chambre contenant l'échantillon est refroidie jusqu'à une température de  $-10^\circ\text{C}$  puis pressurisée en  $\text{CO}_2$ . Une circulation de  $\text{CO}_2$  liquide est générée de manière à remplacer le solvant. La chambre est ensuite chauffée : la température et la pression augmentent jusqu'à dépasser le point critique du  $\text{CO}_2$  ( $P_c = 74 \text{ bar}$ ,  $T_c = 31^\circ\text{C}$ ). La chambre est alors dépressurisée tout en étant maintenue à une température supérieure à  $T_c$ .

Le protocole de séchage complet est récapitulé dans la Figure 2.24. Avant introduction

dans la chambre de séchage, 250  $\mu\text{L}$  de verre en suspension dans le milieu de culture sont mélangés à 4 mL d'une solution d'acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique (HEPES) à 0,05 M (pH 8). Ce mélange est injecté dans un *swinnex*® contenant une membrane en polycarbonate ( $\varnothing 0,22 \mu\text{m}$ ). Le verre et les cellules bactériennes présentes dans le milieu de culture sont retenus sur cette membrane. 3 x 5 mL de solution de tampon HEPES sont ensuite lentement injectés dans le *swinnex*® pour débarrasser les grains de verre des sels et autres espèces contenus dans le milieu de culture. 5 mL d'éthanol à 50%, 70%, 96% puis 100% (volumiques) sont ensuite successivement injectés en respectant des temps de lavage de cinq minutes. Une fois les grains de verre lavés et fixés sur la membrane, celle-ci est récupérée et protégée entre deux grilles en plastique. On veille à maintenir l'échantillon immergé dans un bain d'éthanol absolu pour éviter qu'il ne sèche à l'air libre. L'échantillon ainsi monté est alors introduit dans la chambre de séchage par contournement du point critique. Il est alors soumis à une vingtaine de cycles (injection de  $\text{CO}_2$ /montée en température et pression puis dépressurisation) d'environ quatre minutes. Après séchage, les échantillons sont récupérés, débarrassés de leur support grillagé et immédiatement métallisés.

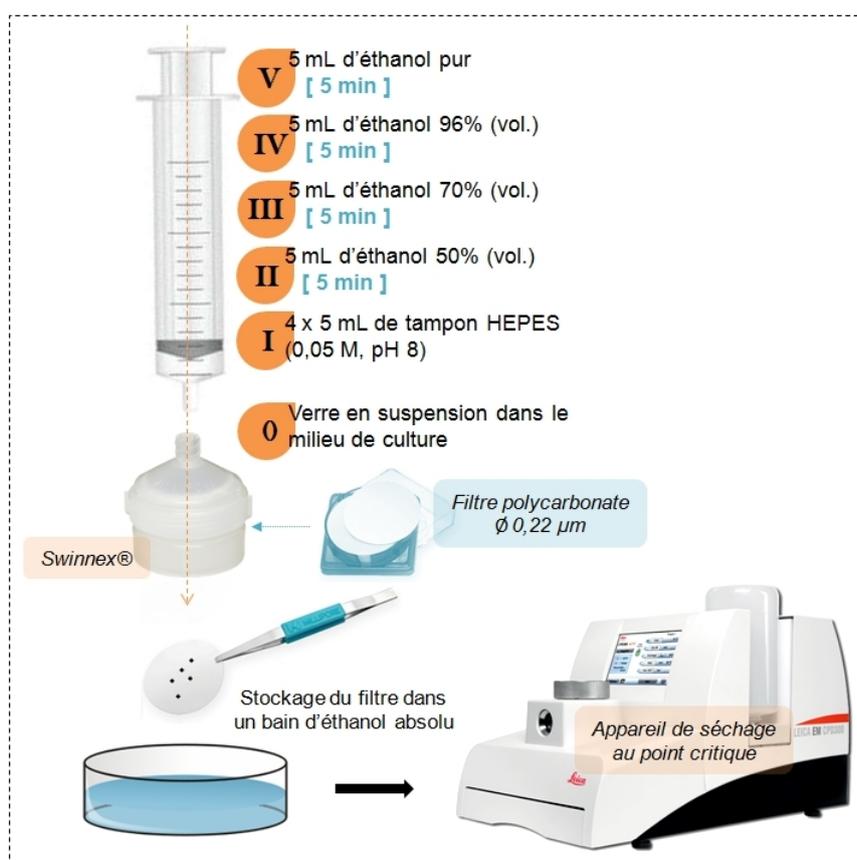


FIGURE 2.24: Protocole de séchage des échantillons de verre bioaltérés par contournement du point critique.

*Ablation laser couplée à une spectrométrie de masse à plasma induit*

Les surfaces des échantillons monolithiques MORB3, altérés de un à cinq mois à 45°C ont été analysées par ablation laser couplée à une spectrométrie de masse à plasma induit (LA-ICP-MS), dans un souci d'établir un protocole valide pour l'établissement de profils de composition verticaux (depuis la surface altérée jusqu'au verre sain) d'échantillons présentant une faible altération de surface.

**{ PRINCIPE } 2.11: Ablation laser couplée à une spectrométrie de masse à plasma induit**

La spectrométrie de masse permet de doser en routine un grand nombre d'éléments à des concentrations de l'ordre de la partie par milliard à billion en masse. Cette technique utilise le fait que des ions peuvent être séparés les uns des autres par application de champs électromagnétiques, en fonction de leur masse atomique et de leur charge électrique. Dans le cas de la spectrométrie de masse à plasma induit, les éléments constituant l'échantillon à analyser sont ionisés après passage dans un plasma d'argon et séparés en fonction de leur masse atomique et de leur composition isotopique.

Si la spectrométrie de masse est une technique souvent utilisée pour l'analyse de solutions très diluées, elle peut, lorsque couplée à un système d'ablation laser, être employée pour l'analyse d'échantillons solides (quantifications des teneurs en éléments majeurs et mineurs). Le principe de l'ablation laser est basé sur l'interaction entre un faisceau laser focalisé (longueur d'onde ultra-violette à infrarouge) et la surface d'un échantillon. Au point d'impact (quelques dizaine de  $\mu\text{m}$  à quelques  $\mu\text{m}$  de diamètre), le faisceau désagrège la matière et la sublime en un aérosol très fin de nanoparticules, qui peut ensuite être transmis à un spectromètre de masse pour une analyse quantitative.

Les analyses ont été réalisées à l'*University College London*, en collaboration avec Karen Hudson-Edwards et Martin Rittner (*Earth and Planetary Sciences*). L'équipement utilisé est un système d'ablation laser *New Wave NWR 193nm* couplé à une ICP-MS *Agilent 7700x*. Le choix des paramètres et l'optimisation du protocole de prélèvement par ablation laser seront détaillés dans le Chapitre 5.

**2.2.3 Bilan des échantillons altérés**

Les échantillons récupérés à l'issue des diverses expériences d'altération réalisées sont répertoriés dans la Figure 2.25. Les mentions "5 temps" ou "6 temps" signifient que les verres récupérés à chaque temps d'altération ont été conservés. La mention "1 temps" signifie que seul le verre récupéré en fin d'expérience a été conservé.

De manière générale, pour les expériences à court terme, les résultats exploités concerneront en particulier les expériences pratiquées sur les poudres. Au contraire, à plus long terme, les résultats présentés concerneront en majeure partie les expériences réalisées sur monolithes et en particulier les monolithes MORB3.

Les expériences en milieux de cultures impliquant des microorganismes sont exclusivement des expériences d'altération à court terme, maintenues pour les plus longues jusqu'à 25 jours.

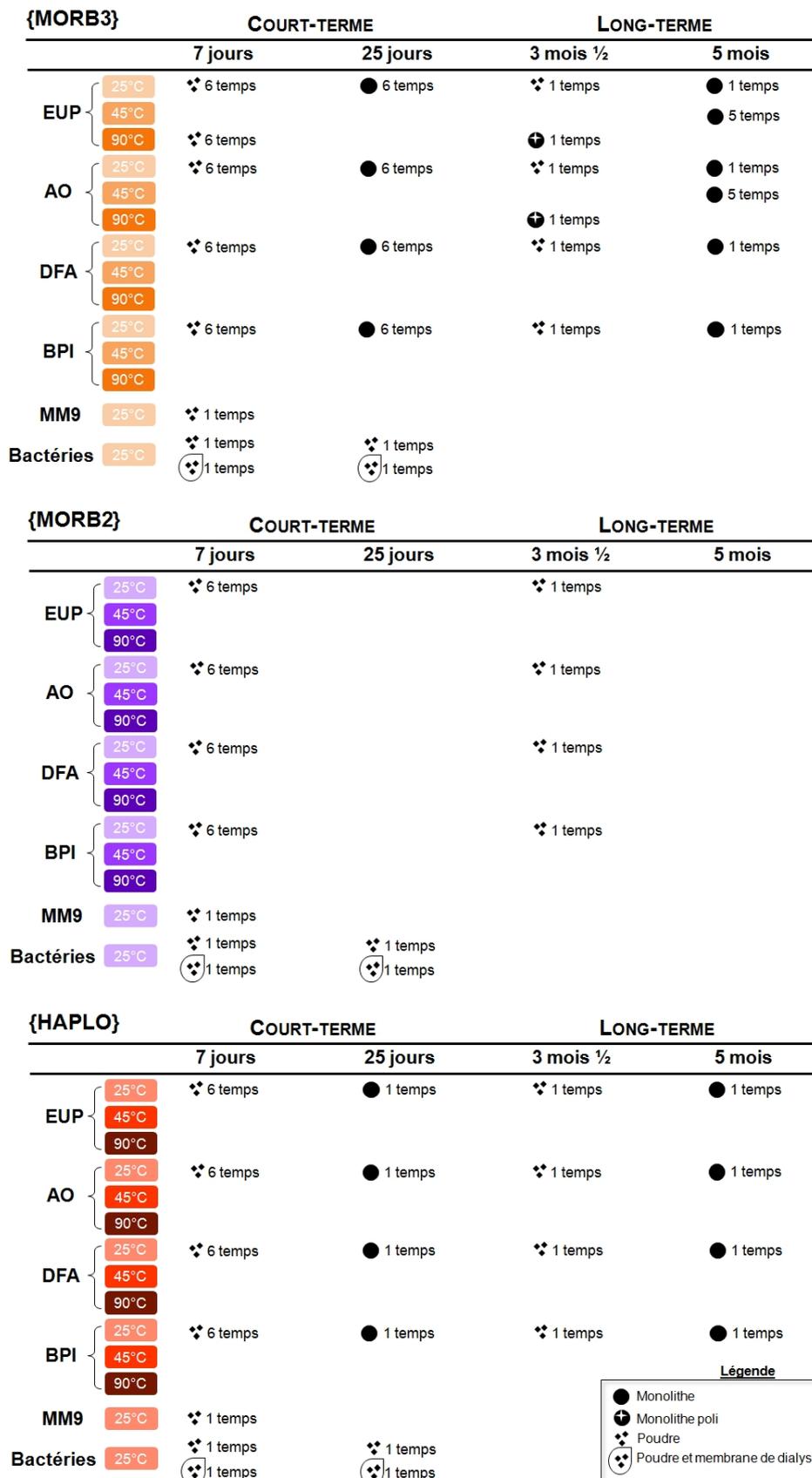


FIGURE 2.25: Bilan des échantillons altérés ayant été récupérés après les différentes séquences d'altération réalisées.

## Chapitre 3

# Mécanismes et cinétiques de dissolution en présence de ligands organiques

Ce chapitre est axé sur l'étude des mécanismes d'altération des trois verres basaltiques préparés, en conditions abiotiques et en présence de potentiels exsudats bactériens, ici les sidérophores. Le but de cette étude est de cibler les effets des ligands complexant le fer sur la dissolution des verres. En effet, il a été établi dès 1986 dans la littérature que la vitesse globale de dissolution de certains oxydes de fer ou d'aluminium, pouvait, de manière simplifiée, s'exprimer de la façon suivante :

$$R_T = R_H + R_L \quad (1)$$

Où  $R_T$  est la vitesse de dissolution globale du matériau,  $R_H$  est la vitesse de dissolution en eau pure (représentant notamment l'effet des protons de la solution sur la dissolution du verre) et enfin  $R_L$  correspond à la contribution des ligands (Furrer et Stumm, 1986).

Cette expression a été relayée et/ou étayée par de nombreuses études (Bennett *et al.*, 1988; Welch et Ullman, 1993; Franklin *et al.*, 1994; Holmen et Casey, 1996; Drever et Stillings, 1997; Stillings *et al.*, 1998; Kalinowski *et al.*, 1999; Cheah *et al.*, 2003; Rosenberg et Maurice, 2003; Kraemer, 2004; Cama et Ganor, 2006; Ferreira et Bussetti, 2007; Rozalen *et al.*, 2013), attestant notamment de l'effet catalytique des acides organiques et des sidérophores sur la dissolution de divers silicates (hornblende, feldspaths, quartz, phyllosilicates, smectites, argiles...) ou oxydes (hématite, goethite...). Les verres basaltiques, moins étudiés dans ce contexte précis de l'altération, pourraient eux aussi être sensibles à l'action de ces ligands, d'autant plus qu'ils sont des matériaux riches en fer, une des sources nutritives privilégiées des microorganismes et cibles idéales des sidérophores.

Vont donc être présentés, dans les paragraphes qui suivent, les résultats d'expériences d'altération réalisées en conditions abiotiques et en présence de trois molécules complexant en outre le fer : l'acide oxalique (AO), la desferrioxamine-B (DFA) et la 2,2'-bipyridyle (BPI). Ces expériences ont été réalisées à 25°C, dans des solutions d'eau ultrapure (EUP) dont le pH a été tamponné à 6,5. L'intérêt d'un maintien du pH proche de la neutralité est notamment, on le rappelle, de minimiser l'effet des protons de la solution sur la dissolution du verre (représenté par le terme  $R_H$  dans l'équation (1)) et d'exacerber en contrepartie l'impact des sidérophores ( $R_L$ ). On rappelle que les mécanismes de dissolution en eau pure, dans ces conditions expérimentales, sont décrits dans le Chapitre 1 (§1.2.1).

On s'attachera à dégager les tendances générales des profils de dissolution des trois verres synthétisés, pour une meilleure compréhension des mécanismes intervenant dans des systèmes plus complexes impliquant le vivant et qui seront étudiés dans le chapitre suivant. On discutera notamment de l'implication du Fe(III) et de l'aluminium (formateurs du réseau du verre), mais aussi du Fe(II), du calcium et du magnésium (modificateurs de réseau) dans ces mécanismes de dissolution en présence de ligands organiques. La question de la comparaison aux systèmes naturels sera aussi soulevée.

Une partie des résultats présentés dans ce chapitre a été publiée dans le journal *Geochimica et Cosmochimica Acta* en avril 2015. L'article correspondant a été inséré en fin de chapitre.

## 3.1 Résultats

Comme expliqué dans le Chapitre 2, le suivi des valeurs du pH a été fait durant toute la durée des expériences. Ce suivi nous a montré que le pH variait de 6,40 à 6,83 dans les solutions d'EUP, d'AO et de DFA. Nous en concluons que le pH est resté stable dans ces solutions. Le contrôle du pH dans les tubes contenant les solutions de BPI a toutefois révélé des valeurs comprises entre 7,02 et 7,28.

### 3.1.1 Concentrations et pertes de masse normalisées

Les concentrations des éléments relâchés en solution sont données dans les Tableaux 3.1 (MORB3), 3.2 (MORB2) et 3.3 (HAPLO).

De l'analyse des tableaux, on retiendra que les concentrations en silicium (< 1 mg/L)

	t	Si		Al		Fe		Ca		Mg	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
AO	8H	26,1±2,6	32,2±2,6	13,6±0,3	17,5±0,3	36,2±3,0	42,3±3,0	22,5±8,0	25,7±8,0	35,9±3,6	25,5±3,6
	1J	82,0±1,2	92,2±1,2	31,5±0,3	29,2±0,3	52,5±0,9	57,9±0,9	41,5±8,0	49,9±8,0	44,7±3,6	42,0±3,6
	2J	120,1±1,7	84,5±1,2	63,4±1,0	21,1±0,3	88,7±0,9	43,9±0,9	88,1±10,7	64,9±10,7	53,6±2,3	40,3±3,6
	3J	158,1±1,7	155,8±1,7	56,3±1,0	59,6±2,5	70,9±0,9	81,3±0,9	62,6±2,7	53,5±10,7	57,4±2,3	62,6±2,3
	4J	179,4±1,7	191,7±1,7	73,6±1,0	72,4±1,0	92,1±0,9	104,1±0,9	33,0±8,0	36,7±8,0	63,3±2,3	72,5±2,3
7J	351,0±1,7	292,6±2,0	150,0±1,8	106,2±1,0	152,1±0,9	141,6±0,9	49,4±8,0	48,1±8,4	104,5±3,6	97,6±2,3	
DFA	8H	29,1±2,6	32,9±2,6	2,7±0,3	10,9±0,3	29,8±3,0	28,1±3,0	46,2±8,0	57,0±10,7	34,9±3,6	37,0±3,6
	1J	54,2±1,2	59,1±1,2	27,3±0,3	32,3±0,3	58,2±0,9	57,1±0,9	75,5±10,7	105,4±8,2	49,4±3,6	52,3±2,3
	2J	97,9±1,2	68,6±1,2	55,6±1,0	45,5±0,3	90,8±0,9	110,2±0,9	116,5±8,2	108,5±8,2	70,2±2,3	60,0±2,3
	3J	143,4±1,7	132,0±1,7	70,0±1,0	67,6±1,0	109,8±0,9	107,0±0,9	136,8±8,2	133,2±8,2	78,7±2,3	81,0±2,3
	5J	245,6±2,0	203,3±2,0	110,7±1,8	96,3±1,0	152,2±0,9	153,3±0,9	178,5±8,2	224,8±8,2	102,6±3,6	103,3±3,6
7J	296,5±2,0	315,3±1,7	125,7±1,8	139,0±1,8	182,1±0,9	200,9±2,0	206,4±8,2	263,0±8,2	113,5±3,6	136,1±3,6	
BPI	8H	37,7±2,6	26,8±2,6	0,3±0,3	0,4±0,3	10,1±3,0	4,7±3,0	45,6±8,0	24,0±8,0	47,7±3,6	41,7±3,6
	1J	50,9±1,2	68,4±1,2	0,0±0,3	7,8±0,3	12,5±3,0	7,9±3,0	71,6±10,7	90,4±10,7	58,6±2,3	65,1±2,3
	2J	93,4±1,2	85,7±1,2	7,6±0,3	8,2±0,3	20,5±3,0	12,6±3,0	118,0±8,2	125,3±8,2	76,1±2,3	78,5±2,3
	3J	113,6±1,7	107,0±1,7	12,5±0,3	10,4±0,3	23,2±3,0	21,4±3,0	135,3±8,2	151,9±8,6	84,1±2,3	87,9±2,3
	5J	180,8±1,7	150,2±1,7	27,4±0,3	15,2±0,3	30,5±3,0	40,4±3,0	171,0±8,2	171,8±8,2	97,9±2,3	96,0±2,3
7J	157,9±1,7	165,6±1,7	22,2±0,3	12,8±0,3	36,5±3,0	54,4±0,9	123,5±8,2	190,3±8,2	84,1±2,3	99,5±2,3	
EUP	8H	9,5±2,6	2,3±2,6	1,3±0,3	0,1±0,3	n.d.	n.d.	20,2±8,0	21,6±8,0	19,6±3,6	21,3±3,6
	1J	23,2±2,6	39,3±2,6	0,9±0,3	1,4±0,3	n.d.	n.d.	36,6±8,0	32,4±8,0	23,9±3,6	29,6±3,6
	2J	35,7±2,6	50,7±1,2	3,2±0,3	1,9±0,3	n.d.	n.d.	55,9±10,7	58,7±10,7	28,2±3,6	26,2±3,6
	3J	54,5±1,2	86,6±1,2	19,2±0,3	29,8±0,3	n.d.	n.d.	46,6±8,0	78,5±10,7	31,8±3,6	32,5±3,6
	4J	66,3±1,2	73,8±1,2	8,6±0,3	27,0±0,3	n.d.	n.d.	65,6±10,7	62,9±10,7	34,9±3,6	34,0±3,6
7J	84,7±1,2	102,9±1,7	29,2±0,3	37,6±0,3	n.d.	n.d.	75,8±10,7	77,6±10,7	32,5±3,6	41,8±3,6	

Tableau 3.1: Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments relâchés en solution (AO, DFA, BPI et EUP) pour le verre MORB3, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes indiquées correspondent aux erreurs analytiques dont le calcul est explicité dans le Chapitre 2.

	t	Si		Al		Fe		Ca		Mg	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
AO	8H	26,1±2,6	22,2±2,6	17,9±3,0	24,9±0,3	39,8±0,3	35,9±3,0	81,1±10,7	91,0±10,7	27,4±3,6	29,5±3,6
	1J	67,5±1,2	66,8±1,2	34,5±0,3	52,0±1,0	53,8±0,9	74,1±0,9	181,9±8,2	190,8±8,2	39,7±3,6	51,8±2,3
	2J	126,4±1,7	166,2±1,7	45,4±0,3	61,4±0,3	77,7±0,3	87,0±0,9	198,7±8,2	137,3±8,2	52,5±2,3	65,1±2,3
	3J	161,9±1,7	285,2±2,0	60,1±1,0	103,6±1,8	95,0±0,9	104,0±0,9	133,8±8,2	128,4±8,2	66,4±2,3	68,2±2,3
	4J	262,8±2,0	188,3±1,7	62,3±1,0	76,3±1,0	87,3±0,9	82,2±0,9	113,6±8,2	79,4±10,7	81,2±2,3	72,4±2,3
	7J	375,3±2,0	410,2±0,3	132,2±1,8	135,2±1,8	174,7±0,9	155,1±0,3	155,9±8,2	124,6±8,2	116,6±3,6	121,1±3,6
DFA	8H	36,0±2,6	23,6±2,6	10,3±0,3	7,7±0,3	12,8±3,0	18,5±3,0	50,9±10,7	40,8±8,0	15,9±3,6	18,0±3,6
	1J	54,4±1,2	50,2±1,2	21,1±0,3	29,2±0,3	38,6±3,0	43,6±3,0	95,4±0,3	69,1±10,7	17,9±0,3	33,7±3,6
	2J	77,8±1,2	61,8±1,2	32,9±0,3	33,0±0,3	58,3±0,9	55,9±0,9	97,6±10,7	82,2±10,7	40,1±3,6	37,3±3,6
	3J	75,7±1,2	79,2±1,2	42,7±0,3	52,9±1,0	57,0±0,9	68,6±0,9	106,4±0,3	92,5±10,7	40,1±3,6	44,5±3,6
	5J	119,8±1,7	112,4±1,7	53,9±1,0	57,9±1,0	71,4±0,9	73,7±0,9	134,9±8,2	127,3±8,2	49,6±3,6	49,0±3,6
	7J	165,6±1,7	147,6±1,7	59,3±1,0	66,4±1,0	89,5±0,9	87,6±0,9	107,5±8,2	130,4±8,2	57,3±2,3	55,4±2,3
BPI	8H	12,2±2,6	37,0±2,6	6,6±0,3	5,4±0,3	19,3±3,0	16,58±3,0	74,9±10,7	78,2±10,7	23,5±3,6	25,9±3,6
	1J	27,4±2,6	57,5±1,2	14,4±0,3	15,4±0,3	30,2±3,0	26,5±3,0	92,7±10,7	97,1±10,7	29,8±3,6	33,0±3,6
	2J	49,1±2,6	78,2±1,2	17,8±0,3	22,5±0,3	38,5±3,0	33,0±3,0	112,3±8,2	127,1±8,2	32,9±3,6	40,6±3,6
	3J	56,0±1,2	87,1±1,2	21,4±0,3	37,0±0,3	45,2±3,0	46,5±3,0	120,6±8,2	132,0±8,2	35,0±3,6	42,0±3,6
	4J	96,2±1,2	123,3±1,7	39,3±0,3	51,4±1,0	50,3±0,9	57,8±0,9	169,2±8,2	159,1±8,2	45,5±3,6	47,3±3,6
	7J	119,1±1,7	142,2±1,7	39,1±0,3	58,2±1,0	76,3±0,9	79,8±0,9	134,1±8,2	124,1±8,2	50,8±2,3	54,2±2,3
EUP	8H	33,2±2,6	32,0±2,6	14,1±0,3	15,2±0,3	0,51±3,0	19,7±3,0	56,9±10,7	52,5±10,7	36,0±3,6	23,9±3,6
	1J	45,4±2,6	47,4±2,6	13,7±0,3	21,1±0,3	11,0±3,0	23,4±3,0	69,6±10,7	63,7±10,7	38,2±3,6	29,9±3,6
	2J	62,3±1,2	48,6±2,6	16,8±0,3	22,1±0,3	3,3±0,4	1,4±3,0	76,1±10,7	77,3±10,7	41,4±3,6	32,4±3,6
	3J	76,3±1,2	98,8±1,2	18,5±0,3	42,8±0,3	4,9±3,0	10,3±3,0	102,7±8,2	122,2±8,2	46,7±3,6	46,7±3,6
	4J	83,3±1,2	130,6±1,7	24,2±0,3	51,7±1,0	9,9±3,0	3,2±3,0	105,0±8,2	97,3±10,7	52,5±2,3	56,5±2,3
	7J	123,1±1,7	165,5±1,7	29,6±0,3	47,7±0,3	6,5±3,0	3,2±3,0	175,6±8,2	173,5±8,2	78,3±3,6	70,6±2,3

Tableau 3.2: Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments relâchés en solution (AO, DFA, BPI et EUP) pour le verre MORB2, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes indiquées correspondent aux erreurs analytiques dont le calcul est explicité dans le Chapitre 2.

	t	Si		Al		Ca		Mg	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
AO	8H	24,1±2,6	31,3±2,6	22,1±0,3	19,4±0,3	25,3±8,0	20,6±8,0	61,4±2,3	41,8±3,6
	1J	49,7±2,6	60,1±1,2	41,0±0,3	38,4±0,3	47,1±8,0	50,9±10,7	85,4±2,3	69,8±2,3
	2J	102,5±1,7	189,7±1,7	68,0±1,0	116,8±1,8	79,2±10,7	95,0±10,7	125,1±3,6	168,0±3,6
	3J	175,4±1,7	121,4±1,7	107,3±1,8	67,9±1,0	113,1±8,2	116,7±8,2	164,6±3,6	110,8±3,6
	4J	183,6±1,7	132,7±1,7	96,4±1,0	70,9±1,0	124,8±8,2	126,5±8,2	158,0±3,6	110,0±3,6
	7J	355,0±1,7	436,6±1,7	179,1±1,8	200,5±1,8	138,9±8,2	151,0±8,2	240,7±6,7	262,4±6,7
DFA	8H	15,0±2,6	19,8±2,6	4,9±0,3	7,9±0,3	25,3±8,0	11,3±8,0	45,1±3,6	46,2±3,6
	1J	31,1±2,6	31,1±2,6	24,8±0,3	18,7±0,3	47,6±8,0	57,8±10,7	71,1±2,3	64,0±2,3
	2J	61,8±1,8	52,7±1,2	45,6±0,3	37,9±0,3	68,4±10,7	62,1±10,7	93,4±2,3	82,2±2,3
	3J	88,0±1,2	-	57,7±1,0	-	-	-	106,0±3,6	-
	4J	169,8±1,7	150,6±1,7	87,3±1,0	83,0±1,0	-	126,5±8,2	136,0±3,6	139,2±3,6
	7J	202,4±1,7	169,0±1,7	96,9±1,0	91,0±1,0	118,0±8,2	123,8±8,2	145,3±3,6	184,5±3,6
BPI	8H	17,9±2,6	26,2±2,6	2,2±0,3	3,4±0,3	21,1±8,0	25,4±8,0	51,8±2,36	46,8±3,6
	1J	28,7±2,6	35,3±2,6	2,7±0,3	2,6±0,3	33,9±8,06	38,8±8,0	65,5±2,3	53,2±2,3
	2J	46,8±2,6	63,1±1,2	6,7±0,3	8,1±0,3	46,1±8,0	44,1±8,0	80,2±2,3	75,9±2,3
	3J	67,3±1,2	70,0±1,2	15,8±0,3	14,1±0,3	49,3±8,0	47,8±8,0	88,1±2,3	73,6±2,3
	5J	126,6±1,7	96,1±1,2	38,0±0,3	17,3±0,3	66,6±10,7	52,9±10,7	106,8±3,6	86,5±2,3
	7J	107,8±1,7	115,5±1,7	23,3±0,3	18,8±0,3	58,7±10,7	56,0±10,7	102,2±3,6	100,8±3,6
EUP	8H	21,2±2,6	11,1±2,6	2,1±0,3	0,1±0,3	9,2±8,0	10,3±8,0	34,0±3,6	36,6±3,6
	1J	31,4±2,6	34,5±2,6	1,5±0,3	6,9±0,3	21,0±8,0	25,5±8,0	47,0±3,6	54,0±2,3
	2J	49,2±2,6	49,7±2,6	2,3±0,3	7,1±0,3	35,4±8,0	47,5±8,0	67,9±2,3	60,3±2,3
	3J	64,4±1,2	68,6±1,2	3,8±0,3	15,3±0,3	-	58,4±10,7	75,9±2,3	70,8±2,3
	4J	88,5±1,2	63,6±1,2	11,4±0,3	15,1±0,3	-	63,3±10,7	85,2±2,3	80,1±2,3
	7J	152,9±1,7	107,4±1,7	26,8±0,3	28,2±0,3	68,7±10,7	75,5±10,7	140,3±3,6	134,9±3,6

Tableau 3.3: Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments relâchés en solution (AO, DFA, BPI et EUP) pour le verre HAPLO, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes indiquées correspondent aux erreurs analytiques dont le calcul est explicité dans le Chapitre 2.

dans toutes les solutions, après sept jours d'expérience, sont largement inférieures à celles caractérisant une solution à l'équilibre avec la silice amorphe (54 mg/L) ou le quartz (5 mg/L) Gunnarson et Annorsson (2000). Ce résultat atteste de l'état *loin de l'équilibre* de la réaction de dissolution.

Les pertes de masse normalisées relatives aux éléments silicium, aluminium, fer, magnésium et calcium, calculées à partir des valeurs des concentrations données plus haut, ont été tracées en fonction du temps d'altération et sont représentées sur les Figures 3.1 (MORB3), 3.2 (MORB2) et 3.3 (HAPLO).

Dans la plupart des cas, les valeurs des NLs augmentent avec le temps, quels que soient le cation métallique, le ligand ou la composition du verre considérés. Cette augmentation est linéaire au cours des deux ou trois premiers jours d'expérience, témoignant d'une vitesse de dissolution constante. Les profils de dissolution ont de plus une allure similaire d'un verre à un autre.

Pour chaque élément, les valeurs des NLs les plus élevées, après sept jours d'altération, sont systématiquement observées en présence d'AO ou de DFA. Pour les solutions de DFA, on remarque une diminution progressive des pentes des courbes avec l'avancée de la réaction. En présence d'AO, une telle diminution n'est pas observée, toutefois on constate de manière récurrente une discontinuité sur les courbes de dissolution du fer et de l'aluminium après deux jours (MORB3, première série de répliqués et HAPLO, deuxième série de répliqués), un jour (MORB3, deuxième série de duplicats) ou trois jours (HAPLO, deuxième série de duplicats et MORB2). En dépit de ces décrochements, les NLs continuent d'augmenter, avec une pente égale à celle observée en début d'expérience, jusqu'à la fin des tests de dissolution. Ces discontinuités pourraient être dues à la précipitation, locale, de produits secondaires d'altération. Les couches d'altération potentiellement formées à ce stade de l'expérience étant très fines (leur épaisseur pouvant aller de quelques dizaines à quelques centaines d'Angström, en se fiant à des calculs faits à partir de la chimie de la solution), de telles phases sont très difficilement détectables et caractérisables. En présence d'AO, les NLs du calcium augmentent seulement au cours des deux premiers jours, puis diminuent brutalement. Ceci est caractéristique, d'après Welch et Ullman (1992), de la formation de précipités d'oxalates de calcium.

Les plus faibles valeurs des NLs après sept jours ont été calculées pour les expériences en EUP et BPI, et ceci est valable pour tous les éléments et toutes les compositions de verre. Dans les solutions d'EUP, le fer est systématiquement sous les limites de détection de l'appareil (2  $\mu\text{g/L}$ ). Ceci peut être lié à la très faible solubilité de cet élément, observée à un pH

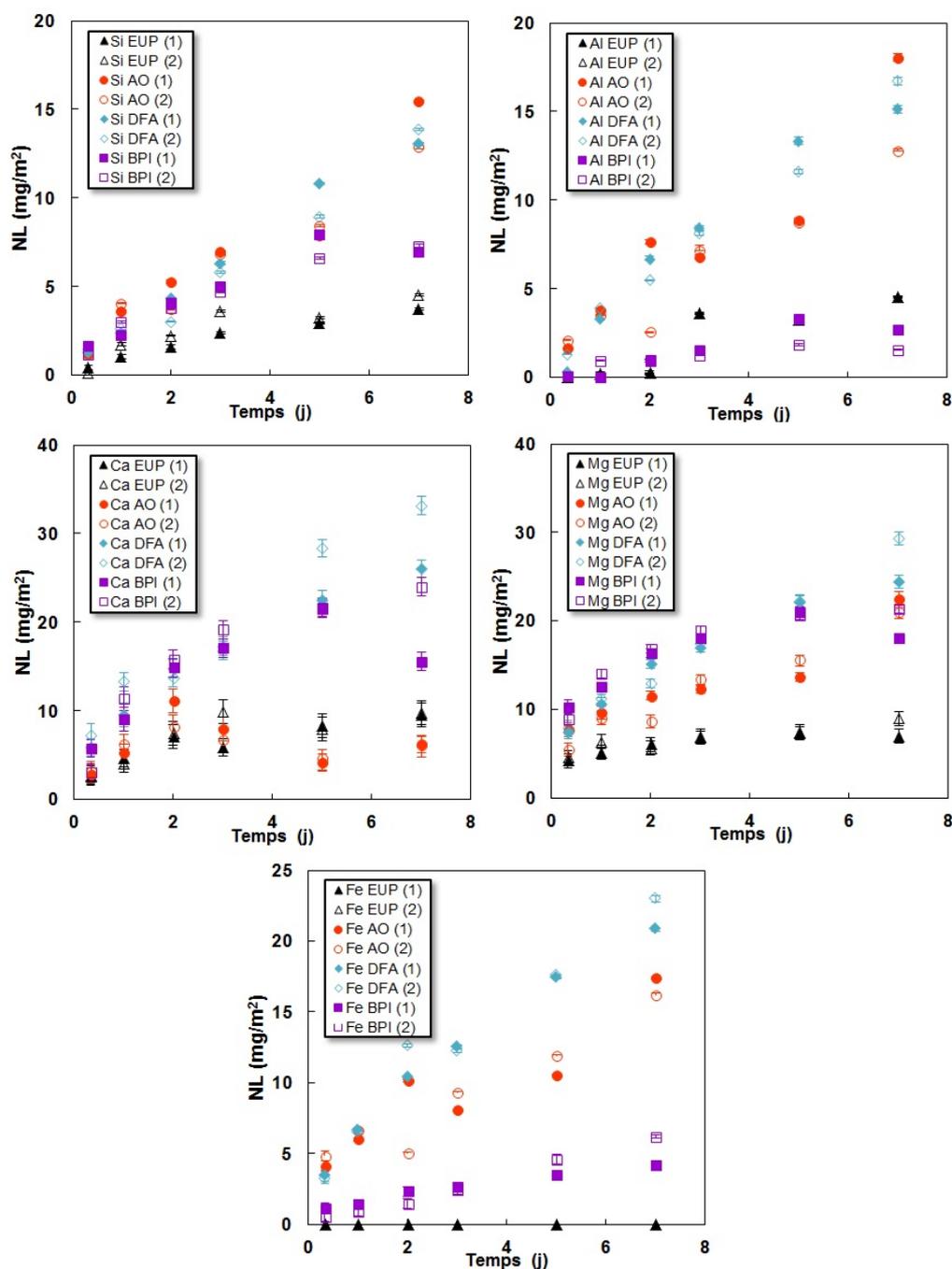


FIGURE 3.1: Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg du verre MORB3 en fonction du temps d'altération. Les barres d'erreur représentées sont les barres d'erreur analytiques, dont le calcul est explicité dans le Chapitre 2. Les symboles remplis (respectivement vides) matérialisent la première (respectivement deuxième) série de duplicats.

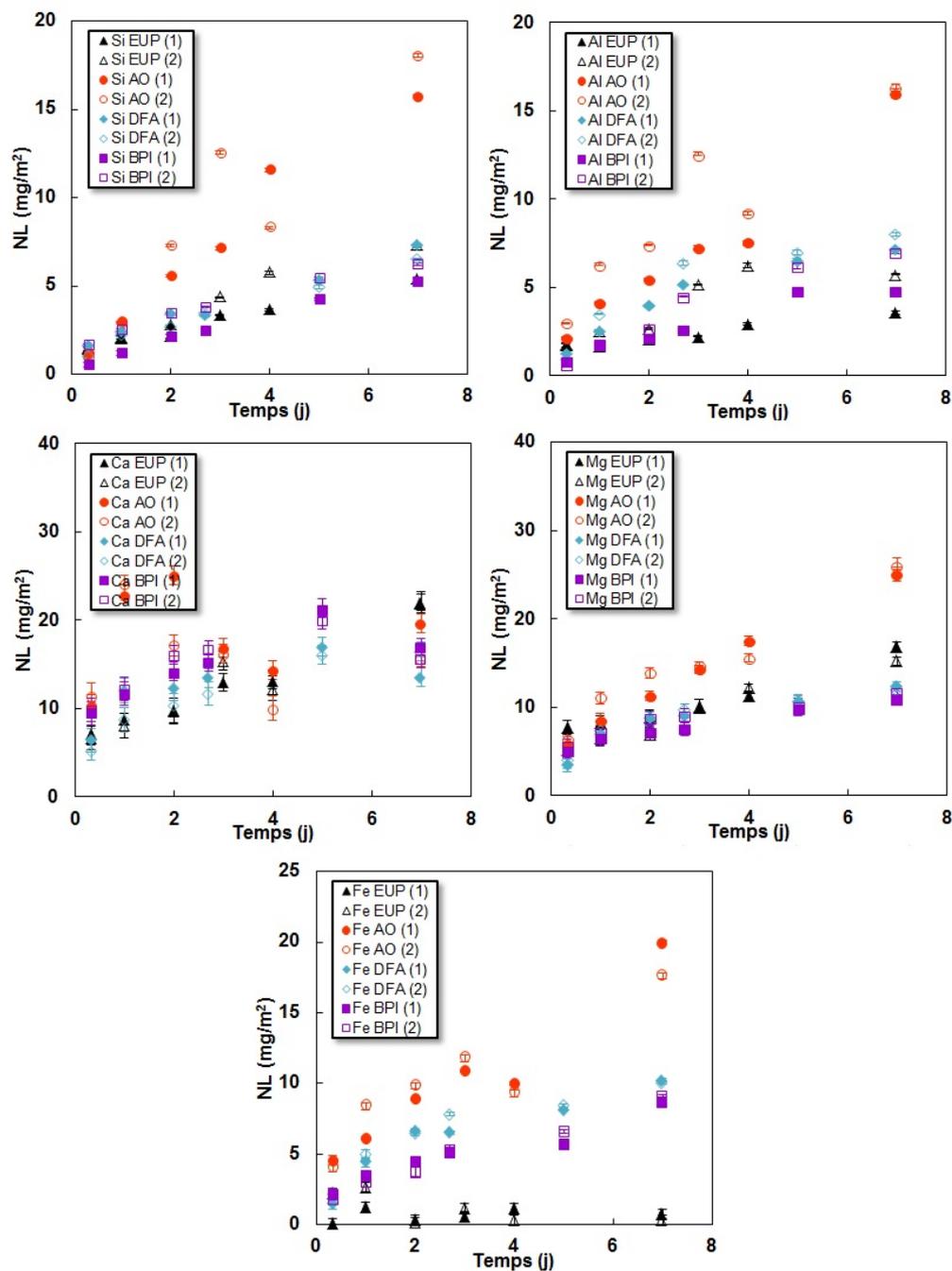


FIGURE 3.2: Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg du verre MORB2 en fonction du temps d'altération. Les barres d'erreur représentées sont les barres d'erreur analytiques, dont le calcul est explicite dans le Chapitre 2. Les symboles remplis (respectivement vides) matérialisent la première (respectivement deuxième) série de duplicats.

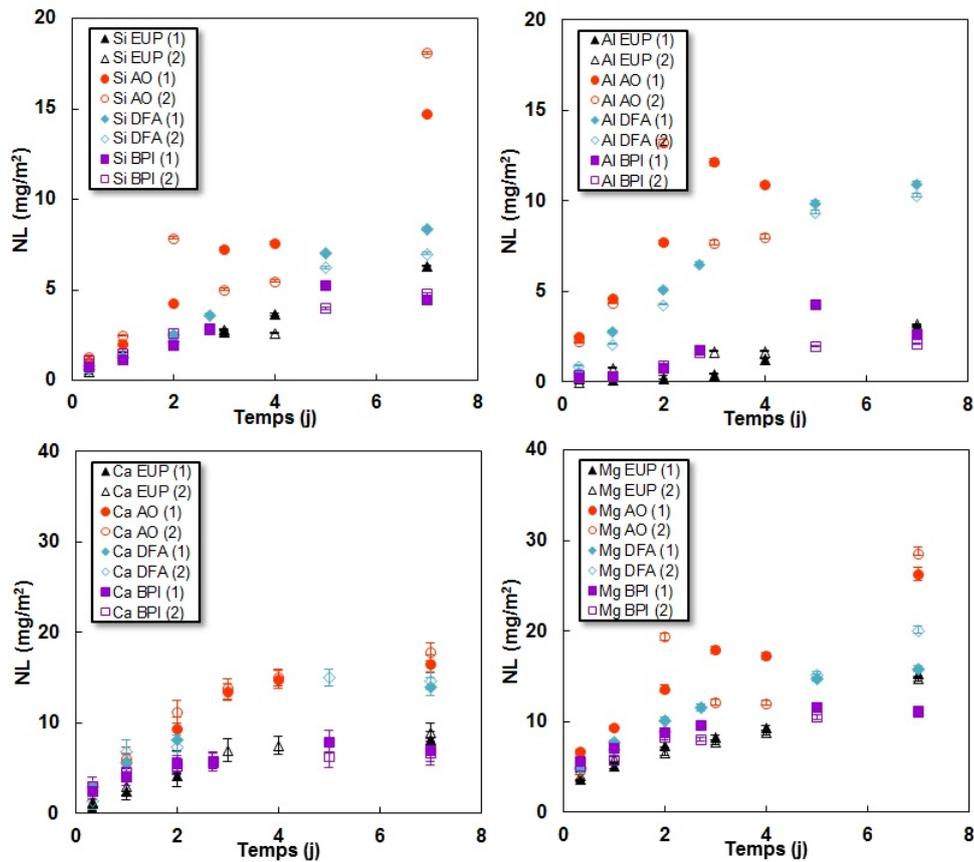


FIGURE 3.3: Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al, Ca et Mg du verre HAPLO en fonction du temps d’altération. Les barres d’erreur représentées sont les barres d’erreur analytiques, dont le calcul est explicité dans le Chapitre 2. Les symboles remplis (respectivement vides) matérialisent la première (respectivement deuxième) série de duplicats.

proche de celui de nos expériences ( $10^{-18}$  M (Kiss et Farkas, 1998)) et à la précipitation de cet élément en phases insolubles. Dans les solution de BPI, on constate un déclin progressif des pentes des courbes obtenues avec l’avancée de l’expérience. Ces pentes sont même négatives entre quatre et sept jours d’expérience pour la première série de répliants MORB et pour le verre HAPLO.

Si les résultats, en terme de concentrations, ne sont pas, pour des cas isolés, rigoureusement superposables d’une série de répliants à une autre (notamment pour les points obtenus en fin d’expérience), les très fortes similarités d’une série de répliants à une autre attestent néanmoins de la reproductibilité des mécanismes impliqués. Compte-tenu de cette reproductibilité, les données obtenues et les résultats en découlant seront systématiquement moyennés dans la suite du manuscrit.

		Si	Al	Fe	Ca	Mg
<b>MORB3</b>	EUP	0,5±0,1	0,5±0,1	→ 0	1,6±0,6	0,9±0,0
	BPI	1,5±0,1	0,6±0,1	0,9±0,1	5,5±0,2	3,7±0,1
	AO	2,0±0,0	3,6±0,1	3,6±0,0	5,0±0,0	2,3±0,4
	DFA	2,1±0,1	3,4±0,2	3,8±0,1	4,9±0,4	4,1±0,1
<b>MORB2</b>	EUP	0,8±0,2	0,5±0,2	→ 0	2,2±0,0	1,5±0,1
	BPI	0,8±0,1	1,0±0,6	1,2±0,2	2,8±0,2	0,9±0,0
	AO	2,2±0,2	1,7±0,1	1,9±0,3	n. calc.	2,3±0,2
	DFA	0,9±0,1	1,0±0,1	1,2±0,1	2,5±0,1	1,2±0,1
<b>HAPLO</b>	EUP	0,8±0,0	0,4±0,1	-	1,0±0,4	1,5±0,1
	BPI	0,9±0,0	0,6±0,0	-	1,4±0,2	1,7±0,1
	AO	2,0±0,1	3,6±0,3	-	3,6±0,3	4,2±0,2
	DFA	1,3±0,0	2,5±0,2	-	2,9±0,0	2,7±0,2

Tableau 3.4: Vitesses initiales de dissolution ( $\text{mg}/\text{m}^2/\text{j}$ ) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg relâchés depuis les verres MORB3 (a), MORB2 (b) et HAPLO (c), en fonction de la chimie des solutions altérantes. Les incertitudes reportées sont égales à  $\pm$  SD, où SD est la valeur de l'écart-type entre les valeurs des vitesses calculées pour chaque série de réplicats.

### 3.1.2 Vitesses initiales

Les vitesses initiales de dissolution des trois verres étudiés ont été calculées pour chaque condition expérimentale et sont consignées dans le Tableau 3.4 tandis que les tendances dégagées sont mises en valeur dans la Figure 3.4. La valeur de la vitesse de dissolution du silicium, calculée pour le verre MORB3 immergé dans une solution d'EUP, est du même ordre de grandeur que celle déterminée par Gislason et Oelkers (2003) ( $0,1 \text{ mg}/\text{m}^2/\text{j}$ ) à pH 6,75 et  $30^\circ\text{C}$ . Elle est également proche de celles mesurées par Stockmann *et al.* (2012) ( $0,04 \text{ mg}/\text{m}^2/\text{j}$ ), Galeczka *et al.* (2014) ( $0,6 \text{ mg}/\text{m}^2/\text{j}$ ), respectivement à pH 6,4 et  $25^\circ\text{C}$  et pH 6,7 et  $22^\circ\text{C}$ . A noter que la vitesse initiale de dissolution d'un verre MORB3 immergés à  $90^\circ\text{C}$  dans une solution d'EUP a également été calculée et comparée aux données de la littérature, pour des études en EUP et à un pH proche de la neutralité. Les profils de dissolution (NLs en fonction du temps) et les valeurs des vitesses (calculées d'après nos expériences et trouvées dans la littérature) sont respectivement donnés en Annexe dans les Figure 6.12 et Tableau 6.4. Là encore, nos données recoupent celles de la littératures en appartenant au même ordre de grandeur. Notons qu'il existe des différences significatives entre la plupart des vitesses de dissolution des verres basaltiques reportées dans la littérature, principalement en raison de la difficulté à estimer la surface réactive des échantillons mis en jeu (et notamment du choix entre surface géométrique ou spécifique) ou encore de la variabilité des paramètres expérimentaux d'une étude à une autre, tels que le pH, la température ou encore la chimie de la solution altérante (Daux *et al.*, 1997; Techer *et al.*, 2000; Wolff-Boenisch *et al.*, 2011).

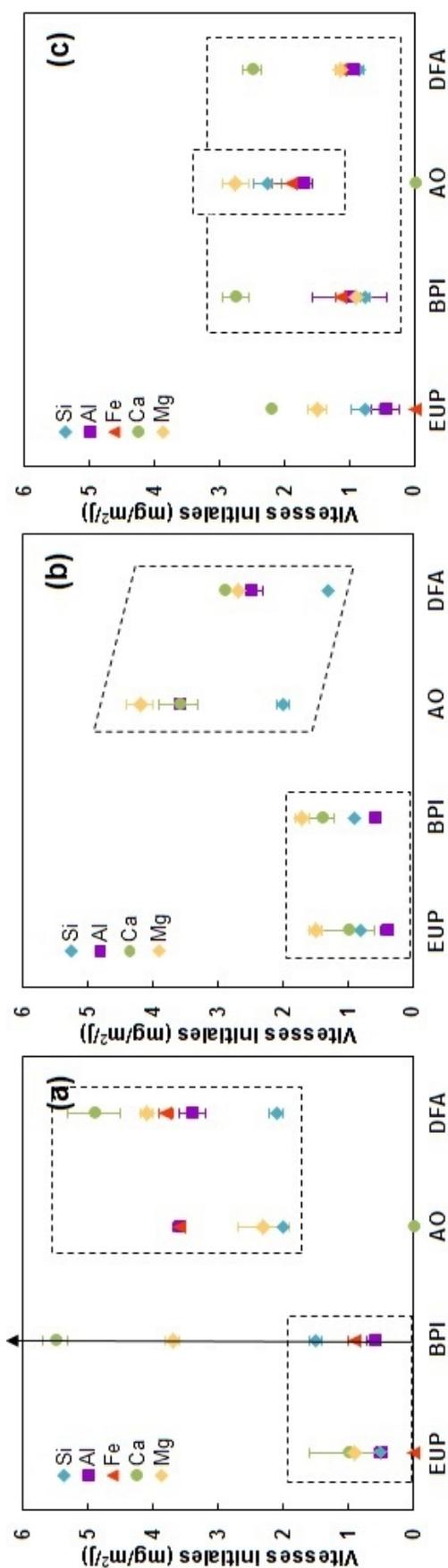


FIGURE 3.4: Vitesses initiales de dissolution ( $\text{mg}/\text{m}^2/\text{j}$ ) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg des verres MORB3, HAPLO et MORB2. Les barres d'erreurs représentent l'écart-type entre les valeurs des vitesses calculées pour chaque série de répliquats. Les délimitations en pointillés font apparaître des similarités en termes de cinétiques de dissolution (a) entre expériences en solutions d'EUP et de DFA. Elles attestent aussi d'une accélération entre expériences en solutions d'EUP et de BPI, (c) entre expériences en solutions de BPI et de DFA. Elles attestent aussi d'une accélération de la réaction de dissolution (b) du verre HAPLO en présence d'AO par rapport aux expériences en solution de DFA et (c) du verre MORB2 en présence d'AO par rapport aux expériences en solution de BPI ou de DFA. La flèche représentée en (a) matérialise l'augmentation notable des vitesses de dissolution associées au calcium et au magnésium en solution de BPI, par rapport à celles calculées en EUP.

Dans le cas du verre MORB3, l'AO et la DFA ont un effet comparable sur les vitesses initiales de dissolution, à savoir que leur présence en solution entraîne la multiplication, par un facteur au moins égal à quatre, des vitesses obtenues dans les expériences en EUP. En présence de ces ligands, la dissolution est caractérisée par un relâchement rapide en solution du calcium et du magnésium (dans la plupart des cas les vitesses correspondantes sont  $> 4,0 \text{ mg/m}^2/\text{j}$ ) mais aussi du fer et de l'aluminium (autour de  $3,5 \text{ mg/m}^2/\text{j}$ ). Dans ces solutions, le silicium est l'élément dont la vitesse de relâchement est la plus faible ( $2,0 \text{ mg/m}^2/\text{j}$ ). Les vitesses initiales de dissolution du verre MORB3 en présence de BPI sont comparables à celles calculées en EUP, c'est-à-dire en l'absence de ligands organiques. Les relâchements de l'aluminium et du fer dans ces conditions sont lents. Le calcium et le magnésium sont toutefois relâchés bien plus rapidement qu'en EUP (jusqu'à  $5,5 \text{ mg/m}^2/\text{j}$  contre  $1,0 \text{ mg/m}^2/\text{j}$ ).

Dans le cas du verre HAPLO, les vitesses initiales de dissolution calculées sont équivalentes en solution d'EUP et de BPI, quel que soit l'élément considéré. Dans ces solutions, le calcium et le magnésium sont les éléments dont les départs sont les plus rapides ( $1,7 \text{ mg/m}^2/\text{j}$ ). Quant au silicium et à l'aluminium, ils sont caractérisés par les plus faibles valeurs des vitesses calculées (inférieures à  $1 \text{ mg/m}^2/\text{j}$ ). En présence de DFA, on constate que les vitesses obtenues sont systématiquement plus faibles qu'en présence d'AO. Dans ces solutions, le magnésium, le calcium et l'aluminium sont les éléments relâchés le plus rapidement, à des vitesses proches (oscillant autour de  $3,5 \text{ mg/m}^2/\text{j}$  pour l'AO et  $2,5 \text{ mg/m}^2/\text{j}$  pour la DFA) alors que le silicium est l'élément le plus lent à partir en solution.

Pour le verre MORB2, les vitesses initiales en solution d'EUP sont équivalentes à celles calculées pour les deux autres verres. En présence d'AO, ces vitesses augmentent nettement : elles sont multipliées par deux pour le silicium, trois pour l'aluminium, 1,5 pour le magnésium. Quant au fer, il est cette fois relâché en solution. Ces vitesses restent néanmoins inférieures à celles calculées pour les verres MORB3 et HAPLO. Enfin, on obtient, pour tous les éléments, des vitesses de relâchement équivalentes en solution de BPI et de DFA. Les valeurs des vitesses calculées pour le silicium, l'aluminium et le fer sont légèrement supérieures à celles obtenues pour le verre MORB3 dans une solution de BPI. On ne retrouve toutefois pas dans ces conditions les relâchements abondants du calcium et magnésium.

### 3.1.3 Stoichiométrie

On rappelle que, pour un élément  $i$ , des valeurs de  $RRR_i$  égales à 1 traduisent un relâchement stoichiométrique de cet élément par rapport au silicium. A l'inverse, des valeurs de  $RRR_i$  supérieures (resp. inférieures) à 1 indiquent un relâchement préférentiel de l'élément  $i$  (resp. du silicium) par rapport au silicium (resp. à l'élément  $i$ ). Les valeurs des  $RRR_s$  ob-

tenues pour chaque élément et pour chaque condition expérimentale sont consignées dans le Tableau 3.5 et représentées sur la Figure 3.5 afin de dégager plus aisément les tendances caractérisant ces résultats.

		$\frac{Al}{Si}$	$\frac{Fe}{Si}$	$\frac{Ca}{Si}$	$\frac{Mg}{Si}$
<b>MORB3</b>	EUP	1,0±0,3	0	1,9±0,1	1,8±0,2
	BPI	0,5±0,1	0,9±0,1	5,4±0,31	3,6±0,3
	AO	1,8±0,1	1,8±0,0	2,5±0,0	1,2±0,2
	DFA	1,6±0,0	1,8±0,1	2,3±0,0	1,9±0,2
<b>MORB2</b>	EUP	0,6±0,1	0	3,1±0,9	2,1±0,4
	BPI	1,3±0,6	1,5±0,0	3,7±0,6	1,2±0,1
	AO	0,8±0,0	0,9±0,2	0	1,2±0,2
	DFA	1,1±0,2	1,4±0,0	2,8±0,2	1,4±0,1
<b>HAPLO</b>	EUP	0,5±0,1	-	1,2±0,5	1,8±0,1
	BPI	0,7±0,0	-	1,7±0,3	2,0±0,1
	AO	1,8±0,1	-	1,8±0,1	2,2±0,0
	DFA	2,0±0,2	-	2,2±0,0	2,2±0,1

Tableau 3.5: Rapports de stœchiométrie (*RRRs*) entre les éléments Al, Fe, Ca ou Mg et Si calculés pour les verres MORB3, MORB2 et HAPLO. Les erreurs reportées sont égales à  $\pm SD$ , où SD est l'écart-type entre les valeurs des *RRRs* calculées pour chaque série de répliqués.

La dissolution n'est pas stœchiométrique pour les trois verres soumis aux expériences d'altération, qu'elles se déroulent en présence ou en absence de ligands.

Des valeurs très proches de *RRRs* ont été calculées pour le verre MORB3 en présence d'AO et de DFA. La dissolution, dans ces conditions, n'est stœchiométrique pour aucun des éléments détectés en solution et est caractérisée par le relâchement très préférentiel du calcium ( $RRR > 2$ ) ainsi que du magnésium, fer et aluminium ( $RRR > 1,5$ ), relativement au silicium. Au contraire, la dissolution en EUP et dans les solutions de BPI est caractérisée par le relâchement préférentiel du silicium, relativement à l'aluminium et au fer. Cependant, le calcium et le magnésium sont tous deux relâchés préférentiellement au silicium. Ce résultat est très marqué en solution de BPI, avec des valeurs de *RRRs* supérieures à 3,5 (Tableau 3.5 et Figure 3.5.a).

La dissolution du verre HAPLO dans les solutions d'EUP et de BPI est caractérisée par des valeurs de *RRRs* proches. Le silicium est relâché préférentiellement à l'aluminium, tandis que le calcium et le magnésium sont relâchés préférentiellement au silicium. En présence de BPI, les valeurs élevées des *RRRs* obtenus pour le calcium et le magnésium dans le cas du verre MORB3 ne sont pas observées pour la composition HAPLO et sont finalement proches des valeurs calculées en conditions d'EUP (Figure 3.5.b). Enfin, des valeurs de *RRRs* très similaires sont obtenues pour le verre HAPLO en présence d'AO et de DFA : l'alumi-

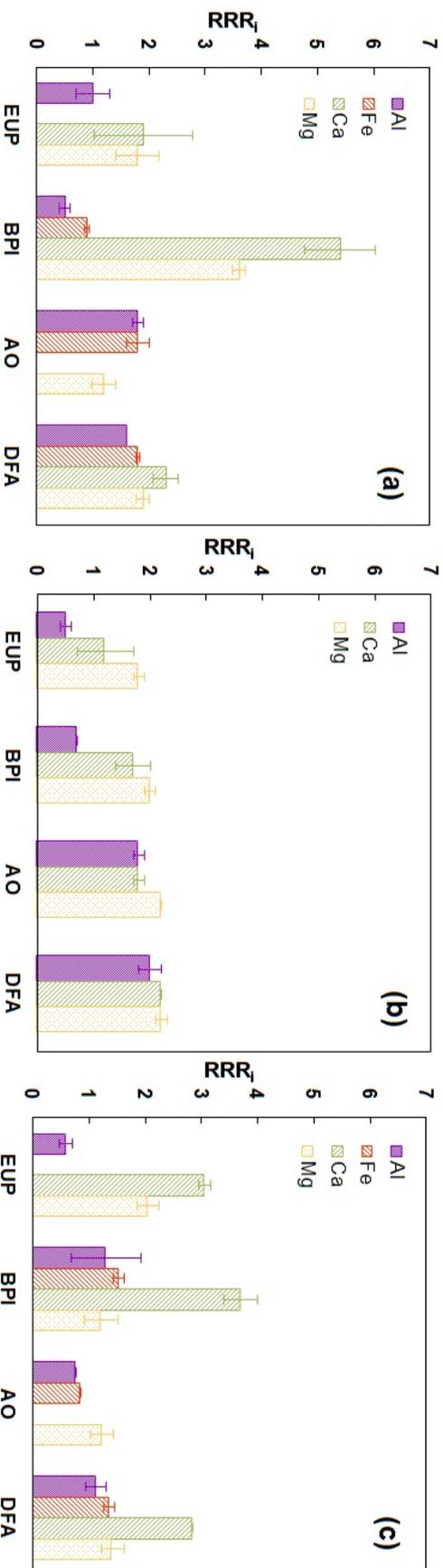


FIGURE 3.5: Rapport de stoechiométrie ( $RRR_s$ ) entre les éléments Al, Fe, Ca ou Mg et Si<sub>i</sub> pour les verres MORB3 (a), HAPLO (b) et MORB2 (c). Les barres d'erreurs représentent l'écart-type entre les valeurs des  $RRR_s$  calculées pour chaque série de répliquats. Les  $RRR_s$  relatifs au calcium en solution d'AO n'apparaissent pas pour les verres MORB3 et MORB2 car impossibles à calculer, en raison de la précipitation rapide du Ca au contact de l'AO.

niun, le calcium et le magnésium sont tous les trois relâchés préférentiellement au silicium et les valeurs des *RRRs* calculés sont toutes proches de 2.

Enfin, concernant le verre MORB2 et en comparant les *RRRs* obtenus à ceux calculés pour le verre MORB3, le caractère "préférentiel" des relâchements de l'aluminium et/ou du fer en présence d'AO et de DFA est moins tranché, avec par exemple des valeurs de *RRRs* de 1,8 (MORB3) contre 0,9 (MORB2) pour le fer en solution d'AO ou encore de 1,6 contre 1,1 pour l'aluminium dans une solution de DFA. Au contraire, en présence de BPI, le fer est cette fois relâché préférentiellement au silicium (1,5 contre 0,9 pour le verre MORB3).

L'ensemble des résultats, relatifs à la cinétique et à la stoechiométrie des réactions de dissolution des verres MORB et HAPLO dans l'EUP témoignent d'un relâchement rapide du magnésium et du calcium et d'un relâchement plus lent de l'aluminium, du fer et du silicium. Ceci est en accord avec le mécanisme de dissolution proposé par Oelkers (2001) et décrit dans le Chapitre 2. En effet, la première étape de la dissolution d'un verre basaltique en eau acide est le départ rapide, massif et largement préférentiel des cations divalents comme  $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{Mg}^{2+}$  (mécanismes de diffusion), suivi par l'hydrolyse du réseau vitreux. Les résultats des expériences mettant en jeu des molécules organiques telles que les sidérophores diffèrent de façon notable de ceux obtenues en EUP seule, ce qui atteste de l'influence des ligands sur les processus d'altération des verres basaltiques. Cette influence fera donc l'objet de la discussion contenues dans les pages qui suivent.

## 3.2 Discussion

En raison de la multiplicité des paramètres expérimentaux (trois compositions de verre pour quatre conditions d'altération), les résultats relatifs au verre MORB3 seront discutés dans une première partie (§3.2.1 et §3.2.2.1), puis confrontés à ceux obtenus pour les verres HAPLO et MORB2 dans les parties suivantes (respectivement §3.2.2.2 et §3.2.2.3).

### 3.2.1 Effet de la solution sur la dissolution du verre

Rappelons que dans cette partie nous ne discutons que les résultats relatifs au verre MORB3.

### 3.2.1.1 Effet du type de ligand

Une différence notable entre les profils de dissolution obtenus en présence ou en absence de ligand est le relâchement accéléré et préférentiel, par rapport au silicium, des cations trivalents du verre en présence d'AO et de DFA, ainsi que les départs accélérés des espèces divalentes dans les solutions de BPI (Figures 3.4 et 3.5).

L'influence des ligands sur la dissolution du verre est particulièrement visible sur les profils de dissolution du fer en présence d'AO et de DFA. Si dans les expériences témoins réalisées en EUP seule, le fer n'est pas détecté en solution, l'intervention de l'AO ou de la DFA dans les processus de dissolution change la donne, puisque le fer est cette fois détecté dans ces solutions d'altération et même relâché préférentiellement au silicium. Un comportement similaire du fer a été observé dans une étude portant sur la dissolution de l'hornblende, en présence ou en absence de DFA (Kalinowski *et al.*, 2000).

Cet impact sur les cinétiques de dissolution du fer peut s'expliquer par le fait que l'AO et la DFA forment avec  $\text{Fe}^{3+}$  des complexes très stables en solution. Dans le Tableau 3.6 sont d'ailleurs consignées les valeurs des constantes de complexation entre les ligands étudiés et certains éléments de nos verres. De façon plus générale, on remarque que les espèces ayant les plus fortes constantes de complexation avec certains éléments du verre sont celles pour lesquelles les valeurs des vitesses calculées sont les plus importantes (Figure 3.4). Ceci est en accord avec des études portant sur la dissolution de divers matériaux multi-oxydes (Oelkers et Schott, 2009), de bunsenite (Ludwig *et al.*, 1995), de granite et de verre basaltique (Hausrath *et al.*, 2009). La DFA et l'AO, qui forment les complexes les plus stables avec  $\text{Fe}^{3+}$  et  $\text{Al}^{3+}$ , accélèrent de manière significative la dissolution du verre. Au contraire, les résultats des expériences réalisées en présence de BPI, qui n'a d'affinité ni avec  $\text{Fe}^{3+}$  ni avec  $\text{Al}^{3+}$  et de manière générale ne complexe aucun cation métallique trivalent, ne témoignent pas d'une accélération des relâchements du fer ou de l'aluminium.

	OA	DFA	BPI
$\text{Al}^{3+}$	$10^{7,2 a}$	$10^{24,1 c}$	-
$\text{Fe}^{3+}$	$10^{8,0 a}$	$10^{30,6 c}$	-
$\text{Fe}^{2+}$	$10^{4,7 a}$	$10^{9,0 c}$	$10^{17,5 d}$
$\text{Ca}^{2+}$	$10^{3,0 a}$	$10^{2,6 c}$	$10^{-0,05 d}$
$\text{Mg}^{2+}$	$10^{3,4 b}$	$10^{2,8 e}$	$10^{0,3 d}$

Tableau 3.6: Constantes de complexation ( $K_f$ ) des ligands impliqués dans les expériences d'altération avec les éléments du verre (Cama et Ganor (2006) (a); Grases *et al.* (1989) (b); Kraemer (2004) (c); Capone *et al.* (1885) (d); Farkas *et al.* (1999) (e)).

Les tests d'altération réalisés en présence de DFA, d'AO et de BPI sont caractérisés par des vitesses initiales de relâchement du calcium et du magnésium équivalentes (Figure 3.4). Cependant, le couplage de ces résultats aux données sur la stœchiométrie de la dissolution (Figure 3.5) met en évidence des différences. Tout d'abord, en présence de DFA ou d'AO, l'accélération des relâchements du calcium et du magnésium est corrélée au départ accéléré du silicium. Ceci suggère que, dans ces conditions expérimentales, les relâchements plus abondants du calcium et du magnésium résultent de l'accélération globale de la dissolution du réseau silicaté. Au contraire, alors que la BPI a un faible impact sur le relâchement du silicium, les départs en solution du calcium et du magnésium sont largement préférentiels (Figures 3.4.a et 3.5.a). Dans ces conditions, le moteur de l'accélération de la dissolution semble être une interaction directe entre la BPI et ces cations divalents. On constate néanmoins que les constantes de complexation de la BPI avec  $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{Mg}^{2+}$  témoignent de la forte instabilité des complexes formés en solution, ce qui va à l'encontre de cette hypothèse. Celle-ci est néanmoins appuyée par la légère augmentation du pH dans les solutions de BPI au fil des expériences d'altération, augmentation qui pourrait témoigner d'une réaction de chimisorption des molécules de BPI à la surface du verre, comme il l'a été observé dans une étude sur les argiles, mais aussi pour certains oxydes (Ferreiro *et al.*, 1983; Ferreiro et Bussetti, 2007).

### 3.2.1.2 Effet de la concentration des ligands

La présence d'AO et de DFA en solution a donc un impact sur les cinétiques de dissolution du verre MORB3 et cet impact est d'autant plus notable que la capacité de ces ligands à complexer certains cations métalliques du verre est grande. Un tel effet a été observé pour diverses phases minérales en présence de l'une ou l'autre de ces molécules organiques complexantes (Welch et Ullman, 1992; Watteau et Berthelin, 1994; Liermann *et al.*, 2000; Cheah *et al.*, 2003; Rosenberg et Maurice, 2003; Wolff-Boenisch *et al.*, 2011; Rozalen *et al.*, 2013). Cependant, il est important de garder en tête que, dans ce travail, la DFA est présente en solution à une concentration 10 fois plus faible que celle de l'AO. Si l'on considère que les vitesses initiales de dissolution, à pH fixe, dépendent linéairement de la concentration des ligands potentiellement adsorbés à la surface de l'échantillon et donc de la concentration initiale en ligands de la solution, le calcul de vitesses très proches pour la DFA et l'AO suggère que la DFA accélère plus efficacement la dissolution. Hersman *et al.* (1995) tirent les mêmes conclusions dans une étude sur la dissolution de l'hématite en présence d'AO et d'un sidérophore spécifique du Fe(III), environ 10 fois moins concentré.

D'autres paramètres sont néanmoins à prendre en compte. Idéalement, une molécule de DFA, par le biais de ses six oxygènes donneurs, est suffisante pour complexer un cation

trivalent tel que  $\text{Fe}^{3+}$  dans la configuration la plus stable. Au contraire, trois molécules d'AO sont nécessaires pour obtenir une telle configuration (Wolff-Boenisch et Traina, 2007). Ce qui se passe en réalité en solution est cependant un peu éloigné de ce que la théorie suggère. Des études expérimentales montrent par exemple que l'espèce  $\text{Fe}(\text{oxalate})^{2-}$  est le complexe prédominant pour l'AO (Cervini-Silva *et al.*, 2012). La DFA, elle, se lie généralement à  $\text{Fe}^{3+}$  par le biais d'un ou deux de ses groupements hydroxamates seulement (Holmen et Casey, 1996; Coccozza *et al.*, 2002), plutôt que de compléter la sphère de coordinence octaédrique du Fe(III) dans un complexe 1 :1. Il est donc assez difficile de comparer le pouvoir complexant de ces deux ligands sans connaître précisément le nombre de molécules réellement impliquées dans la complexation d'un cation trivalent, l'expérience contredisant dans certains cas la théorie. De plus, si l'on considère cette théorie vérifiée, l'AO devrait être au moins trois fois plus concentré que la DFA pour complexer  $\text{Al}^{3+}$  ou  $\text{Fe}^{3+}$  de la même façon que le fait la DFA. Ceci n'est pas en accord avec nos résultats, qui montrent des vitesses de dissolution équivalentes d'un sidérophore à un autre (Figure 3.4), alors que les concentrations de ces deux espèces diffèrent d'un ordre de grandeur.

Cette différence entre résultats attendus et observés a été constatée dans une étude de Holmen et Casey (1996), portant sur la dissolution de la goethite en présence de DFA et d'acide acétohydroxamique, environ dix fois moins concentré. L'absence de lien logique entre la concentration des ligands en solution et les vitesses de dissolution calculées a été expliquée par l'existence d'une concentration seuil, à partir de laquelle l'efficacité des ligands dans les processus d'accélération des réactions de dissolution n'augmente plus. En effet, pour des concentrations en ligands élevées, seuls ceux situés à l'interface verre/solution ont la possibilité d'interagir avec le matériau. Les ligands n'appartenant pas à la première couche adsorbée à la surface du verre, n'affectent *a priori* pas le relâchement des éléments du verre, ou en tout cas ne sont pas en mesure d'accélérer ce relâchement (Furrer et Stumm, 1986). On peut même supposer que pour de très fortes concentrations en ligands, une quantité trop importante de ces molécules à la surface du verre pourrait inhiber le départ des cations en solution (Kraemer, 2004).

On trouve, dans la littérature, des études proposant des valeurs de ces concentrations-seuils. Pour la goethite, les vitesses de dissolution n'augmentent plus pour des concentrations en AO excédant 5 mM (Cheah *et al.*, 2003) ou 1 mM (Wolff-Boenisch et Traina, 2006). En se fiant à ces études et en considérant les valeurs des surfaces réactives de la goethite avec lesquelles ces auteurs ont travaillé, le nombre de molécules d'AO théoriquement adsorbées par unité de surface de goethite (sans prendre en compte aucun effet lié aux possibles contraintes stériques imposée par la forme de ces molécules et la distribution du fer à la surface de l'échantillon) se situerait entre 1 et 10  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ . L'existence d'une concentra-

tion seuil est aussi suggérée dans des travaux utilisant la DFA (Kalinowski *et al.*, 1999). On trouve plus difficilement des valeurs pour la concentration maximale en molécules de DFA adsorbées à la surface de matériaux silicatés/oxydes. On retiendra toutefois, toujours pour la goéthite, une fourchette de 0,01 à 0,1  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$  (Kraemer *et al.*, 1999; Wolff-Boenisch et Traina, 2006), qui sont finalement des valeurs relativement faibles. Dans ce travail, compte-tenu de la surface spécifique des verres (0,04  $\text{m}^2/\text{g}$ ) et des concentrations introduites en ligands, le nombre de molécules d'AO (respectivement de DFA) adsorbées par unité de surface de verre serait idéalement de 100  $\text{mmol}/\text{m}^2$  (respectivement 10  $\text{mmol}/\text{m}^2$ ). Ces calculs préliminaires montrent clairement que la surface des verres soumis aux tests d'altération est largement saturée en ligands, qu'il s'agisse d'AO ou de DFA. Ceci pourrait donc expliquer les valeurs des vitesses initiales de dissolution similaires d'une condition expérimentale à une autre, en dépit des différences de concentration entre les deux types de molécules complexantes utilisées.

Néanmoins, on doit également tenir compte du fait que la complexation peut aussi s'opérer en solution, c'est-à-dire entre les ligands et les espèces dissoutes relâchées. Cette complexation en solution peut également affecter les cinétiques de dissolution du verre. En effet, une fois complexés en solution, les éléments structuraux du verre voient leur solubilité apparente augmenter, ce qui a pour effet d'encourager leur dissolution. L'hypothèse selon laquelle l'influence des ligands sur la dissolution se manifeste plus en solution qu'à la surface du matériau soumis à altération est d'ailleurs défendue par Oelkers et Schott (1998). Ce mécanisme d'accélération de la dissolution a également été présenté par d'autres auteurs comme une alternative possible aux mécanismes de complexation s'opérant à l'interface surface/matériau et contrôlant les cinétiques de la réaction (Stillings *et al.*, 1998; Rosenberg et Maurice, 2003; Cama et Ganor, 2006).

Dans les systèmes naturels, ces molécules organiques sont habituellement présentes à des concentrations plus faibles. Ceci implique qu'en réalité, l'influence de ces ligands sur la dissolution pourrait être réduite et leur impact sur les mécanismes amoindri. L'AO est par exemple présent dans les sols à des concentrations pouvant atteindre 1 mM (Fox et Comerford, 1990). Dans les systèmes marins, les concentrations en sidérophores reportées varient entre 0,3 et 7 nM (Kraemer, 2004). Cependant, il est admis qu'à l'interface entre microorganismes et matériau, les concentrations locales en acides organiques et sidérophores peuvent être amplifiées de plusieurs ordres de grandeur (Ahmed et Holmström, 2014). Pour une microniche bactérienne ou une population en biofilm, les concentrations en sidérophores attendues sont contenues dans une fourchette de 10  $\mu\text{M}$  à quelques mM (Hersman *et al.*, 1995).

A la vue de ces résultats, des expériences ont aussi été réalisées dans des solutions de

sidérophores moins concentrées, afin de mettre en évidence un possible effet de la concentration en ligands sur la dissolution. Ces expériences ont été réalisées pour le verre MORB3, dans des solutions de DFA (1 mM, 0,24 mM et 0,024 mM) ou d'AO (10 mM, 1 mM et 0,24 mM). Ces concentrations ont été choisies en accord avec la littérature, notamment avec une étude sur la dissolution du hornblende en présence de DFA (Kalinowski *et al.*, 2000, 1999). Contrairement aux expériences d'altération déjà présentées, celles-ci ont été réalisées non pas dans une série de six tubes correspondant aux six temps d'altération, mais dans un même erlenmeyer en verre d'où un petit volume (3 mL) de solution a été prélevé après huit heures, un, deux, trois, quatre ou sept jours d'altération (Figure 3.6). La masse de verre au contact de la solution d'altération ainsi que le volume de solution ont été calculés de façon à ce que ces tests soient caractérisés par un rapport  $\frac{S}{V}$  identique à celui utilisé dans les expériences précédentes.

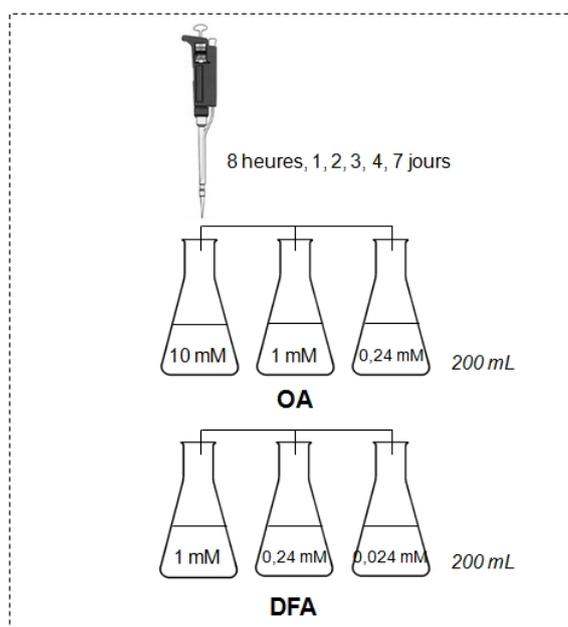


FIGURE 3.6: Mise en place des expériences de dissolution dans des solutions plus diluées de ligands organiques (AO et DFA).

Les concentrations en aluminium et fer dans ces expériences en solutions plus diluées sont reportées dans les Tableaux 6.5 et 6.6 donnés en Annexe. Les NLs sont représentées en fonction du temps sur la Figure 3.7.

Deux résultats sont immédiatement discernables : (1) utiliser des solutions jusqu'à plus de dix fois moins concentrées en ligands n'influence pas de manière significative la dissolution, les profils représentés étant très similaires d'une concentration en ligand à une autre et les faibles différences observées étant du même ordre que les différences pouvant être observées entre deux séries de duplicats, (2) les profils de dissolution obtenus pour ces

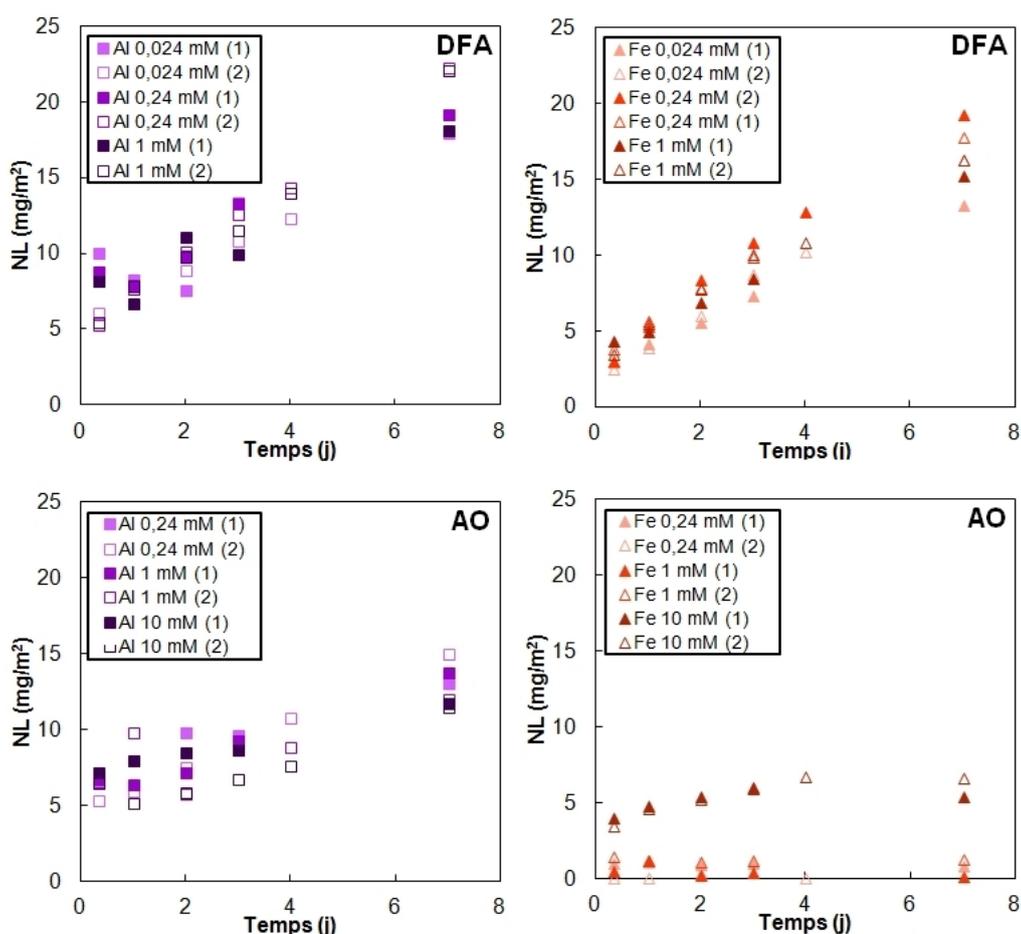


FIGURE 3.7: Pertes de masses normalisées (NLs) des éléments Al et Fe du verre MORB3, en fonction du temps d'altération. Les symboles remplis et vides représentent respectivement les résultats de la première et deuxième série de duplicats.

expériences à caractère "semi-ouvert" (cf. Chapitre 2) peuvent différer de ceux observés pour les expériences dans des tubes fermés.

Le premier résultat vient confirmer l'hypothèse d'une saturation en ligands de la surface du verre pour des concentrations en ligands trop élevées. Toutefois, les résultats obtenus ne permettent pas d'accéder aux valeurs des concentrations-seuils, c'est-à-dire des concentrations en ligands à partir desquelles les vitesses de dissolution des verres n'augmentent plus. On peut simplement supposer que la valeur de cette concentration-seuil, si elle existe, est inférieure à 0,024 mM pour la DFA et 0,24 mM pour l'AO.

On note qu'en présence d'AO, les concentrations en fer mesurées sont bien plus faibles qu'en expériences en systèmes fermés (environ quatre fois moins importantes). Dans une étude des effets de la température et de la présence d'oxygène dissout sur le devenir des complexes  $Fe^{3+}$ -oxalate en solution, Pliego *et al.* (2014) observent que la dégradation de ces complexes est d'autant plus importante que la solution est oxygénée et riche en fer. Une fois libéré des complexes formés avec les ions oxalates, le fer peut se lier à nouveau aux oxalates non-dégradés subsistant en solution (d'autant plus présents que la concentration initiale en AO était importante), ou précipiter rapidement (comme en attestent les profils de dissolution du fer dans les solutions à 0,24 et 1 mM d'AO). Ce résultat pourrait expliquer les différences observées entre nos expériences en systèmes fermés (tubes scellés) et semi-ouverts (bouchons en cotons et prélèvements périodiques) et donc plus oxygénés. Il suggère aussi que les différences observées sur la Figure 3.7 entre les solutions d'AO à 10 mM (léger relâchement du fer) et à 1/0,24 mM (détection du fer quasi-nulle) seraient plutôt liées à la méthode d'échantillonnage : dans ce cas, ces différences ne traduiraient pas forcément une dissolution plus efficace du verre en présence d'AO à 10 mM plutôt qu'à 0,24 mM, mais une subsistance plus longue du fer en solution dans les solutions les plus concentrées en AO, puisque cet élément dispose dans ce cas-là d'un nombre plus important de molécules d'AO libres auxquelles il peut se lier une fois les complexes dans lesquels il est engagé détruits.

**Ce qu'il faut retenir :**

La présence d'AO, de DFA ou de BPI perturbe les cinétiques et/ou la stœchiométrie de la dissolution du verre MORB3 s'opérant en EUP seule. En EUP, les profils de dissolution observés coïncident avec les mécanismes décrits dans la littérature (relâchements abondants des alcalins, dissolution plus lente des formateurs silicium et aluminium, précipitation immédiate du fer, insoluble à un tel pH).

L'AO et la DFA, ligands formant des complexes très stables avec le Fe(III) et l'aluminium, accélèrent visiblement la dissolution du verre (vitesse multipliée par un facteur 4). Ce processus d'accélération s'opère probablement à la surface du verre, *via* des réactions de complexation et l'extraction préférentielle du fer et de l'aluminium structuraux du réseau vitreux. Le fer est présent cette fois en solution, sous la forme d'un complexe soluble très stable.

Les expériences en solutions de ligands plus diluées témoignent de vitesses de relâchement du fer et de l'aluminium équivalentes. Ce résultat suggère l'existence de valeurs de *concentration-seuil* en ligands (dans notre cas inférieures à 0,024 mM pour le DFA et 0,24 mM pour l'AO), à partir desquelles la surface du verre est probablement saturée par ces molécules et les vitesses de dissolution n'augmentent plus.

## 3.2.2 Effet de la structure du verre

### 3.2.2.1 Éléments formateurs et modificateurs de réseau

Dans cette première partie, nous nous concentrerons encore une fois sur le verre **MORB3**.

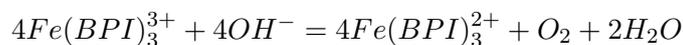
Le silicium est le principal élément formateur de réseau d'un verre basaltique et la rupture des liaisons Si-O-X (X = Si, Al, Fe(III)) du réseau silicaté est considérée comme l'étape limitante contrôlant la dissolution (comme expliqué dans le Chapitre 1, §1.2.3.1). Le rôle joué par les ligands et en particulier par l'AO sur la dissolution du silicium n'est à ce jour pas clairement défini et ce quel que soit le matériau silicaté considéré.

Des études sur la dissolution du quartz ont démontré que, si les vitesses de dissolution étaient accélérées en présence d'AO (Bennett *et al.*, 1988), la complexation du silicium par cet acide organique n'était pas le moteur de l'accélération (Bennett, 1991). Franklin *et al.* (1994) observent également que la solubilité du quartz est invariante quelle que soit la solution d'acide carboxylique dans laquelle le minéral est immergé. En conséquence, on considèrera dans ce travail que la complexation, si complexation il y a, du silicium par l'AO a un effet négligeable sur les cinétiques de dissolution des verres basaltiques. Le relâchement accéléré du silicium, observé pour les expériences en présence d'AO, de DFA ou de BPI, est donc attribué à la déstabilisation du réseau silicaté tout entier, déstabilisation engendrée par la complexation et le relâchement de certains éléments du verre.

En présence d'AO ou de DFA, l'augmentation des valeurs des vitesses initiales du silicium est corrélée à l'augmentation des *RRRs* du fer et de l'aluminium qui deviennent supérieurs à 1, indiquant leur départ préférentiel (Tableaux 3.4 et 3.5 et Figures 3.4 et 3.5). En revanche, les valeurs des *RRRs* calculées pour le calcium et le magnésium sont proches de celles obtenues en EUP. Dans ces conditions expérimentales, l'interaction ligands/Fe<sup>3+</sup> ou ligands/Al<sup>3+</sup> semble donc constituer la force motrice de l'accélération. Ceci peut-être relié au rôle structural du Fe(III) et de l'aluminium dans les verres MORB : tous deux généralement reconnus comme formateurs de réseau des verres basaltiques (Guillot et Sator, 2007), au même titre que le silicium, leur extraction prématurée du squelette silicaté après l'étape de complexation serait responsable de la déstabilisation de la structure, de sa fragilisation, facilitant ainsi sa dissolution.

En présence de BPI, le magnésium et le calcium sont relâchés très préférentiellement au silicium. De plus, dans ces conditions expérimentales, les *RRRs* du fer sont supérieurs (0.9) à ceux calculées en solution d'EUP (0). La BPI n'a en théorie d'affinités que pour les ca-

tions divalents. Toutefois, une possible complexation avec le Fe(III) a été décrite par Nord et Wernberg (1975), qui ont conclu qu'en présence de BPI, le Fe(III) complexé était rapidement réduit par les ions hydroxyde, selon la réaction suivante :



Templeton (2002) a même attribué à la BPI une constante de complexation élevée avec le Fe(III) ( $10^{16,3}$ ). Cependant, on ne trouve pas dans la littérature d'autres indices en faveur d'une possible affinité de la BPI pour le Fe(III). De plus, les résultats obtenus dans ce travail ne sont pas en faveur d'une telle hypothèse, le fer n'étant relâché que faiblement en présence de BPI. On peut néanmoins envisager une interaction entre la BPI et la fraction minoritaire (30%) de Fe(II) présente dans le verre MORB3. En effet, la forte affinité qu'a ce sidérophore pour le fer ferreux (Tableau 3.6) pourrait expliquer la détection du fer (sous sa forme complexée) en solution de BPI. Le Fe(II), le calcium et le magnésium sont trois éléments modificateurs du réseau silicaté. Leur relâchement accéléré au contact d'une solution de BPI a donc, comme observé, peu d'influence sur la dissolution globale du verre.

A travers ces premiers résultats, il apparaît que le fer, sous sa forme réduite ou oxydée, semble jouer un rôle-clé dans les processus accélérant la dissolution du verre. Ces résultats ont donc été comparés aux données obtenues pour un verre ne contenant pas de fer, ou bien avec un verre contenant du fer sous un autre degré d'oxydation, afin de préciser les réactions impliquées.

### 3.2.2.2 Effet de la composition du verre

Dans cette partie, les résultats des expériences de dissolution des verres **MORB3** et **HAPLO** seront discutés.

#### *Dissolution en absence/présence d'acide oxalique*

Pour les expériences d'altération réalisées en solutions d'EUP et d'AO, la présence ou l'absence de Fe(III) dans le verre ne semble pas avoir d'impact sur les cinétiques de dissolution (Figure 3.4), ou sur sa stœchiométrie (Figure 3.5). Les profils de dissolution en solution d'EUP ou d'AO des verres MORB3 et HAPLO (en particulier des éléments silicium et aluminium de ces verres) ont d'ailleurs été confrontés sur la Figure 3.8.

Des profils de dissolution équivalents sont obtenus pour les verres MORB3 et HAPLO. Dans le cas des expériences réalisées en EUP, ces similarités ne sont pas étonnantes, puisque, on l'a vu dans le cas du verre MORB3, le fer n'était de toute façon pas relâché

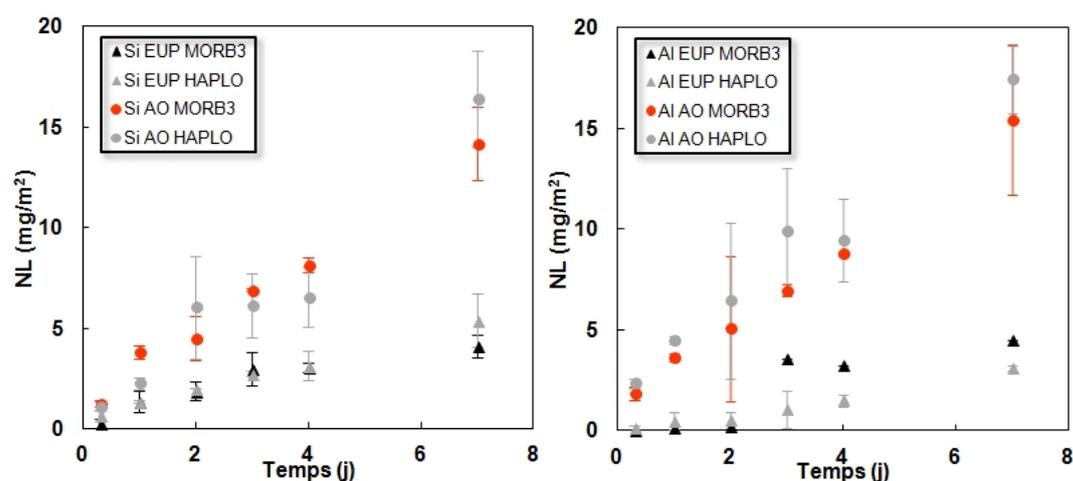


FIGURE 3.8: Pertes de masse normalisées (NLs) du Si et de l'Al calculées pour les expériences de dissolution des verres MORB3 et HAPLO en présence d'EUP et d'AO, en fonction du temps. Les données représentées résultent de la moyenne entre les deux séries de duplicats. Les barres d'erreur correspondent à  $\pm$ SD, SD étant l'écart-type entre deux points de duplicats.

(ou du moins pas détecté) en solution d'EUP. Il n'était donc pas attendu, bien que les deux verres soient légèrement différents en terme de composition, que la présence ou l'absence de fer ait une quelconque influence sur les mécanismes.

En présence d'AO, MORB3 et HAPLO voient leurs vitesses initiales augmenter de façon équivalente par rapport aux résultats observés en EUP, indiquant que la présence de fer n'est pas à l'origine de l'augmentation observée malgré la forte affinité du ligand pour cet élément. C'est donc la complexation et le relâchement préférentiel d' $Al^{3+}$  qui constituerait le moteur de l'accélération et serait l'étape limitante de la réaction de dissolution. L'AO n'est pas un sidérophore dans le sens littéral du terme, c'est-à-dire qu'il n'a pas une affinité exclusive pour le cation  $Fe^{3+}$ . Ses constantes de complexation avec le  $Fe(III)$  et l'aluminium sont d'ailleurs équivalentes (Tableau 3.6). Le fait qu'il semble complexer préférentiellement  $Al^{3+}$ , plus présent à la surface du verre car plus abondant dans la composition de ce dernier, n'est dans ce cas pas complètement surprenant. Ceci est d'ailleurs en accord avec plusieurs travaux d'Oelkers et al. (Oelkers *et al.*, 1994; Oelkers, 2001; Oelkers et Gislason, 2001), sur la dissolution d'un verre basaltique réduit. Quel que soit le degré d'oxydation du fer dans le verre étudié (en majorité oxydé dans ce travail, réduit dans les études d'Oelkers et al.), il semble finalement que les mécanismes de dissolution des verres basaltiques en présence d'AO soient contrôlés par l'hydrolyse et la rupture des liaisons Al-O-Si du réseau. Cette étape a pour conséquence la fragilisation du réseau silicaté et facilite l'hydrolyse finale des liaisons Si-O-Si et Fe-O-Si du squelette vitreux. Dans les études d'Oelkers et al., ce mécanisme est admis en EUP comme en présence d'AO. Cet acide organique, en accélérant le

relâchement de l'aluminium, jouerait donc le rôle de moteur de l'accélération de la réaction de dissolution, sans forcément modifier le mécanisme général s'opérant en EUP, à l'exception près que le fer est dans ce cas détecté en solution, sous forme de complexes solubles.

### *Desferrioxamine-B*

Dans les solutions de DFA, au contraire, il apparaît qu'un verre basaltique sans fer (verre HAPLO) se dissout moins rapidement qu'un verre équivalent mais porteur de fer (verre MORB3) (Figure 3.4). A titre d'exemple, les profils de dissolution du silicium et de l'aluminium sont représentés sur la Figure 3.9.

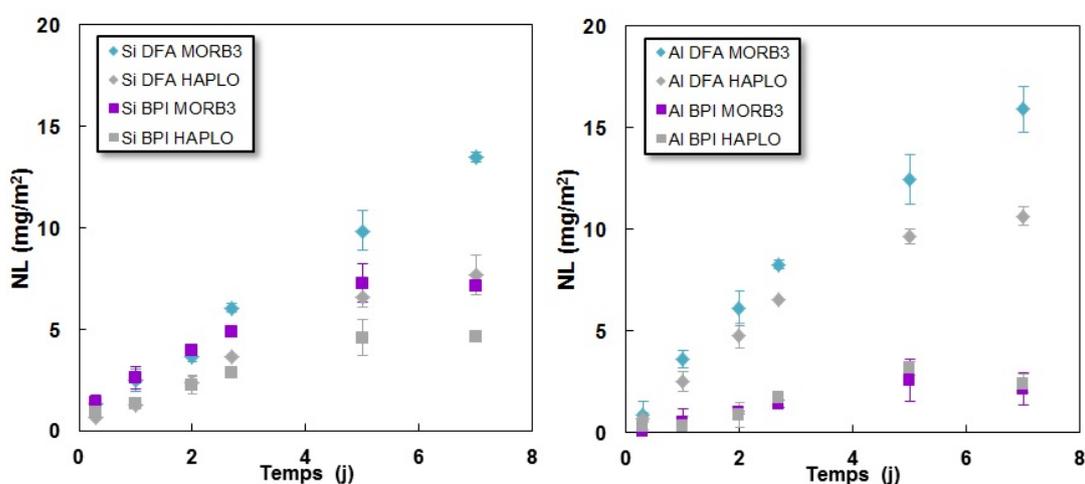


FIGURE 3.9: Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si et Al des verres MORB3 et HAPLO au contact des solutions de DFA et de BPI, en fonction du temps. Les données représentées résultent de la moyenne des deux séries de duplicats. Les barres d'erreur correspondent à  $\pm$ SD, SD étant l'écart-type entre deux points de duplicats.

Ce résultat suggère que, dans ces conditions expérimentales, la formation des complexes *sidérophore-Fe<sup>3+</sup>* influe cette fois de manière significative sur les cinétiques de dissolution. Contrairement à l'AO, la DFA a une très forte affinité pour le Fe(III). La constante de formation du complexe *DFA-Fe<sup>3+</sup>* est d'ailleurs supérieure à celle relative à l'aluminium d'environ 6 ordres de grandeur (Tableau 3.6). Dans ce cas là, il apparaît que la complexation du Fe(III) et son départ de la surface du verre via la rupture de liaisons Fe-O-Si contribue de manière significative à la fragilisation du squelette silicaté et facilite l'hydrolyse des liaisons Si-O-Si. En l'absence de fer dans le verre, la dissolution reste néanmoins accélérée en comparaison avec les résultats obtenues en EUP (Figure 3.4), ce qui indique que la complexation de l'Al<sup>3+</sup> s'opère dans le cas du verre HAPLO et, en reprenant les mécanismes décrits en solution d'AO, vient accélérer la réaction de dissolution. Concernant le verre MORB3, on n'exclue d'ailleurs pas que la DFA puisse également complexer et favoriser le départ de l'aluminium structural et que ces réactions de complexation puisse influencer sur la dissolution

progressive du réseau vitreux.

Si les vitesses initiales de dissolution du verre HAPLO sont inférieures à celles du verre MORB3, les *RRR*s calculés pour ces deux verres sont très proches (Figure 3.5). Ceci confirme qu'en dépit d'une accélération de la réaction de dissolution (par rapport aux expériences en EUP) plus ou moins notable en fonction de la composition du verre impliquée, les mécanismes mis en jeu sont équivalents d'un verre à un autre.

### *2,2'-bipyridyle*

Les résultats des expériences de dissolution du verre HAPLO sont très similaires, en termes de cinétiques et de stœchiométrie, à ceux obtenus en solutions d'EUP (Figure 3.4 et 3.5). Ces résultats encouragent à penser que la BPI interagit préférentiellement avec la fraction de Fe(II) présente dans le verre et qu'en l'absence de fer dans le système, ce sidérophore n'a aucune influence sur les processus de dissolution.

#### **Ce qu'il faut retenir :**

La complexation des éléments intermédiaires aluminium et Fe(III) (ici formateurs du réseau vitreux) par l'AO et la DFA et leur départ prématuré du verre fragilisent les liaisons Si-O et accélèrent la dissolution du verre tout entier. En présence d'AO, c'est la complexation préférentielle de l'aluminium qui joue le rôle moteur de l'accélération de la dissolution. En solution de DFA, au contraire, l'affinité particulière qu'a ce sidérophore pour le Fe(III) et les réactions de complexation en surface en découlant sont responsables de l'accélération globale de la dissolution.

On attribue la détection du fer dans les solution de BPI à la formation de complexes avec la fraction (minoritaire) de Fe(II) contenue dans le verre MORB3. Les départs accélérés de certains éléments modificateurs du réseau silicaté (Fe(II), calcium, magnésium), sont tenus pour responsables de la faible accélération de la dissolution de ce verre. L'interaction BPI/verre aurait donc pour conséquence la dissolution plus sélective de certains éléments du verre, par rapport aux mécanismes de dissolution établis en EUP.

### 3.2.2.3 Effet du degré d'oxydation du fer

Dans cette partie, on traitera en particulier des résultats relatifs au **MORB2** et on s'intéressera particulièrement aux résultats des expériences en solutions de DFA (sidérophore se liant spécifiquement au Fe(III)) et de BPI (sidérophore se liant spécifiquement au Fe(II)).

En présence de BPI en solution, le départ du fer du verre MORB2 n'est que faiblement accéléré par rapport aux expériences impliquant le verre MORB3 (Tableau 3.4 et Figure 3.4), le fer étant pourtant cette fois majoritairement présent sous sa forme réduite dans le verre. En revanche, on note une franche différence en termes de *RRRs* du calcium et du magnésium, toujours en comparaison aux résultats obtenus pour le verre MORB3. En effet, ces éléments sont cette fois nettement moins relâchés préférentiellement au silicium (Tableau 3.5 et Figure 3.5). Ce résultat, au premier abord surprenant, a soulevé l'interrogation suivante : dans un verre MORB préparé sous atmosphère réductrice, ces éléments pourraient-ils être caractérisés par des environnements structuraux différents, par rapport au verre MORB3 préparé sous atmosphère ambiante ? Un environnement structural différent pourrait en effet être proposé comme une explication aux différences observées quant aux relâchements respectifs du calcium et du magnésium, entre les verres MORB2 et MORB3. Nous nous sommes en particulier focalisé sur le cas du magnésium. Cet élément est en effet susceptible de changer d'environnement structural dans des verres d'oxydes simples ne différant les uns des autres que par la nature des cations modificateurs en présence (Trcera *et al.*, 2009). Il était donc intéressant d'étudier si remplacer un élément majoritairement formateur dans le verre MORB3 (à savoir le Fe(III)) par un autre susceptible de jouer le rôle de modificateur (à savoir le Fe(II)) pouvait influencer sur l'environnement structural du magnésium. Nous avons alors travaillé en collaboration avec les ingénieurs de la ligne *Lucia* au *Synchrotron Soleil* et enregistré des spectres d'absorption au seuil K du magnésium des trois verres synthétisés. Ceux-ci sont présentés dans la Figure 3.10.

Les spectres obtenus sont rigoureusement identiques d'un verre à un autre, ce qui exclut finalement la piste d'un changement d'environnement structural du magnésium. Toutefois, une caractérisation structurale plus approfondie de nos verres permettrait de mieux discerner les mécanismes impliqués dans les processus de dissolution de ces derniers. A titre d'exemple, définir plus précisément le rôle structural des cations divalents tels que  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  ou  $\text{Fe}^{2+}$  (modificateurs du réseau vitreux ? compensateurs de la charge électronique des groupements  $\text{AlO}_4^-$  ?), en fonction de la composition du verre, serait d'une aide précieuse. Un simple bilan des charges, effectué à partir des compositions des verres préparés, permet en effet d'observer que les charges négatives portées par les groupements  $\text{AlO}_4^-$  ou  $\text{FeO}_4^-$  sont entièrement compensées par les cations univalents ou divalents en présence.

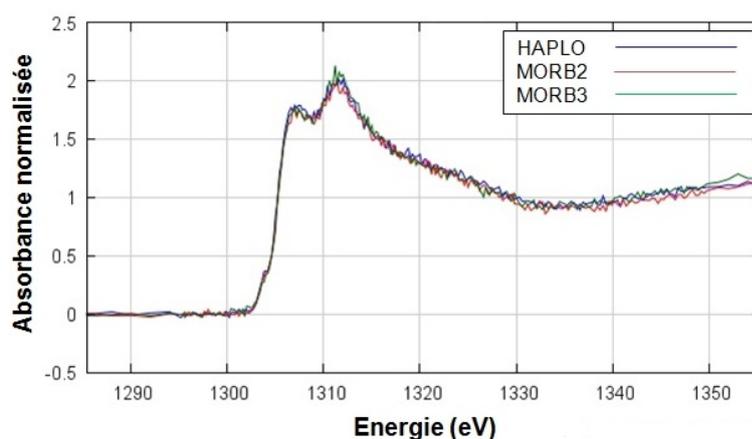


FIGURE 3.10: Spectres d'absorption au seuil K du Mg des échantillons HAPLO, MORB2, MORB3. Ces spectres ont été collectés en mode de détection de fluorescence entre 1280 et 1351 eV avec un pas de (a) 2 eV entre 1280 et 1295, (b) 0,2 eV entre 1295 et 1330, (c) 0,3 eV entre 1330 et 1350 et (d) 1 eV entre 1350 et 1500. Les spectres bruts obtenus ont été retraités à l'aide du logiciel Athena.

Toutefois, la nature de ces cations reste à définir. Rossano *et al.* (2008) ont étudié par spectroscopie Mössbauer trois verres aluminosilicatés contenant 0,5% (massiques) de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  et différant simplement les uns des autres par la nature des cations modificateurs introduits ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ou  $\text{Ca}^{2+}$ ). Dans cette étude, il apparaît que l'environnement du fer est différent d'une composition à une autre et que ces différences sont liées à la façon dont ces cations interagissent avec les espèces anioniques et notamment à une certaine hiérarchie dans la force de ces interactions. Elles pourraient ainsi être attribuées à un effet de compétition entre les cations  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Fe}^{2+}$  pour la compensation de la charge électronique des unités  $\text{AlO}_4^-$ . Dans le cas du verre MORB2, si  $\text{Fe}^{2+}$  s'avérait être un compensateur de charge, son départ préférentiel pourrait expliquer la légère accélération du relâchement de l'aluminium. A ce stade et sans ces informations structurales, nous n'avons pour l'instant pas pu trouver d'explications satisfaisantes à ces résultats.

En présence de DFA, les profils de dissolution des verres MORB2 et MORB3 sont également différents. Ce sidérophore, qu'on a vu capable d'influencer fortement la dissolution du verre MORB3, n'a finalement qu'un faible impact sur les valeurs des vitesses et des  $RRR_s$  calculées pour le verre MORB2. Ces valeurs sont mêmes inférieures à celles calculées pour le verre HAPLO dans les mêmes conditions expérimentales. Lors des expériences impliquant le verre MORB3, riche en  $\text{Fe(III)}$ , la très forte affinité de la DFA pour  $\text{Fe}^{3+}$  (Tableau 3.6) expliquait le relâchement préférentiel de cet élément, formateur de réseau, et donc la déstabilisation du réseau silicaté et l'accélération de la réaction globale de dissolution du verre par rapport à une expérience en EUP seule. Dans le cas du verre HAPLO, en l'absence de fer, la DFA complexait par défaut l'aluminium, lui aussi formateur de réseau. La disso-

lution était dans ce cas accélérée, mais à un moindre degré (Figure 3.4). Le verre MORB2, quant à lui, contient du fer, mais sous sa forme réduite. Il apparaît donc que la DFA, en présence d'un verre contenant du fer ferreux, ne complexe pas alternativement  $Al^{3+}$  (malgré une affinité importante pour cet élément), puisqu'on observe que l'aluminium n'est relâché en solution qu'à une vitesse dépassant à peine celle calculée en EUP. Le fer détectée en solution (Figure 3.2) ne pouvant être présent que sous sa forme complexée soluble (cet élément est fortement insoluble à un tel pH), on peut donc émettre deux hypothèses, à savoir : (1) la DFA a pu complexer le Fe(II) présent à la surface du verre et favoriser son détachement et son relâchement dans la solution ou (2) la DFA se lie au fer relâché, rapidement oxydé en solution et/ou potentiellement reprécipité sous la forme d'oxydes de Fe(III) insolubles. Les deux hypothèses sont plausibles, la DFA pouvant en théorie complexer le Fe(II) ( $K_f = 10^{9,0}$ ). Cependant, ce sidérophore complexant bien plus favorablement l'aluminium ( $K_f = 10^{24,1}$ ), on peut douter de la véracité de l'hypothèse (1) au regard du faible relâchement en solution de l'aluminium. Il paraît plus probable qu'en présence de Fe(III) en solution ou intégré à des phases secondaires oxydées, et du fait de sa très forte affinité pour le fer ferrique, la DFA complexe exclusivement cet élément. Cette complexation aurait cette fois lieu en solution, mais pourrait néanmoins avoir un impact sur la dissolution du verre, en augmentant la solubilité apparente du fer, favorisant ainsi la réaction de dissolution. Ceci expliquerait la légère accélération des vitesses de dissolution du verre MORB2 par rapport aux expériences en EUP.

**Ce qu'il faut retenir :**

LA BPI semble avoir un effet limité sur la dissolution d'un verre MORB, même réduit. On observe toutefois, en présence de ce ligand, des différences entre les cinétiques de dissolution des verres MORB2 et MORB3. Les départs massifs et largement préférentiels du calcium et du magnésium constatés lors des expériences de dissolution du verre MORB3 ne sont notamment pas observés pour le verre MORB2. Ces différences pourraient être expliquées par une organisation structurale différente d'un verre majoritairement MORB oxydé à majoritairement réduit.

La DFA, véritable accélérateur de la dissolution du verre MORB3, a un effet nettement moins important sur la dissolution du verre MORB2. On attribue la faible accélération des vitesses de dissolution observée à la complexation du fer en milieu aqueux, oxydée au contact de la solution. La DFA n'a en revanche aucun effet sur le relâchement de l'aluminium. Il apparaît donc qu'en présence de fer dans le système (Fe(II) ou Fe(III)), l'affinité de la DFA pour cet élément prend le pas sur toutes les autres.

### 3.3 Conclusions

Dans ce chapitre, les cinétiques de dissolution de trois verres basaltiques ont été étudiées. La synthèse de trois verres modèles, différant de par leurs teneurs en Fe(II)/Fe(III), nous a permis de nous concentrer sur le rôle joué par le fer dans les réactions de dissolution en présence de ligands pouvant former des complexes ferreux/ferriques. Ce travail a donc permis d'aborder les problématiques d'altération, en présence de certains exsudats bactériens (à savoir les sidérophores), des verres basaltiques, moins ciblés par la littérature dans les études de ce genre alors que très abondants à la surface de la terre et représentant une importante source de fer mobilisable par les cellules bactériennes. De ce travail, il transparait d'ailleurs que les effets des ligands sur la dissolution des trois verres basaltiques préparés sont proches de ceux décrits dans la littérature pour divers minéraux silicatés/oxydes métalliques. Toutefois, la structure particulière du verre (et notamment l'existence d'éléments formateurs/modificateurs de réseau, plus ou moins impliqués dans la structure), la présence simultanée d'aluminium et de fer (compétition pour les réactions de complexation) a

mis en évidence des mécanismes plus complexes.

En présence d'AO ou de DFA, la complexation, en surface du verre, des cations trivalents du verre et le relâchement préférentiel de ces éléments, contrôle la dissolution en déstabilisant et en fragilisant la structure du verre. S'il apparaît que l'AO complexe préférentiellement l'aluminium, la DFA se lie plus favorablement au Fe(III) dès qu'il est présent dans le système. Enfin, pour les expériences réalisées dans les solutions de BPI, les complexes formés impliquent uniquement les cations divalents du verre ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ), dont le relâchement préférentiel n'impacte que faiblement la dissolution du réseau silicaté.

Cette première partie a constitué un travail préliminaire à la mise en place d'expériences dans des milieux plus élaborés et faisant intervenir le vivant (souches bactériennes). Elle demeure pour autant une étape très importante et indispensable à l'identification des mécanismes de dissolution à court-terme. Elle s'est en effet avérée complexe, tant elle recoupait des critères aussi bien structuraux internes aux verres (effets de composition, redox du fer) que propres à la solution (effets des ligands). Enfin, elle a permis de compléter les études traitant des processus d'altération des matériaux silicatés en présence de ligands, en apportant de nouvelles données pour les verres basaltiques.





# Impact of iron chelators on short-term dissolution of basaltic glass

Anne Perez<sup>a,\*</sup>, Stéphanie Rossano<sup>a,\*</sup>, Nicolas Trcera<sup>b</sup>, Aurélie Verney-Carron<sup>c</sup>,  
David Huguenot<sup>a</sup>, Eric D. van Hullebusch<sup>a</sup>, Gilles Catillon<sup>a</sup>,  
Angelina Razafitianamaharavo<sup>d</sup>, François Guyot<sup>e</sup>

<sup>a</sup> Université Paris-Est, Laboratoire Géomatériaux et Environnement (EA 4508), UPEM, 77454 Marne-la-Vallée, France

<sup>b</sup> Lucia Beamline, Synchrotron SOLEIL, 91192 Gif-sur-Yvette, France

<sup>c</sup> Laboratoire Interuniversitaire des Systèmes Atmosphériques, UMR-CNRS 7583, Université Paris Est Créteil, France

<sup>d</sup> Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux, CNRS UMR7360, Université de Lorraine,  
54501 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

<sup>e</sup> Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie, Muséum National d'Histoire Naturelle, CNRS, UPMC, IRD,  
75005 Paris, France

Received 15 July 2014; accepted in revised form 14 April 2015; Available online 23 April 2015

## Abstract

Although microorganisms seem to play an important role in the alteration processes of basaltic glasses in solution, the elementary mechanisms involved remain unclear in particular with regard to the role of organic ligands excreted by the cells. Two glasses, one with Fe and one without Fe were synthesized to model basaltic glass compositions. Fe in the glass was mostly Fe(III) for enhancing interaction with siderophores, yet with small but significant amounts of Fe(II) (between 10% and 30% of iron). The prepared samples were submitted to abiotic alteration experiments in buffered (pH 6.4) diluted solutions of metal-specific ligands, namely oxalic acid (OA, 10 mM), desferrioxamine (DFA, 1 mM) or 2,2'-bipyridyl (BPI, 1 mM). Element release from the glass into the solution after short term alteration (maximum 1 week) was measured by ICP-OES, and normalized mass losses and relative release ratios (with respect to Si) were evaluated for each element in each experimental condition. The presence of organic ligands had a significant effect on the dissolution of both glasses. Trivalent metals chelators (OA, DFA) impacted on the release of Fe<sup>3+</sup> and Al<sup>3+</sup>, and thus on the global dissolution of both glasses, enhancing all release rates and dissolution stoichiometry (release rates were increased up to 7 times for Al or Fe). As expected, the mostly divalent metal chelator BPI interacted preferentially with Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> and Fe<sup>2+</sup>. This study thus allows to highlight the central roles of iron and aluminium in interaction with some organic ligands in the alteration processes of basaltic glasses. It thus provides a step toward understanding the biological contribution of this fundamental geological process.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. INTRODUCTION

Alteration mechanisms of glasses constitute a major area of interest in many research fields. In an environmental

context, studies about nuclear glass weathering have been largely reported in the literature. Short-term alteration experiments have been designed to determine initial dissolution rates (Luckescheiter and Nesovic, 2004; Fournier et al., 2014) while residual dissolution rates have been calculated for very long-term alteration experiments (Curti et al., 2006; Libourel et al., 2011; Gin et al., 2012, 2013, 2014). These short and long-term dissolution kinetics were investigated with respect to parameters such as temperature and pH (Pierce et al., 2008) and glass elemental composition

\* Corresponding authors at: Laboratoire Géomatériaux & Environnement, 5 boulevard Descartes, 77 420 Champs-sur-Marne, France.

E-mail addresses: [anne.perez@u-pem.fr](mailto:anne.perez@u-pem.fr) (A. Perez), [stephanie.rossano@u-pem.fr](mailto:stephanie.rossano@u-pem.fr) (S. Rossano).

(Gin et al., 2012), and they have been coupled to studies of the alteration gel (Rebiscoul et al., 2005; Jollivet et al., 2008; Gin et al., 2015; Hellmann et al., 2015) or of secondary phases (Pelegri et al., 2010). These experiments were performed in pure water, water enriched in elements from the glass (Luckscheiter and Nesovic, 2004; Thien et al., 2012) and in salt solutions (Godon et al., 1988; Abdelouas et al., 1993). The stability and dissolution behavior of bioglass, designed to form chemical bonds with living tissues (Souza et al., 2013), is of interest to the medical field. Glass alteration is also a crucial issue in the field of cultural heritage, especially with respect to the restoration and conservation of stained glass windows (see, for example Silvestri et al., 2005; Warkinson et al., 2005; Cagno et al., 2011; Gentaz, 2011; Schalm et al., 2010; Sterpenich, 2011; Lombardo et al., 2013). Finally, in a geological context, igneous rock alteration processes and especially basaltic glass-fluid interactions have been examined, as they provide knowledge about the major biogeochemical cycles of the Earth (Fliegel et al., 2012; Knowles et al., 2013). For example, glass weathering plays a central role in geological sequestration of CO<sub>2</sub> (Knauss et al., 2005) and contributes to the cycling of elements such as calcium, magnesium, silicon, iron and also oxygen in soils, rivers, lakes and oceans (Gislason et al., 2009). Basaltic glasses are also considered to be analogues of some nuclear glasses (Crovisier et al., 2003; Parruzot et al., 2015) and by extension, of archaeological glasses (Verney-Carron et al., 2008; Michelin et al., 2013).

The dissolution mechanisms of silicate glasses in solution have been extensively documented in the literature (Techer et al., 2000; Oelkers, 2001; Stroncik and Schmincke, 2002; Crovisier et al., 2003; Verney-Carron et al., 2008; Fournier et al., 2014). However, few studies have investigated this alteration under the action of microorganisms (Drewello and Weissmann, 1997; Gorbushina and Palinska, 1999; Gallien et al., 2001; Aouad et al., 2006; Stockmann et al., 2012; Shen et al., 2014) despite their well known interaction with mineral surfaces in general (Hutchens, 2009). Microorganisms have been shown to either enhance or inhibit dissolution of most minerals by a variety of mechanisms, especially through a direct impact of bacteria attached to the glass surface (Hutchens, 2009) and also by considering the possible effect of microbial metabolites excreted by the cells (Ullman et al., 1996). An example of this is siderophores, which are excreted in response to iron deficiency by different biological sources such as bacteria or fungi, in soils and in oceans. They have been shown to target and acquire specifically iron from iron-containing minerals and to mediate metal transport and re-absorption into the cell (Kalinowski et al., 2000b; Kraemer, 2004; Wolff Boenish and Traina, 2007). As a consequence, they have been described as catalytic agents of the dissolution of those minerals. A considerable number of studies have described this ligand-controlled dissolution as a surface controlled process to which an empirical rate law can be applied:

$$R_t = R_H + R_L \quad (1)$$

where  $R_t$  is the overall dissolution rate,  $R_H$  the proton-promoted rate and  $R_L$  a ligand-promoted term (Furrer and

Stumm, 1986; Welch and Ullmann, 1993; Drever and Stillings, 1997; Stillings et al., 1998; Rosenberg and Maurice, 2003; Cama and Ganor, 2006).

Iron is a micronutrient that is essential for a range of crucial enzymatic processes in most organisms. In most environments iron deficiency is triggered by low iron bioavailability. To overcome this limitation, microorganisms and especially bacteria are known to sequester iron using organic molecules (Kraemer, 2004). Most siderophores are Fe<sup>3+</sup>-ligands, but they are most of the time able to bind ions other than Fe<sup>3+</sup> and notably divalent cations (Hernlem et al., 1996; Braud et al., 2009; Brandel et al., 2012). Although considerable research has been carried out to examine the processes and products of abiotic basaltic glass weathering, little work has been done to quantitatively understand their weathering process in the presence of bacteria and organic bioproducts (Staudigel, 1995).

In this work, the impact of siderophores on the alteration of two synthetic basaltic glasses was investigated as a first step towards the understanding of natural systems. Three iron chelators, namely oxalic acid (OA), desferrioxamine (DFA) and 2,2'-bipyridyl (BPI) were chosen on the basis of their respective affinity with iron in its Fe(II) and/or Fe(III) oxidation states. The effect of OA on mineral dissolution has been reported in the literature (Furrer and Stumm, 1986; Zinder et al., 1986; Welch and Ullman, 1992; Stillings et al., 1995; Drever and Stillings, 1997; Oelkers and Gislason, 2001; Cheah et al., 2003; Wang et al., 2005; Olsen and Rimstidt, 2008; Martinez-Luevanos et al., 2011). OA can be complexed with both ferric and ferrous ions but its affinity with trivalent metal cations is stronger. DFA is a hexadentate siderophore produced by the soil bacterial strain *Streptomyces pilosus*, in which three hydroxamate groups, each acting as a bidentate ligand, contribute to the specific ligation of Fe<sup>3+</sup> and therefore to the formation of very stable 1:1 complexes with aqueous Fe(III) (Kraemer et al., 1999; Liermann et al., 2000; Elandaloussi, 2003). By contrast, BPI is a bidentate chelator that predominantly binds aqueous Fe(II). Three molecules of BPI are necessary to coordinate with one Fe atom. While the impact of DFA on dissolution of mineral phases has been widely investigated in studies which illustrate the synergistic effect that the molecule has on dissolution (Watteau and Berthelin, 1994; Kraemer et al., 1999; Liermann et al., 2000; Cocozza et al., 2001; Cheah et al., 2003; Wolff-Boenisch, 2007), the interactions between 2,2'-bipyridyl and minerals have been the goal of only a few studies mainly focusing on the adsorption process of BPI on solids surfaces (Coluccia et al., 1978; Ferreira et al., 1983).

The use of Fe-specific chelators implies that we are focussing on the solvation of Fe and its possible impact on the global dissolution of the glass. In this regard, two different glasses (with and without Fe) were prepared using a simplified basaltic glass composition. Experiments were performed to evaluate the significance of the ligand-promoted dissolution and to determine the effect of three organic ligands, namely OA, DFA and BPI, on basaltic glass dissolution mechanisms at pH 6.4 and 25 °C. Experimental conditions were chosen to ensure a negligible

effect of proton-promoted dissolution. Siderophore concentrations were deliberately chosen to be higher than the concentrations usually found in nature, in order to mimic localized microenvironments found at the interfacial region between bacteria and silicate materials. Their respective values were chosen on the base of mineral dissolution studies involving OA (Stillings et al., 1995; Cheah et al., 2003) and DFA (Hersman et al., 1995). Oxalic acid concentrations were chosen to be higher than those of the other iron chelators considering the relative abundance of organic acids in natural environment with respect to siderophores.

## 2. MATERIAL AND METHODS

### 2.1. Glass materials

Two glass compositions were studied (Table 1). The first was prepared according to a simplified typical Mid Oceanic Ridge Basalt (MORB) composition (GERM, 2000) and the second (HAPLO) is an iron-free glass of close composition except that iron has been replaced by magnesium.

Samples were prepared from powdered oxides and carbonates ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{MgCO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ). The starting materials were dried overnight at 100 °C, weighed, mixed in an agate mortar, and placed in a platinum crucible. Glass preparation took place in a high-temperature furnace Carbolite HTF 1700. To start the decarbonation of the mixture, the temperature was maintained at 600 °C for 45 min. Then the temperature was increased up to 1500 °C and kept for 1 h to homogenize the melt. The bottom of the crucible was then poured into water to quench the silicate melt into a glass. The resulting glass was then coarsely ground and placed into the crucible. The temperature was increased up to 1630 °C and maintained for 1 h in order to pour the melted glass in a graphite cylindrical crucible at ambient temperature. The cylindrical piece of glass obtained was annealed overnight at 600 °C. This temperature was chosen according to Differential Scanning Calorimetry measurements performed on a SETARAM labSys EVO-1600 (temperature range 30–1550 °C, increase in temperature of 10 °C.min<sup>-1</sup> under reconstituted air). Glass-transition temperatures were equal to 676 °C and 735 °C for MORB and HAPLO glasses, respectively. The prepared glasses were then ground into powder and the 100–200 µm size fraction was selected. This fraction was cleaned using washing by sedimentation

in acetone to remove fine particles and then sterilized for 10–15 min at 200 °C.

X-ray Diffraction (XRD) confirmed that the synthesized solids were purely amorphous. The XRD data were collected from 2.5 to 120° 2θ using a Bruker D8 XRD diffractometer. X-ray absorption at the Fe K-edge was used to confirm that iron oxidation state was not changing between the different steps of sample preparation (before and after annealing, before and after sterilization). Measurements were performed on the LUCIA beamline (SOLEIL synchrotron). All the spectra were similar implying that the redox ratio did not vary during processing. The obtained spectra were characteristic of a glass mainly containing Fe(III). Fe(II) content can be estimated to 10 to 30 at.% of total iron.

The specific surface area of the samples was measured on 5.3 g of glass powder (100–200 µm size fraction) using nitrogen adsorption and application of the Brunauer-Emmett-Teller (BET) method (Brunauer et al., 1938). Measured values are 0.040 ± 0.0 m<sup>2</sup>/g for the MORB and 0.038 ± 0.01 m<sup>2</sup>/g for the HAPLO glass. For comparison, the geometric surface was evaluated to 0.16 m<sup>2</sup>/g considering that the powder was made of spheres whose diameter ranged between 100 and 200 µm.

### 2.2. Dissolution experiments

Dissolution experiments were performed in highly diluted conditions to prevent saturation effects and back-reactions on the dissolution rates. For the experiments, splits of basaltic glass (0.1 g) were immersed in 40 mL of liquid medium contained within 50 mL sterile polypropylene flasks. The calculated surface to volume (S/V) ratios are 100 m<sup>-1</sup> and 95 m<sup>-1</sup> for the MORB and HAPLO samples, respectively. To assess the reproducibility of the results, two sets of experiments (from glass synthesis to alteration) were successively performed.

The liquid medium was prepared with 1 L of Ultrapure water (UPW) (Electrical Resistivity 18.2 MΩ) mixed with 1 mM NaHCO<sub>3</sub> pH buffer and 30.8 µL HNO<sub>3</sub> 65% in order to maintain a pH of 6.4. Aliquots were measured from each tube after the experiments with an Ag/AgCl type electrode to control the stability of the pH, and the remainder of each sample was kept for analysis. OA, DFA (*Alfa Aesar*) or BPI (*Alfa Aesar*) were added to achieve initial concentrations of 10 mM for OA, 1 mM for DFA and BPI, respectively. The OA solution was prepared by mixing 0.1 L solution of 100 mM OA with 0.80 g of NaOH in order to maintain a pH of 6.4. The solution was then diluted 10 times with UPW and mixed with 1 mM NaHCO<sub>3</sub> and 30.8 µL HNO<sub>3</sub> 65% to maintain this pH during experiments. Controls without organic molecules added, labeled UPW, were also monitored. The suspensions were continuously shaken on an agitation table at 160 rpm and 25 °C for durations ranging from 8 h to 7 days.

Sampling was performed after 0.3, 1, 2, 4, 7 days for the UPW and OA solutions and after 0.3, 1, 2, 2.8, 5, 7 days for the DFA and BPI solutions respectively, by filtering the content of each flask with 0.2 µm cellulose-acetate syringe filters.

Table 1  
Nominal composition of samples.

	MORB (wt.%)	HAPLO (wt.%)
SiO <sub>2</sub>	48.6	51.6
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	15.7	16.7
FeO	12.5	0.0
CaO	11.1	11.8
MgO	7.7	15.2
Na <sub>2</sub> O	2.7	2.9
TiO <sub>2</sub>	1.4	1.5
K <sub>2</sub> O	0.2	0.3

Table 2

Concentrations (in  $\mu\text{g/L}$ ) of elements released from the MORB glass into oxalic acid (OA), desferrioxamine (DFA), 2,2'-bipyridyl (BPI) and ultrapure water (UPW) solutions. Sample time varies between 8 h (H) to 7 d (D). (1) and (2) correspond to both sets of experiments. Standard deviations correspond to analytical absolute errors on concentrations for a specific area of  $0.04 \text{ g/m}^2$ .

Sample time	Si		Al		Fe		Ca		Mg		
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	
OA	8H	26.1 $\pm$ 2.6	32.2 $\pm$ 2.6	13.6 $\pm$ 0.3	17.5 $\pm$ 0.3	36.2 $\pm$ 3.0	42.3 $\pm$ 3.0	22.5 $\pm$ 8.0	25.7 $\pm$ 8.0	35.9 $\pm$ 3.6	25.5 $\pm$ 3.6
	1D	82.0 $\pm$ 1.2	92.2 $\pm$ 1.2	31.5 $\pm$ 0.3	29.2 $\pm$ 0.3	52.5 $\pm$ 0.9	57.9 $\pm$ 0.9	41.5 $\pm$ 8.0	49.9 $\pm$ 8.0	44.7 $\pm$ 3.6	42.0 $\pm$ 3.6
	2D	120.1 $\pm$ 1.7	84.5 $\pm$ 1.2	63.4 $\pm$ 1.0	21.1 $\pm$ 0.3	88.7 $\pm$ 0.9	43.9 $\pm$ 0.9	88.1 $\pm$ 10.7	64.9 $\pm$ 10.7	53.6 $\pm$ 2.3	40.3 $\pm$ 3.6
	3D	158.1 $\pm$ 1.7	155.8 $\pm$ 1.7	56.3 $\pm$ 1.0	59.6 $\pm$ 2.5	70.9 $\pm$ 0.9	81.3 $\pm$ 0.9	62.6 $\pm$ 10.7	53.5 $\pm$ 10.7	57.4 $\pm$ 2.3	62.6 $\pm$ 2.3
	4D	179.4 $\pm$ 1.7	191.7 $\pm$ 1.7	73.6 $\pm$ 1.0	72.4 $\pm$ 1.0	92.1 $\pm$ 0.9	104.1 $\pm$ 0.9	33.0 $\pm$ 8.0	36.7 $\pm$ 8.0	63.3 $\pm$ 2.3	72.5 $\pm$ 2.3
	7D	351.0 $\pm$ 1.7	292.6 $\pm$ 2.0	150.0 $\pm$ 1.8	106.2 $\pm$ 1.0	152.1 $\pm$ 0.9	141.6 $\pm$ 0.9	49.4 $\pm$ 8.0	48.1 $\pm$ 8.4	104.5 $\pm$ 3.6	97.6 $\pm$ 2.3
DFA	8H	29.1 $\pm$ 2.6	32.9 $\pm$ 2.6	2.7 $\pm$ 0.3	10.9 $\pm$ 0.3	29.8 $\pm$ 3.0	28.1 $\pm$ 3.0	46.2 $\pm$ 8.0	57.0 $\pm$ 10.7	34.9 $\pm$ 3.6	37.0 $\pm$ 3.6
	1D	54.2 $\pm$ 1.2	59.1 $\pm$ 1.2	27.3 $\pm$ 0.3	32.3 $\pm$ 0.3	58.2 $\pm$ 0.9	57.1 $\pm$ 0.9	75.5 $\pm$ 10.7	105.4 $\pm$ 8.2	49.4 $\pm$ 3.6	52.3 $\pm$ 2.3
	2D	97.9 $\pm$ 1.2	68.6 $\pm$ 1.2	55.6 $\pm$ 1.0	45.5 $\pm$ 0.3	90.8 $\pm$ 0.9	110.2 $\pm$ 0.9	116.5 $\pm$ 8.2	108.5 $\pm$ 8.2	70.2 $\pm$ 2.3	60.0 $\pm$ 2.3
	2.7D	143.4 $\pm$ 1.7	132.0 $\pm$ 1.7	70.0 $\pm$ 1.0	67.6 $\pm$ 1.0	109.8 $\pm$ 0.9	107.0 $\pm$ 0.9	136.8 $\pm$ 8.2	133.2 $\pm$ 8.2	78.7 $\pm$ 2.3	81.0 $\pm$ 2.3
	5D	245.6 $\pm$ 2.0	203.3 $\pm$ 2.0	110.7 $\pm$ 1.8	96.3 $\pm$ 1.0	152.2 $\pm$ 0.9	153.3 $\pm$ 0.9	178.5 $\pm$ 8.2	224.8 $\pm$ 8.2	102.6 $\pm$ 3.6	103.3 $\pm$ 3.6
	7D	296.5 $\pm$ 2.0	315.3 $\pm$ 1.7	125.7 $\pm$ 1.8	139.0 $\pm$ 1.8	182.1 $\pm$ 0.9	200.9 $\pm$ 2.0	206.4 $\pm$ 8.2	263.0 $\pm$ 8.2	113.5 $\pm$ 3.6	136.1 $\pm$ 3.6
BPI	8H	37.7 $\pm$ 2.6	26.8 $\pm$ 2.6	0.3 $\pm$ 0.3	0.4 $\pm$ 0.3	10.1 $\pm$ 3.0	4.7 $\pm$ 3.0	45.6 $\pm$ 8.0	24.0 $\pm$ 8.0	47.7 $\pm$ 3.6	41.7 $\pm$ 3.6
	1D	50.9 $\pm$ 1.2	68.4 $\pm$ 1.2	0.0 $\pm$ 0.3	7.8 $\pm$ 0.3	12.5 $\pm$ 3.0	7.9 $\pm$ 3.0	71.6 $\pm$ 10.7	90.4 $\pm$ 10.7	58.6 $\pm$ 2.3	65.1 $\pm$ 2.3
	2D	93.4 $\pm$ 1.2	85.7 $\pm$ 1.2	7.6 $\pm$ 0.3	8.2 $\pm$ 0.3	20.5 $\pm$ 3.0	12.6 $\pm$ 3.0	118.0 $\pm$ 8.2	125.3 $\pm$ 8.2	76.1 $\pm$ 2.3	78.5 $\pm$ 2.3
	2.7D	113.6 $\pm$ 1.7	107.0 $\pm$ 1.7	12.5 $\pm$ 0.3	10.4 $\pm$ 0.3	23.2 $\pm$ 3.0	21.4 $\pm$ 3.0	135.3 $\pm$ 8.2	151.9 $\pm$ 8.2	84.1 $\pm$ 2.3	87.9 $\pm$ 2.3
	5D	180.8 $\pm$ 1.7	150.2 $\pm$ 1.7	27.4 $\pm$ 0.3	15.2 $\pm$ 0.3	30.5 $\pm$ 3.0	40.4 $\pm$ 3.0	171.0 $\pm$ 8.2	171.8 $\pm$ 8.2	97.9 $\pm$ 2.3	96.0 $\pm$ 2.3
	7D	157.9 $\pm$ 1.7	165.6 $\pm$ 1.7	22.2 $\pm$ 0.3	12.8 $\pm$ 0.3	36.5 $\pm$ 3.0	54.4 $\pm$ 0.9	123.5 $\pm$ 8.2	190.3 $\pm$ 8.2	84.1 $\pm$ 2.3	99.5 $\pm$ 2.3
UPW	8H	9.5 $\pm$ 2.6	2.3 $\pm$ 2.6	1.3 $\pm$ 0.3	0.08 $\pm$ 0.3	0.0	0.0	20.2 $\pm$ 8.0	21.6 $\pm$ 8.0	19.6 $\pm$ 3.6	21.3 $\pm$ 3.6
	1D	23.2 $\pm$ 2.6	39.3 $\pm$ 2.6	0.9 $\pm$ 0.3	1.4 $\pm$ 0.3	0.0	0.0	36.6 $\pm$ 8.0	32.4 $\pm$ 8.0	23.9 $\pm$ 3.6	29.6 $\pm$ 3.6
	2D	35.7 $\pm$ 2.6	50.7 $\pm$ 1.2	3.2 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.3	0.0	0.0	55.9 $\pm$ 10.7	58.7 $\pm$ 10.7	28.2 $\pm$ 3.6	26.2 $\pm$ 3.6
	3D	54.5 $\pm$ 1.2	81.6 $\pm$ 1.2	19.2 $\pm$ 0.3	29.8 $\pm$ 0.3	0.0	0.0	46.6 $\pm$ 8.0	78.5 $\pm$ 10.7	31.8 $\pm$ 3.6	32.5 $\pm$ 3.6
	4D	66.3 $\pm$ 1.2	73.8 $\pm$ 1.2	8.6 $\pm$ 0.3	27.0 $\pm$ 0.3	0.0	0.0	65.6 $\pm$ 10.7	62.9 $\pm$ 10.7	34.9 $\pm$ 3.6	34.0 $\pm$ 3.6
	7D	84.7 $\pm$ 1.2	102.9 $\pm$ 1.7	29.2 $\pm$ 0.3	37.6 $\pm$ 0.3	0.0	0.0	75.8 $\pm$ 10.7	77.6 $\pm$ 10.7	32.5 $\pm$ 3.6	41.8 $\pm$ 3.6

The amounts of dissolved Si, Al, Fe, Ca and Mg in each sample were analyzed using a Perkin Elmer Optima 8300 ion coupled plasma optical emission spectrometer (ICP-OES). Ti and K concentrations in solution were not analyzed because of their low concentration in the solid. Na was also exempted from ICP-OES analysis because it was present in the buffer solution at a concentration of 1 mM. Si, Al, Fe, Ca and Mg ICP standard solutions were prepared by dissolving a commercial multielement solution (*Merck Chemicals*) in UPW. Both alteration solutions and standards were acidified with 1% HNO<sub>3</sub> prior to analysis. Each analysis consisted in the average of three successive measurements.

For each element  $i$  and at each dissolution time, the normalized mass loss  $NL_i$  from the glass into the solution was calculated using Eq. (2). Considering a linear regression, the initial slope of the curve was calculated in order to evaluate the initial rate of dissolution  $r_i$  as given in Eq. (3):

$$NL_i = \frac{[i]}{S/V \times x_i} \quad (2)$$

$$r_i = \frac{dNL_i}{dt} = \frac{d[i]}{S/V \times x_i \times dt} \quad (3)$$

where  $[i]$  is the concentration (mg.L<sup>-1</sup>) of the element  $i$  in solution,  $S$  the surface of the glass powder in contact with the fluid,  $V$  the volume of solution and  $x_i$  the mass percentage of the element  $i$  in the glass. The variations of  $V$  and  $S$  were considered as negligible and were not taken into account in the calculations.

Dissolution stoichiometry was assessed by the use of the Relative Release Ratio that quantifies the relative release of one element  $X$  from the glass with respect to Si (*Holdren and Spyer, 1985*):

$$RRR_{X/Si} = \frac{(X/Si)_{\text{solution}}}{(X/Si)_{\text{solid}}} \quad (4)$$

When  $RRR_{X/Si} = 1$ , dissolution is stoichiometric for each element  $X$  relative to Si. When  $RRR_{X/Si}$  is greater than 1, element  $X$  is preferentially released with respect to Si; in contrast at values lower than 1 Si is released preferentially to element  $X$ .

### 2.3. Uncertainty calculations

Experimental specific surface measurements depend on the quantity of the sample, which is determined by the experimental device. Due to the granulometry of the powders (100–200 μm), measured specific surface areas are small. In consequence the absolute error on the specific area value is high and will not be taken into account for the representation of the error bars on the graphs.

For a specific surface area value (0.04 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> in this work), analytical absolute errors on elemental concentrations were determined for each element (Si, Al, Fe, Ca, Mg) by analyzing several dilutions (10 ppb, 50 ppb, 100 ppb, 200 ppb, 500 ppb and 1 ppm) of a multielement solution. Five measurements were performed for each dilution and each element and dispersion was evaluated for a certain range of concentration by calculating the standard

deviation (SD). The analytical absolute error on concentrations was considered as ±2SD to ensure a confidence interval of 96%.

For a given specific surface, and considering the variations of  $V$  and glass composition as negligible, the relative errors on NL are thus equal to relative errors on concentrations.

## 3. RESULTS

Basaltic glass dissolution kinetics were monitored at pH = pK<sub>A</sub>(H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) = 6.4 to minimize proton promoted dissolution and to enhance the effect of organic ligands (*Welch and Ullman, 1992; Furrer and Stumm, 1986*). No relevant change in pH occurred in the UPW, OA or DFA solutions and pH values all ranged between 6.40 and 6.83. The pH monitoring of BPI solutions gave values ranging from 7.02 to 7.28.

The concentrations of the elements released from the MORB and HAPLO glasses into the solution are given in the *Tables 2 and 3*, respectively, for both sets of experiments.

Si concentrations (<1 mg/L) in all solutions after 7 d of the experiments are much lower than the calculated concentration of Si in a solution in equilibrium with amorphous silica (54 mg/L) or quartz (5 mg/L) (*Gunnarson and Arnorsson, 2000*). This attests to the far-from-equilibrium conditions of the dissolution reaction despite the rate model considered (*Grambow, 1985; Daux et al., 1997; Oelkers and Gislason, 2001*). However, affinity effects on the release rate cannot completely be excluded in such experiments (*S. Gin, personal communication*).

### 3.1. Normalized mass loss profiles

Normalized mass losses (NLs) for Si, Al, Fe, Ca and Mg during alteration experiments in the UPW, OA, DFA and BPI solutions are plotted as a function of time in *Fig. 1* for the MORB composition and in *Fig. 2* for the HAPLO composition.

In most cases, NL values increase with time whatever the cation, the organic ligand and the glass composition considered. The increase appears to be linear during the first 2–3 d indicating a constant rate of dissolution. NL profiles are similar for MORB and HAPLO glasses.

For each element, the highest NL after 7 d of dissolution are systematically observed in the OA and DFA dissolution profiles. In the DFA solution, a progressive decrease in slopes is observed. When dissolution occurs in the presence of oxalate, a discontinuity is noticed on Al and Fe mass loss profiles after 2 d (MORB duplicates set 1, HAPLO duplicates set 1), 1 d (MORB duplicates set 2) and 3 d (HAPLO duplicates set 2). Despite these changes of slope, NL values continue to increase until the end of the dissolution experiments. These discontinuities in Al and Fe NLs may be due to local precipitation of secondary mineral phases. As alteration layers are very thin (ranging from a few tens to a few hundred angstroms, according to calculations made on the basis of the solution chemistry) such secondary phases would not be detected by Scanning Electron Microscopy (*Chou and Wollast, 1984*). Transmission electron microscopy on

Table 3

Concentrations (in  $\mu\text{g/L}$ ) of elements released from the HAPLO glass into oxalic acid (OA), desferrioxamine (DFA), 2,2'-bipyridyl (BPI) and ultrapure water (UPW) solutions. Sample time varies between 8 h (H) to 7 d (D). (1) and (2) correspond to both sets of experiments. Standard deviations correspond to analytical absolute errors on concentrations for a specific area of  $0.04 \text{ g/m}^2$ .

	Sample time	Si		Al		Ca		Mg	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
OA	8H	$24.1 \pm 2.6$	$31.3 \pm 2.6$	$22.1 \pm 0.3$	$19.4 \pm 0.3$	$25.3 \pm 8.0$	$20.6 \pm 8.0$	$61.4 \pm 2.3$	$41.8 \pm 3.6$
	1D	$49.7 \pm 2.6$	$60.1 \pm 1.2$	$41.0 \pm 0.3$	$38.4 \pm 0.3$	$47.1 \pm 8.0$	$50.9 \pm 10.7$	$85.4 \pm 2.3$	$69.8 \pm 2.3$
	2D	$102.5 \pm 1.7$	$189.7 \pm 1.7$	$68.0 \pm 1.0$	$116.8 \pm 1.8$	$79.2 \pm 10.7$	$95.0 \pm 10.7$	$125.1 \pm 3.6$	$178.0 \pm 3.6$
	3D	$175.4 \pm 1.7$	$121.4 \pm 1.7$	$107.3 \pm 1.8$	$67.9 \pm 1.0$	$113.1 \pm 8.2$	$116.7 \pm 8.2$	$164.6 \pm 3.6$	$110.8 \pm 3.6$
	4D	$183.6 \pm 1.7$	$132.7 \pm 1.7$	$96.4 \pm 1.0$	$70.9 \pm 1.0$	$124.8 \pm 8.2$	$126.5 \pm 8.2$	$158.0 \pm 3.6$	$110.0 \pm 3.6$
	7D	$355.0 \pm 1.7$	$436.6 \pm 1.7$	$179.1 \pm 1.8$	$200.5 \pm 1.8$	$138.9 \pm 8.2$	$151.0 \pm 8.2$	$240.7 \pm 6.7$	$262.4 \pm 6.7$
	DFA	8H	$15.0 \pm 2.6$	$19.8 \pm 2.6$	$4.9 \pm 0.3$	$7.9 \pm 0.3$	$25.3 \pm 8.0$	$11.3 \pm 8.0$	$45.1 \pm 3.6$
1D		$31.1 \pm 2.6$	$31.1 \pm 2.6$	$24.8 \pm 0.3$	$18.7 \pm 0.3$	$47.6 \pm 8.0$	$57.8 \pm 10.7$	$71.1 \pm 2.3$	$64.0 \pm 2.3$
2D		$61.8 \pm 1.2$	$52.7 \pm 1.2$	$45.6 \pm 0.3$	$37.9 \pm 0.3$	$68.4 \pm 10.7$	$62.1 \pm 10.7$	$93.4 \pm 2.3$	$82.2 \pm 2.3$
2.7D		$88.0 \pm 1.2$	–	$57.7 \pm 1.0$	–	–	–	$106.0 \pm 3.6$	–
5D		$169.8 \pm 1.7$	$150.6 \pm 1.7$	$87.3 \pm 1.0$	$83.0 \pm 1.0$	–	$126.5 \pm 8.2$	$136.0 \pm 3.6$	$139.2 \pm 3.6$
7D		$202.4 \pm 1.7$	$169.0 \pm 1.7$	$96.9 \pm 1.0$	$91.0 \pm 1.0$	$118.0 \pm 8.2$	$123.8 \pm 8.2$	$145.3 \pm 3.6$	$184.5 \pm 3.6$
BPI		8H	$17.9 \pm 2.6$	$26.2 \pm 2.6$	$2.2 \pm 0.3$	$3.4 \pm 0.3$	$21.1 \pm 8.0$	$25.4 \pm 8.0$	$51.8 \pm 2.3$
	1D	$28.7 \pm 2.6$	$35.3 \pm 2.6$	$2.7 \pm 0.3$	$2.6 \pm 0.3$	$33.9 \pm 8.0$	$38.8 \pm 8.0$	$65.5 \pm 2.3$	$53.2 \pm 2.3$
	2D	$46.8 \pm 2.6$	$63.1 \pm 1.2$	$6.7 \pm 0.3$	$8.1 \pm 0.3$	$46.1 \pm 8.0$	$44.1 \pm 8.0$	$80.2 \pm 2.3$	$75.9 \pm 2.3$
	2.7D	$67.3 \pm 1.2$	$70.0 \pm 1.2$	$15.8 \pm 0.3$	$14.1 \pm 0.3$	$49.3 \pm 8.0$	$47.8 \pm 8.0$	$88.1 \pm 2.3$	$73.6 \pm 2.3$
	5D	$126.6 \pm 1.7$	$96.1 \pm 1.2$	$38.0 \pm 0.3$	$17.3 \pm 0.3$	$66.6 \pm 10.7$	$52.9 \pm 10.7$	$106.8 \pm 3.6$	$96.5 \pm 2.3$
	7D	$107.8 \pm 1.7$	$115.5 \pm 1.7$	$23.3 \pm 0.3$	$18.8 \pm 0.3$	$58.7 \pm 10.7$	$56.0 \pm 10.7$	$102.2 \pm 3.6$	$100.8 \pm 3.6$
	UPW	8H	$21.2 \pm 2.6$	$11.1 \pm 2.6$	$2.1 \pm 0.3$	$0.1 \pm 0.3$	$9.2 \pm 8.0$	$10.3 \pm 8.0$	$34.0 \pm 3.6$
1D		$31.4 \pm 2.6$	$34.5 \pm 2.6$	$1.5 \pm 0.3$	$6.9 \pm 0.3$	$21.0 \pm 8.0$	$25.5 \pm 8.0$	$47.0 \pm 3.6$	$54.0 \pm 2.3$
2D		$49.2 \pm 2.6$	$49.7 \pm 2.6$	$2.3 \pm 0.3$	$7.12 \pm 0.3$	$35.4 \pm 8.0$	$47.5 \pm 8.0$	$67.9 \pm 2.3$	$60.3 \pm 2.3$
3D		$64.4 \pm 1.2$	$68.6 \pm 1.2$	$3.8 \pm 0.3$	$15.3 \pm 0.3$	–	$58.4 \pm 10.7$	$75.9 \pm 2.3$	$70.8 \pm 2.3$
4D		$88.5 \pm 1.2$	$63.6 \pm 1.2$	$11.4 \pm 0.3$	$15.1 \pm 0.3$	–	$63.3 \pm 10.7$	$85.2 \pm 2.3$	$80.1 \pm 2.3$
7D		$152.9 \pm 1.7$	$107.4 \pm 1.7$	$26.8 \pm 0.3$	$28.2 \pm 0.3$	$68.7 \pm 10.7$	$75.5 \pm 10.7$	$140.3 \pm 3.6$	$134.9 \pm 3.6$

focused ion beam thin sections will be performed in a separate study. Similarly, in the presence of OA, the NLs(Ca) increase only during the first 2 d, then decrease. This is also characteristic of precipitation, in agreement with Welch and Ullmann (1992) who observed that oxalate could induce the formation of Ca-oxalate precipitates.

The lowest NL values for each elements are those recorded for the UPW and BPI solutions after 7 d. In the UPW solution, Fe is systematically below the detection limit ( $2 \mu\text{g/L}$ ); this is assumed to be related either to its non-release or to its reprecipitation in insoluble phases. While a slight decrease is observed in the UPW dissolution profiles slopes after 3 or 4 d, a significant decline of element release is more clearly observed when dissolution occurs in the presence of BPI. In this case, the slope at the end of the experiment is systematically negative for the first set of MORB replicates and for the HAPLO glass.

The similarity of the results from the two sets of experiments attests to the reproducibility of the involved mechanisms. Considering the closeness of the NL values for similar conditions and time compared with the absolute error for the specific area, the data obtained for the replicate experiments are averaged from this point forward.

### 3.2. Initial dissolution rates

Initial dissolution rates were calculated for all glass compositions in all alteration solutions and are shown in

Table 4. The Si dissolution rate of MORB glass in solution without ligands is of the same order of magnitude as that determined by Gislason and Oelkers (2003) ( $0.1 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) at  $\text{pH} = 6.75$  and  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ . This value is also consistent with that determined by Stockmann et al. (2012) ( $0.04 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) and Galeczka et al. (2014) ( $0.6 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) at  $\text{pH} 6.4$ ,  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  and  $\text{pH} 6.7$ ,  $22 \text{ }^\circ\text{C}$ , respectively. However, it should be noted that there are significant differences between the numerous dissolution rates values of basaltic glasses reported in the literature, mainly because of the difficulties in characterizing the reactive surface area, and of the various combinations of experimental parameters ( $\text{pH}$ , temperature, solution chemistry...) (Daux et al., 1997; Techer et al., 2000; Wolff-Boenish, 2011).

NL profiles (Figs. 1 and 2) reveal similarities in between the dissolution agents. OA and DFA appear to have similar impacts on dissolution despite the glass used. BPI has a moderate impact on dissolution and is similar to that of UPW for the Al and Fe dissolution profiles. The calculation of dissolution rates values allows to slightly nuance those results, notably from one glass composition (MORB) to another (HAPLO). As a consequence, MORB and HAPLO dissolution rates are described separately and plotted in Fig. 3.

For the MORB glass, OA and DFA have comparable effects on initial dissolution rates, causing increases in the rates calculated for free-ligand solutions by at least four times. Dissolution in the presence of OA and DFA is

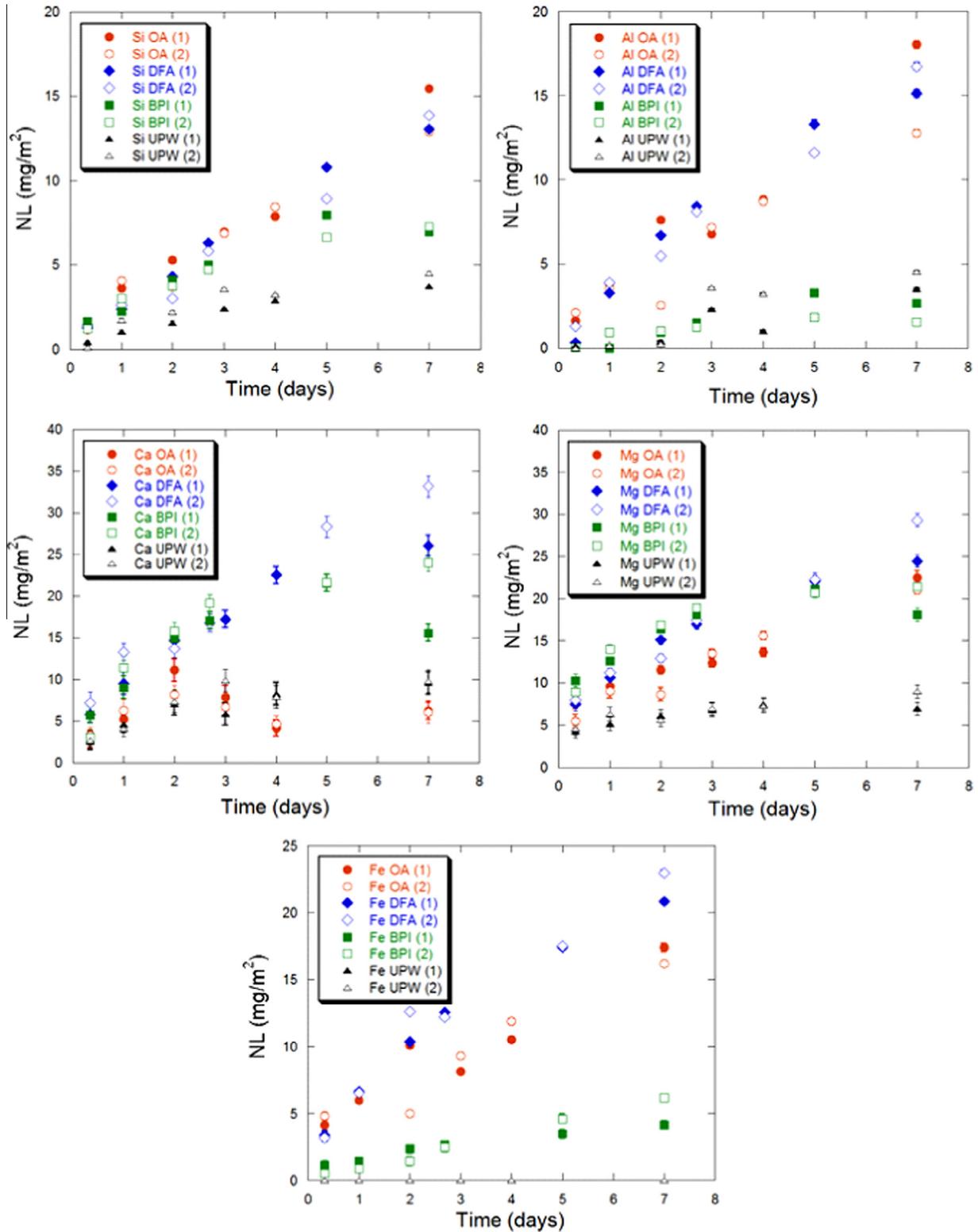


Fig. 1. Normalized mass-loss (NL) profiles of Si, Al, Ca, Mg and Fe during experiments performed on MORB glass at 25 °C and pH 6.4 in the presence of oxalic acid (OA), desferrioxamine (DFA), 2,2'-bipyridyl (BPI) or in ultrapure water (UPW) only. Full and empty symbols represent the first (1) and second (2) sets of experiments, respectively. For each NL value, the absolute error is calculated from the technical relative error in concentration.

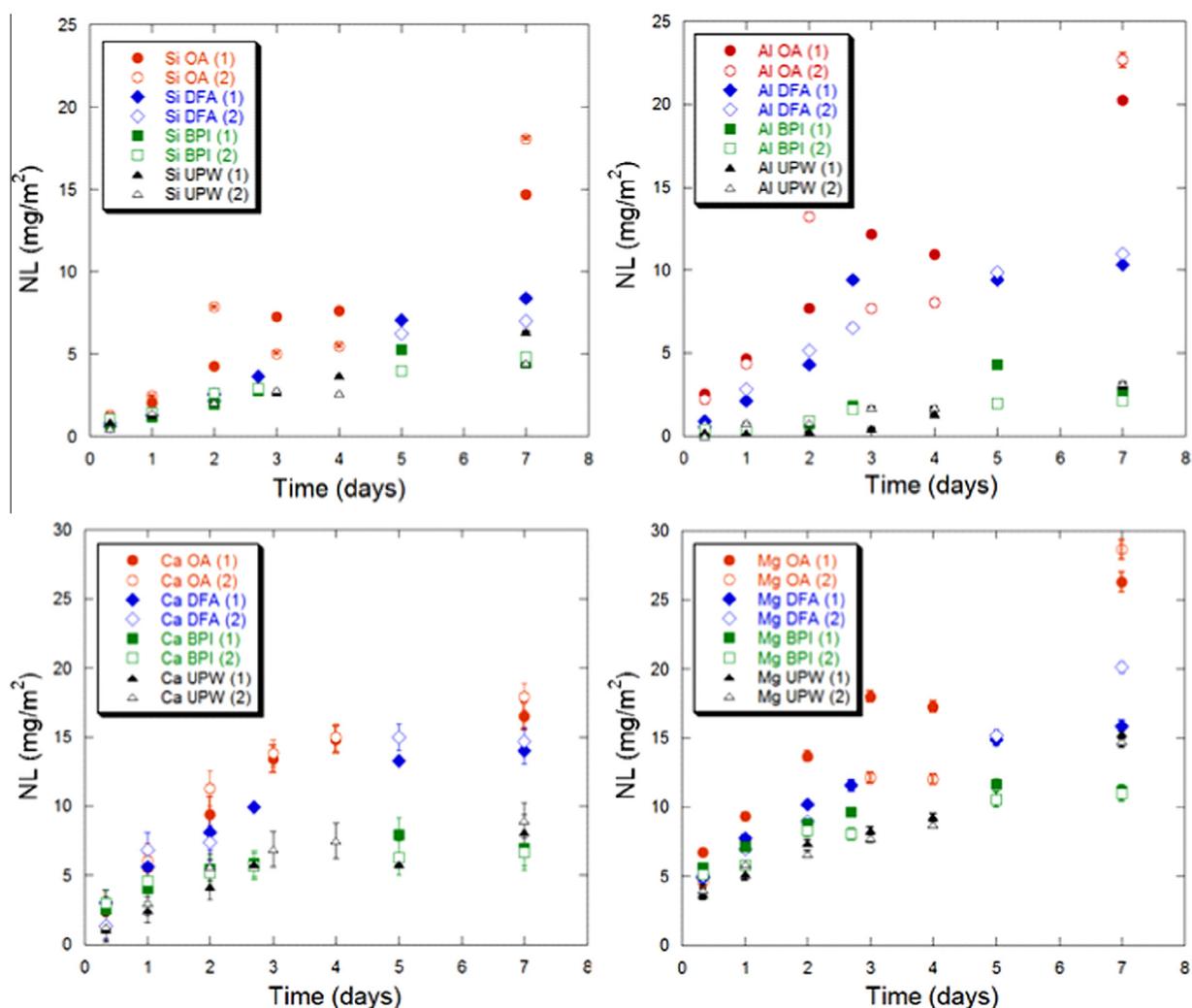


Fig. 2. Normalized mass-loss (NL) profiles of Si, Al, Ca and Mg during experiments performed on HAPLO glass at 25 °C and pH 6.4 in the presence of oxalic acid (OA), desferrioxamine (DFA), 2,2'-bipyridyl (BPI) or in ultrapure water (UPW) only. Full and empty symbols represent the first (1) and second (2) sets of experiments, respectively. For each NL value, the absolute error is calculated from the technical relative error in concentration.

Table 4

Si, Al, Fe, Ca and Mg initial dissolution rates calculated for each experimental conditions using the average of the first 4 NL values for sets (1) and (2) of experiments. Error bars are equal to  $\pm 2SD$ .

		Dissolution rates ( $\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ )				
		Si	Al	Fe	Ca	Mg
MORB	UPW	$0.5 \pm 0.1$	$0.5 \pm 0.1$	0	$1.0 \pm 0.6$	$0.9 \pm 0.0$
	BPI	$1.5 \pm 0.1$	$0.6 \pm 0.1$	$0.9 \pm 0.1$	$5.5 \pm 0.2$	$3.7 \pm 0.1$
	OA	$2.0 \pm 0.0$	$3.6 \pm 0.1$	$3.6 \pm 0.0$	$5.0 \pm 0.0$	$2.3 \pm 0.4$
	DFA	$2.1 \pm 0.1$	$3.4 \pm 0.2$	$3.8 \pm 0.1$	$4.9 \pm 0.4$	$4.1 \pm 0.1$
HAPLO	UPW	$0.8 \pm 0.0$	$0.4 \pm 0.1$	–	$1.0 \pm 0.4$	$1.5 \pm 0.1$
	BPI	$0.9 \pm 0.0$	$0.6 \pm 0.0$	–	$1.4 \pm 0.2$	$1.7 \pm 0.1$
	OA	$2.0 \pm 0.1$	$3.6 \pm 0.3$	–	$3.6 \pm 0.3$	$4.2 \pm 0.2$
	DFA	$1.3 \pm 0.0$	$2.5 \pm 0.2$	–	$2.9 \pm 0.0$	$2.7 \pm 0.2$

characterized by a fast initial release of Ca and Mg (in most cases  $>4.0 \text{ mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) but also of Fe and Al (around

$3.5 \text{ mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) in solution. In these media, Si is characterized by the slowest initial dissolution rates

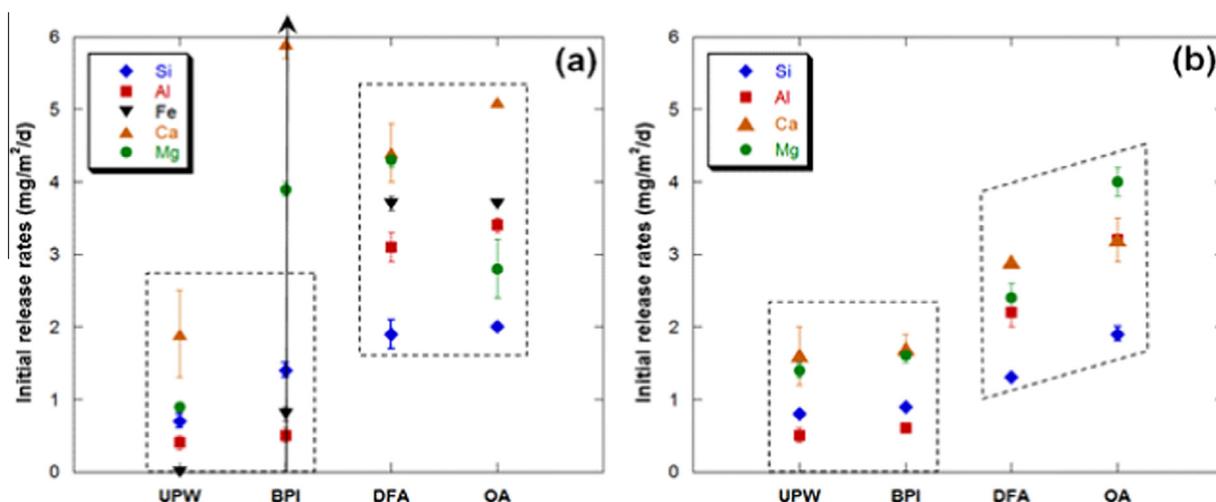


Fig. 3. Initial dissolution rates of MORB (a) and HAPLO (b) glasses in ultrapure water (UPW), 2,2'-bipyridyl (BPI), desferrioxamine (DFA) and oxalic acid (OA) solutions, calculated using the average of NL values for sets (1) and (2) of experiments. Error bars are equal to  $\pm 2SD$ .

( $2.0 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ). Considering the experimental error on Mg release rate in OA solution, this element appears to be released more rapidly in the presence of DFA. Initial dissolution rates of MORB glass in BPI solutions are more comparable to those calculated in solutions without ligands. Al and Fe initial releases are slow and are very similar for the experiments with UPW and BPI solutions. However, Ca and Mg are released quickly (up to  $5.5 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) from the silicate network in the presence of BPI, while rates approach  $1.0 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  in solutions without ligands.

Initial dissolution rates of HAPLO glass in the presence of BPI are all equivalent to those calculated for UPW solutions. In these experiments Ca and Mg are released the most rapidly, even though their dissolution rates do not exceed  $1.7 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . Si and Al are characterized by slow dissolution rates which do not reach  $1.0 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . In contrast, the calculated dissolution rates of HAPLO glasses in the presence of OA and DFA are slightly different, as the rates calculated for the experiments with the DFA solutions are systematically lower than those obtained for the OA experiments. For both DFA and OA, Mg, Ca and Al are released the most rapidly (around  $3.5 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  for OA and  $2.5 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  for DFA) whereas Si is released the most slowly.

Table 5

Relative Release Ratios of Al, Fe, Ca and Mg by respect with Si calculated for each experimental conditions, using the average of NL values for sets (1) and (2) of experiments. Standard deviations are equal to  $\pm 2SD$ .

		$RRR_{Al/Si}$	$RRR_{Fe/Si}$	$RRR_{Ca/Si}$	$RRR_{Mg/Si}$
MORB	UPW	$1.0 \pm 0.3$	Tends to 0	$1.9 \pm 0.1$	$1.8 \pm 0.2$
	BPI	$0.5 \pm 0.1$	$0.9 \pm 0.1$	$5.4 \pm 0.3$	$3.6 \pm 0.3$
	OA	$1.8 \pm 0.1$	$1.8 \pm 0.0$	$2.5 \pm 0.0$	$1.2 \pm 0.2$
	DFA	$1.6 \pm 0.0$	$1.8 \pm 0.1$	$2.3 \pm 0.0$	$1.9 \pm 0.2$
HAPLO	UPW	$0.5 \pm 0.1$	–	$1.2 \pm 0.5$	$1.8 \pm 0.1$
	BPI	$0.7 \pm 0.0$	–	$1.7 \pm 0.3$	$2.0 \pm 0.1$
	OA	$1.8 \pm 0.1$	–	$1.8 \pm 0.1$	$2.2 \pm 0.0$
	DFA	$2.0 \pm 0.2$	–	$2.2 \pm 0.0$	$2.2 \pm 0.1$

One significant difference between MORB and HAPLO glass dissolution is the release of Mg in the presence of OA. Mg release rates are enhanced when the glass does not contain any iron.

### 3.3. Stoichiometry

The dissolution is non stoichiometric for both glasses regardless of the presence or absence of organic ligands (Table 5, Fig. 4).

Very similar values of  $RRR_{X/Si}$  are calculated for the MORB glass in the presence of OA and DFA. Dissolution in those conditions is non stoichiometric for all elements with respect to Si, as it is characterized by a preferential release of Ca ( $>2$ ) and also of Mg, Fe and Al ( $>1.5$ ). In contrast, dissolution in the UPW and BPI solutions is characterized by a preferential release of Si with respect to Al and Fe. However, Ca and Mg are both preferentially released with respect to Si. A significant preferential release of Ca and Mg is recorded in the presence of BPI ( $>3.5$ ).

HAPLO glass dissolution experiments in UPW and BPI solutions are characterized by similar  $RRR_{X/Si}$ . Si is preferentially released with respect to Al while Ca and Mg are preferentially released with respect to Si. In the presence

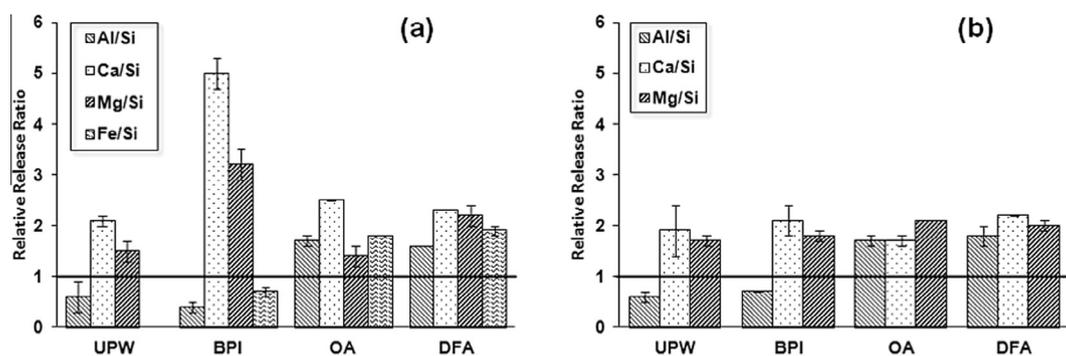


Fig. 4. Non-stoichiometric ratios calculated for MORB (a) and HAPLO (b) glasses in UPW, BPI, DFA and OA solutions using the average of NL values for sets (1) and (2) of experiments. Error bars are equal to  $\pm 2SD$ . The line materializes a stoichiometric release between Si and the considered elements.

of BPI, the high values of  $RRR_{Ca/Si}$  and  $RRR_{Mg/Si}$  obtained for the MORB glass are not observed for the HAPLO composition and approach non-stoichiometric ratios values calculated in UPW. Very similar values of  $RRR_{X/Si}$  are calculated for the HAPLO glass in the presence of OA and DFA as Al, Ca and Mg are all preferentially released with respect to Si, and their respective ratios all approach 2.

In summary, calculated initial dissolution rates of MORB and HAPLO glasses in UPW (Table 4) show high Mg and Ca and low Al and Si release. This is in good agreement with the mechanism proposed by Oelkers (2001) in which the first step of basaltic glass dissolution in acidic water is the fast and almost complete removal of divalent cations such as Ca or Mg. Dissolution rates in the presence of organic molecules differ from those in the presence of UPW demonstrating the impact of the ligands on the alteration process.

## 4. DISCUSSION

### 4.1. Effect of solution on the basaltic glass dissolution

#### 4.1.1. Effect of ligands

One major difference between dissolution profiles in non-ligand and ligand-bearing solutions is the preferential release of trivalent cations of the glass with respect to Si in the presence of OA and DFA, and an enhanced relative release of divalent species in the presence of BPI (Fig. 4a). This effect is particularly significant for Fe dissolution profiles in the presence of OA or DFA. In experiments without ligands, iron was not detectable (the detection limit of Fe was evaluated as 2 ppb). However, in presence of trivalent cation-complexing ligands (OA and DFA), Fe was present in sufficient amounts to be detected and was systematically released preferentially to Si. A similar behavior of iron was observed in hornblende dissolution experiments in the presence or absence of DFA (Kalinowski et al., 2000a).

This can be explained by the fact that OA-Fe<sup>3+</sup> and DFA-Fe<sup>3+</sup> form stable aqueous complexes. More generally, organic ligands that have the strongest equilibrium constants are more effective in enhancing corresponding dissolution rates (Fig. 3a). This is in good agreement with previous dissolution studies with multioxides (Schott

et al., in Oelkers and Schott, 2009) or bunsenite (Ludwig et al., 1995), granite and basaltic glass (Hausrath et al., 2009). This correlation is notably verified considering the release of elements from the glass in the presence of either DFA and OA or BPI. DFA and OA, which can form the most stable and the strongest complexes with Fe<sup>3+</sup> and Al<sup>3+</sup>, are extremely efficient in promoting MORB dissolution. In contrast, the experiments with BPI, which does not have affinity for Fe<sup>3+</sup> or Al<sup>3+</sup>, and in general with trivalent cations, exhibit cation releases similar to those with UPW.

Despite contrasting complexation constants, the DFA, OA and BPI experiments exhibit similar Ca and Mg release rates (Table 4, MORB). In contrast, the RRRs calculated for the BPI experiments are different from those for the OA and DFA experiments (Table 5). In the presence of DFA and OA, the enhancement of Ca and Mg release correlates with the release of Si, suggesting that both Ca and Mg release results from the dissolution of the silicate network. By contrast, while BPI has a slightly smaller impact on Si release by comparison with DFA and OA, Ca and Mg release in this solution is greatly increased (Table 5). For the BPI experiments, Ca and Mg extraction from the glass network may be driven by an interaction between these elements and the BPI molecules. This interpretation is not supported by values of the complex formation constants (Table 6) but it is supported by the highest pH values

Table 6  
(1:1) Complex formation constants of oxalate, desferrioxamine and 2,2'-bipyridyl with major elements from the glass.

	OA	DFA	BPI
Al <sup>3+</sup>	10 <sup>7.1 a</sup>	10 <sup>24.1 c</sup>	–
Fe <sup>3+</sup>	10 <sup>8 a</sup>	10 <sup>30.6 c</sup>	–
Fe <sup>2+</sup>	10 <sup>4.7 a</sup>	10 <sup>9.0 c</sup>	10 <sup>17.5 d</sup>
Ca <sup>2+</sup>	10 <sup>3.0 a</sup>	10 <sup>2.6 c</sup>	10 <sup>-0.05 d</sup>
Mg <sup>2+</sup>	10 <sup>3.4 b</sup>	10 <sup>2.8 e</sup>	10 <sup>0.32 d</sup>

<sup>a</sup> Cama and Ganor, 2006.

<sup>b</sup> Grases et al., 1989.

<sup>c</sup> Kraemer, 2004.

<sup>d</sup> Capone et al., 1985.

<sup>e</sup> Farkas et al., 1999.

in the BPI experiments, which suggests that a chemisorption reaction occurred between the glass and BPI, as has been observed on clay and oxides (Ferreiro et al., 1983; Ferreiro and Bussetti, 2007).

#### 4.1.2. Ligand concentrations and saturation effect

OA and DFA both increase the dissolution rate of most of the studied elements from the glass (Fig. 3a). These impacts agree with those determined in mineral weathering studies performed in the presence of OA and DFA ligands (Welch and Ullman, 1992; Watteau and Berthelin, 1994; Stillings et al., 1995; Liermann et al., 2000; Cheah et al., 2003; Rosenberg and Maurice, 2003; Wolff-Boenish et al., 2011; Rozalen et al., 2013). However, the fact that DFA is ten times more diluted than OA, and the assumption that the dissolution rates at fixed pH depend linearly on the concentrations of adsorbed ligands and therefore on the concentrations of ligands in the solution, suggest that DFA is more powerful than OA in promoting basaltic glass dissolution. Similar conclusions were drawn in a study about hematite dissolution in the presence of OA and a Fe(III) – specific siderophore (Hersman et al., 1995).

One DFA molecule is sufficient to complex trivalent cations such as  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Al}^{3+}$ , while three OA molecules are required to form a highly stable complex (Wolff-Boenish and Traina, 2007). Experimental studies have demonstrated that  $\text{Fe}(\text{oxalate})^{2-}$  is the predominant Fe-oxalate species (Cervini-Silva, 2012), whereas DFA coordinates to an individual Fe site via one or two of its chelating groups (Holmen and Casey, 1996; Cocozza, 2002) instead of completing the octahedral coordination sphere of the Fe(III) in a 1:1 complex. As a consequence, and assuming equivalent efficiencies, OA should be at least 3 times more concentrated than DFA to promote the release of  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Al}^{3+}$  in the same manner as DFA. This is not in accordance with our experimental results, which show similar dissolution rates for Al and Fe (Table 4) despite the OA and DFA concentrations differing by one order of magnitude. A similar discrepancy between the expected and observed results was observed in a study on goethite dissolution in the presence of either DFA or acetohydroxamic acid (Holmen and Casey, 1996). These discrepancies might be related to a possible saturation effect at the glass-fluid interface. At high ligand concentrations, ligands which are not in the first adsorption layer, *i.e.* which do not interact directly with surface cations, might not affect the release of those elements from the glass (Furrer and Stumm, 1986), and might even decrease the possible effect of ligands on cation solubilities, stopping the cations from being removed (Kraemer, 2004). Previous studies have shown that goethite dissolution rates reach a plateau at OA concentrations above 5 mM (Cheah et al., 2003) and 1 mM (Wolff-Boenish and Traina, 2006). Considering the respective specific surface area and bulk concentration of their material, the number of OA molecules ideally adsorbed per surface unit of goethite (without taking into account possible steric constraints) would range from 2.9 to  $14.3 \mu\text{mol m}^{-2}$ . This saturation effect might also exist when dissolution experiments are performed in the presence of highly specific siderophores (Kalinowski et al., 2000b). In

their work on DFA adsorption on goethite, Kraemer et al. (1999) measured the maximum surface concentrations of DFA as  $>0.4 \mu\text{mol m}^{-2}$ . In our study, with a specific surface of  $0.04 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ , the number of OA molecules ideally adsorbed per surface units of glass is  $1200 \mu\text{mol m}^{-2}$ , whereas the number of DFA molecules ideally adsorbed per surface units of glass is  $120 \mu\text{mol m}^{-2}$ . These preliminary calculations suggest that the surface of both glasses is largely oversaturated with ligands compared to those in these other studies. This could explain the similar dissolution rates calculated for OA and DFA solutions, despite the fact that DFA is 10 times more diluted than OA. Ligands molecules remaining in solution might be involved in the chelation of dissolved metal cations, causing an increase in the apparent solubility of the solid and thus enhancing its dissolution. This ligand-promoted dissolution mechanism occurring in solution has been presented by Oelkers and Schott (1998) as an alternative to the generally accepted surface-controlled dissolution mechanism (Stillings et al., 1998; Rosenberg and Maurice, 2003; Cama and Ganor, 2006).

In natural systems, organic molecules typically exhibit a lower range of concentrations compared to those studied here, meaning that the magnitude of this ligand-promoted dissolution may be in reality restricted. The low abundance of dissolved oxalate in the environment can be due to the low solubility (and thus precipitation) of calcium oxalate. Oxalate is generally present in soils at concentrations up to  $1 \text{ mM L}^{-1}$  (Fox and Comerford, 1990). In marine systems, reported concentrations of siderophores vary between 0.3 and 7 nM (Kraemer, 2004). However, it has been speculated that close to the interface between micro-organisms and solid phases, the local concentrations of organic ligands and of siderophores can locally increase by several orders of magnitudes (Ahmed and Holmström, 2014). For a bacterial microniche, siderophore concentrations are indeed expected from 10  $\mu\text{M}$  to few mM (Hersman et al., 1995).

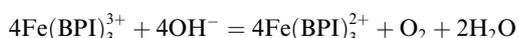
## 4.2. Effect of glass structure

### 4.2.1. Silica glass former and modifier cations

Si is a major network-forming element in the glass structure and the rupture of Si–O–X ( $X = \text{Si}, \text{Al}, \text{Fe}$ ) bonds in the network is considered as the rate-limiting step in dissolution (Oelkers, 2001). The possible role played by organic ligands and particularly by OA on silica release is not well understood, even in crystalline materials. Studies on quartz dissolution conclude that while Si dissolution rates are enhanced by the presence of OA (Benett et al., 1988), the complexation of Si by OA is not the driving force for the quartz dissolution (Bennett, 1991). This conclusion is further corroborated by the fact that quartz solubility is almost identical in different carboxylic acid solutions (Franklin et al., 1994). Consequently, the effect of Si complexation by OA on the dissolution of our glass samples was assumed to be negligible, and the increase in Si dissolution rates in the presence of OA, DFA and BPI was attributed to the destabilization of the Si network by the complexation and transfer to solution of metallic cations at the glass surface.

In the presence of either OA or DFA, the increase in Si dissolution rates (Fig. 3) correlates well to the preferential extraction of  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Al}^{3+}$  in OA/DFA solutions as compared to the rates in the UPW experiments (Fig. 4). By contrast the  $RRR_{\text{Ca/Si}}$  and  $RRR_{\text{Mg/Si}}$  remain constant in all these cases, indicating that these ligands do not affect the dissolution mechanism. The interaction between  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Al}^{3+}$  and OA or DFA, combined with the network-forming role of these trivalent cations in the glass structure, might be responsible for weakening and consequently enhancing the dissolution of the whole silicate network.

In the presence of BPI, Mg and Ca are preferentially extracted from the glass with respect to Si. Concomitantly,  $RRR_{\text{Fe/Si}}$  is much stronger in BPI (0.9) than in UPW (0). A possible complexation of Fe(III) by BPI was described in Nord and Wernberg (1975), who concluded that in the presence of BPI, Fe(III) was rapidly reduced by hydroxide ions according to the following reaction:



Templeton (2002) attributed a high complex formation constant between BPI and Fe(III) ( $10^{16.3}$ ). Our OA and DFA results suggest that such a high constant should have resulted in higher Fe release rates. This raises the question of a possible interaction between the BPI molecules and Fe(II) from the glass. As previously mentioned, although Fe(III) is the predominant valence in the prepared MORB glass, Fe(II) could indeed represent up to 30% of the total concentration of iron in the solid. The very strong affinity between BPI and  $\text{Fe}^{2+}$  cations (Table 6) could thus also explain the promoted dissolution of the MORB glass in BPI solution as compared to UPW. However, due to their modifier role in the glass structure, the impact of neither Ca and Mg or Fe preferential release on Si dissolution rate is expected to be very strong.

As Fe, under its reduced or oxidized form, obviously has a key-role in ligand-promoted mechanisms, the comparison with the HAPLO glass – i.e., a glass without any form of iron - dissolution process appears to be necessary to have

access to complementary information and to precisely identify the reactions involved.

#### 4.2.2. Composition of the glass

4.2.2.1. Oxalic acid and ligand-free solutions. In the OA and UPW experiments, the presence or absence of iron in the glass does not seem to have any effect on dissolution rates and stoichiometry (Fig. 5).

Similar dissolution profiles for the MORB and HAPLO glasses were observed. It is expected that UPW does not induce any detectable Fe dissolution from the MORB glass (Fig. 3) and that, despite small differences in their composition, the MORB and HAPLO glasses are involved in the same dissolution reactions. In the case of OA, the very similar trend in the Al and Si dissolution profiles in the presence or absence of Fe in the glass suggests that  $\text{Fe}^{3+}$  removal has no impact on basaltic glass dissolution. Consequently, complexation and release of Al from both glasses could be the rate-limiting steps of the OA promoted dissolution, despite OA being able to complex  $\text{Fe}^{3+}$  as easily as  $\text{Al}^{3+}$  (Table 6) and both Al and Fe(III) being involved as formers in the glass structure. This interpretation is in agreement with several studies on Fe(II)-bearing basaltic glass dissolution (Oelkers et al., 1994; Oelkers, 2001; Oelkers and Gislason, 2001). Whatever the oxidation state of Fe (mostly oxidized in this work) and its role in the glass structure, it seems that the first step in the dissolution of aluminosilicates is the fast exchange of alkaline and alkaline earth elements of the glass with the protons of the solution. This fast removal is followed by slower hydrolysis of Al–O–Si bonds, which are relatively weak compared to Si–O–Si bonds. This is considered as the rate-limiting step of the dissolution process, weakening the silicate network and facilitating the final hydrolysis of Si–O–Si bonds. This mechanism was shown by Oelkers and Gislason (2001) to occur with or without oxalic acid in solution. The presence of oxalic acid only increases the removal of Al, thus accelerating the dissolution process.

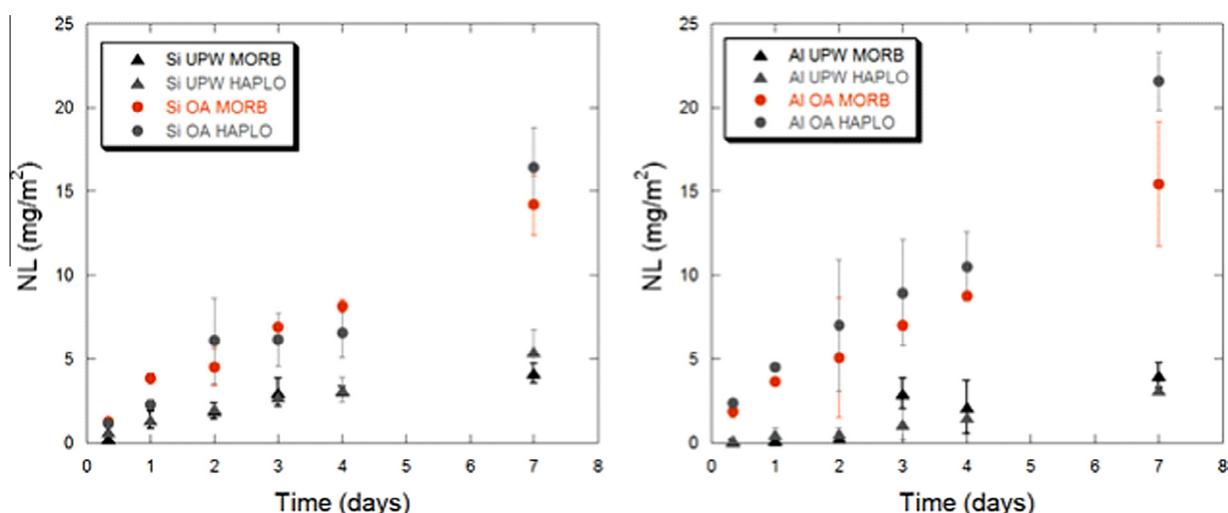


Fig. 5. Normalized Loss profiles of Si and Al during experiments performed on MORB and HAPLO glasses in the presence of oxalic acid (OA) or in ultrapure water (UPW) only, using the average of NL values for sets (1) and (2) of experiments. Error bars are equal to  $\pm 2\text{SD}$ .

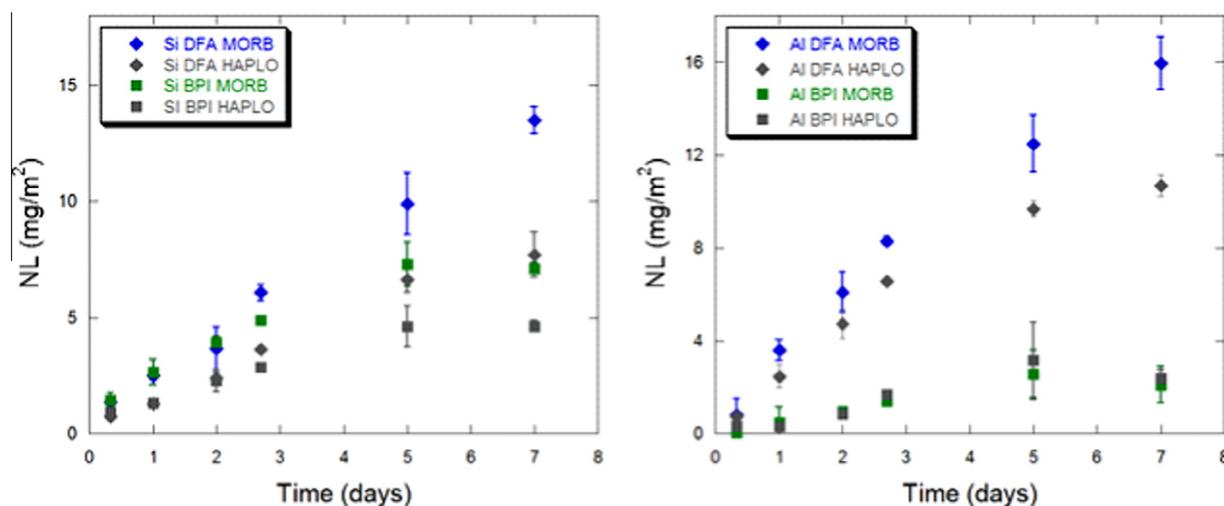


Fig. 6. Normalized Loss profiles of Si and Al during experiments performed on MORB and HAPLO glasses in the presence of desferrioxamine (DFA) or 2,2'-bipyridyl (BPI), using the average of NL values for sets (1) and (2) of experiments. Error bars are equal to  $\pm 2SD$ .

One difference between the MORB and HAPLO dissolution profiles in the presence of OA is the high amounts of Mg released (Fig. 3). Considering that the major difference between the respective compositions of MORB and HAPLO glasses was the percentage of Mg – 7.7 wt.% in MORB versus 15.2 wt.% in HAPLO (Table 1) – this increase in dissolution rates shows the impact of glass composition on the dissolution reaction.

**4.2.2.2. Desferrioxamine.** In DFA solutions, the absence of Fe in the glass correlates with a decrease in all dissolution rates (Fig. 6).

This indicates that DFA-Fe<sup>3+</sup> complex formation plays a significant role in the ligand-promoted dissolution process, in contrast with the OA and UPW experiments. The very high constant characterizing the complexation of Fe(III) by DFA (6 orders of magnitude higher than DFA-Al<sup>3+</sup> formation constant) (Table 6) suggests that Fe(III) might be involved in promoting Si–O–Si detachment and in catalyzing the dissolution process. Despite the decrease in rates in the absence of Fe, the RRRs remain similar between MORB and HAPLO glasses (Fig. 4). This indicates that, even if their release from the glass is slower, elements are still following the same dissolution pattern, typical of a ligand promoted mechanism. Despite high DFA-Al<sup>3+</sup> complex formation constants, Al complexation and release is probably the main mechanism promoting the dissolution process of the HAPLO glass, as observed in OA experiments performed on both MORB and HAPLO and in the work of Oelkers and Gislason (2001).

**4.2.2.3. 2,2'-Bipyridyl.** The releases of all elements from the Fe-free glass in the presence of BPI appear to be slower than those from the MORB glass (Fig. 6). Moreover, dissolution experiments carried out on the HAPLO glass are characterized by rates and stoichiometry which are very similar to those calculated in the ligand-free experiments (Figs. 3a and 4a). This general decrease, together with the similarity of the dissolution profiles for the UPW or BPI

experiments for the HAPLO glass, implies that in the absence of iron in the glass, the presence of BPI has no impact on the dissolution process. This confirms the significant role of BPI-Fe<sup>2+</sup> complexes and suggests the absence of significant BPI-Al<sup>3+</sup> interactions. Even though Fe(II) is not the dominant valence of iron in the MORB glass, its release thus plays a significant role in promoting the global dissolution of the glass.

## 5. CONCLUSION AND PERSPECTIVES

The dissolution kinetics of basaltic glass were investigated with respect to the role and impact of iron in glass and the type of dissolution solution by performing experiments with Fe(II) and/or Fe(III) specific chelators having various complex formation constants, and by using two compositions of glasses. The effects observed are in agreement with ligand-promoted dissolution mechanisms described for several minerals in the literature. In the presence of OA and DFA, the preferential release of trivalent cations promoted the whole glass dissolution. In the case of OA, however, Al release is thought to promote the dissolution of both glasses, whereas in the case of DFA the preferential release of Fe(III) is responsible for the enhanced dissolution of MORB glass. In BPI solution, the MORB dissolution seems to be driven by the Fe(II) release despite its low content in the glass.

To go further in the determination of elementary mechanisms and of their implications in natural systems, complementary issues need to be addressed. The impact of ligands on MORB dissolution has to be studied using variable concentrations. This will allow to investigate both the effect of concentrations closer to the ones found in the natural field but also the possible existence of threshold values that will provide information about the localization of the ligand promoted dissolution (surface or bulk solution). Being a preliminary step to future work with microorganisms, the present study was dedicated to Fe(III)-bearing glass in order to highlight the central role of Fe, under its oxidized

form, in ligand-promoted dissolution mechanisms. The role of Fe(II) in the ligand promoted dissolution and particularly in the presence of BPI will be further investigated on Fe(II)-bearing glasses that are more representative of natural basalts, in order to have a global overview of basaltic glass dissolution and precise the mechanisms occurring in nature. Finally, the characterization of the alteration layers (calculated as being of 35–150 Å in thickness) and of minute amount of secondary phases will be an important step to be addressed in a separate study. The effect of complexing agents in longer-term experiments, and notably their effect on the passivating properties of the gel layer, should also be investigated. The precise knowledge of the abiotic reactions occurring in the simplified systems considered in this work is indeed an essential step before addressing the study of alteration processes in presence of microorganisms, major actors of natural systems.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are very grateful to the reviewers for their constructive comments and to Karen Hudson-Edwards (DEPS, Birkbeck School/UCL) for her precious help in editing the revised manuscript. The authors would like to thank Jessica Ferrand (LGE) for her help during glass preparation and Lola Sarrasin (master student) for helping setting up the dissolution experiments. Rossana Combes (LGE) is warmly acknowledged for taking part in all ICP analysis sessions and collaborating in the uncertainty determination work. Stéphanie Blanchandin's help in ATD measurement at Soleil Synchrotron was also much appreciated. The authors would also like to thank Céline Rommevaux-Jestin (IPGP) and Jérôme Labanowski (CNRS, Université de Poitiers) for fruitful discussions. This work was supported by grants from Region Ile de France and by CNRS-INSU.

#### REFERENCES

- Abdelouas A., Crovisier J. L. and Lutze W. (1993) Hydrotalcite formation by alteration of R7T7 nuclear waste glass in a salt solution at 190 °C. *C. r. Acad. sci.* **317**, 1067–1072.
- Ahmed E. and Holmström S. J. M. (2014) The effect of soil horizon and mineral type on the distribution of siderophores in soil. *Geochim. Cosmochim. Acta* **131**, 184–195.
- Aouad G., Crovisier J. L., Geoffroy V. A., Meyer J. M. and Stille P. (2006) Microbially-mediated glass dissolution and sorption of metals by *Pseudomonas aeruginosa* cells and biofilm. *J. Hazard. Mater.* **B136**, 889–895.
- Bennett P. C. (1991) Quartz dissolution in organic-rich aqueous systems. *Geochim. Cosmochim. Acta* **55**, 1781–1797.
- Bennett P. C., Melcer M. E., Siegel D. I. and Hassett J. P. (1988) The dissolution of quartz in dilute aqueous solutions of organic acids at 25 °C. *Geochim. Cosmochim. Acta* **52**, 1521–1530.
- Brandel J., Humbert N., Elhabiri M., Schalk I. J., Mislin G. L. A. and Albrecht-Gary A. M. (2012) Pyochelin, a siderophore of *Pseudomonas aeruginosa*: physicochemical characterization of the iron(III), copper(II) and zinc(II) complexes. *Dalton Trans.* **41**, 2820–2834.
- Braud A., Hoegy F., Jézéquel K., Lebeau T. and Schalk I. J. (2009) New insights into the metal specificity of the *Pseudomonas aeruginosa* pyoverdine-iron uptake pathway. *Environ. Microbiol.* **11**, 1079–1091.
- Brunauer S., Emmett P. H. and Teller E. (1938) Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Am. Chem. Soc.* **60**, 309–319.
- Cagno S., Nuyts G., Bugani S., de Vis K., Schalm O., Caen J., Helfen L., Cotte M., Reischiq P. and Janssens K. (2011) Evaluation of manganese-bodies removal in historical stained glass windows vi SR- $\mu$ -XANES/XRF and SR- $\mu$ -CT. *J. Anal. At. Spectrom.* **26**, 2442–2451.
- Cama J. and Ganor J. (2006) The effects of organic acids on the dissolution of silicate minerals: a case study of oxalate catalysis of kaolinite dissolution. *Geochim. Cosmochim. Acta* **70**, 2191–2209.
- Capone S., De Robertis A., De Stefano C. and Scarcella R. (1985) Thermodynamics of formation of magnesium, calcium, strontium and barium complexes with 2,2'-bipyridyl and 1,10-phenanthroline, at different ionic strengths in aqueous solution. *Talanta* **32**, 675–677.
- Cervini-Silva J., Kearns J. and Banfield J. (2012) Steady-state dissolution kinetics of mineral ferric phosphate in the presence of desferrioxamine-B and oxalate ligands at pH = 4–6 and T = 24  $\pm$  0.6 °C. *Chem. Geol.* **320–321**, 1–8.
- Cheah S. F., Kraemer S. M., Cervini-Silva J. and Sposito G. (2003) Steady-state dissolution kinetics of goethite in the presence of desferrioxamine-B and oxalate ligands: implications for the microbial acquisition of iron. *Chem. Geol.* **198**, 63–75.
- Chou L. and Wollast R. (1984) Study of weathering of albite at room temperature and pressure with a fluidized bed reactor. *Geochim. Cosmochim. Acta* **48**, 2205–2217.
- Cocozza C., Tsao C. C. G., Cheah S. F., Kraemer S. M., Raymond K. N., Miano T. M. and Sposito G. (2002) Temperature dependence of goethite dissolution promoted by trihydroxamate siderophores. *Geochim. Cosmochim. Acta* **66**, 431–438.
- Coluccia S., Chiorino A., Guglielminotti E. and Morterra C. (1978) Adsorption of 2,2'-bipyridyl on magnesium oxide and calcium oxide. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1**(75), 2188–2198.
- Crovisier J. L., Advocat T. and Dussossoy J. L. (2003) Nature and role of natural alteration gels formed on the surface of ancient volcanic glasses (Natural analogs of waste containment glasses). *J. Nucl. Mater.* **321**, 91–109.
- Curti E., Crovisier J. L., Morvan G. and Karpoff A. M. (2006) Long-term corrosion of two nuclear waste reference glasses (MW and SON68): a kinetic and mineral alteration study. *Appl. Geochem.* **21**, 1152–1168.
- Daux V., Guy C., Advocat T., Crovisier J. L. and Stille P. (1997) Kinetic aspects of basaltic glass dissolution at 90 °C: role of aqueous silicon and aluminium. *Chem. Geol.* **142**, 109–126.
- Drever J. I. and Stillings L. L. (1997) The role of organic acids in mineral weathering. *Colloids Surf.* **120**, 167–181.
- Drewello R. and Weissmann R. (1997) Microbially influenced corrosion of glass. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **47**, 337–346.
- Elandaloussi L. (2003) Effect of desferrioxamine and 2,2'-bipyridyl on the proliferation of *Perkinsus atlanticus*. *Biomol. Eng.* **20**, 349–354.
- Farkas E., Enyedy E. A. and Csoka H. (1999) A comparison between the chelating properties of some dihydroxamic acids, desferrioxamine B and acetohydroxamic acid. *Polyhedron* **18**, 2391–2398.
- Ferreiro E. A., Bussetti S. G. and Helmy A. K. (1983) Sorption of 2,2'-bipyridine on clays and oxides. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.* **146**, 369–378.
- Ferreiro E. A. and Bussetti S. G. (2007) Thermodynamic parameters of adsorption of 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridyl on hematite, kaolinite and montmorillonites. *Colloids Surf.* **301**, 117–128.
- Fliedel D., Knowles E., Wirth R., Templeton A., Staudigel H., Muehlenbachs K. and Furnes H. (2012) Characterization of alteration textures in Cretaceous oceanic crust (pillow lava) from the N-Atlantic (DSDP Hole 418A) by spatially-resolved spectroscopy. *Geochim. Cosmochim. Acta* **96**, 80–93.

- Fournier M., Gin S. and Frugier P. (2014) Resumption of nuclear glass alteration: state of the art. *J. Nucl. Mater.* **448**, 348–363.
- Fox T. R. and Comerford N. B. (1990) Low molecular-weight organic acids in selected forest soils of the southeastern USA. *Soil Sci. Soc.* **54**, 1139–1144.
- Franklin S. P., Hajash A. J., Dewers T. A. and Tieh T. T. (1994) The role of carboxylic acids in albite and quartz dissolution: an experimental study under diagenetic conditions. *Geochim. Cosmochim. Acta* **57**, 4259–4279.
- Furrer G. and Stumm W. (1986) The coordination chemistry of weathering: I. Dissolution kinetics of  $\delta$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and BeO. *Geochim. Cosmochim. Acta* **50**, 1847–1860.
- Gallien J. P., Gouget B., Carrot F., Oriol F. and Brunet A. (2001) Alteration of glasses by micro-organisms. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* **181**, 610–615.
- Galeczka I., Wolff-Boenisch D., Oelkers E. H. and Gislason S. R. (2014) An experimental study of basaltic glass-H<sub>2</sub>O-CO<sub>2</sub> interaction at 22 and 50 °C: implications for subsurface storage of CO<sub>2</sub>. *Geochim. Cosmochim. Acta* **126**, 123–145.
- Gentaz L. (2011) *Simulation et modélisation de l'altération des verres de composition médiévale dans l'atmosphère urbaine* Thèse de doctorat. Université Paris-Est, 264 p.
- GERM (2000) The Geochemical Earth Reference Model, <http://EarthRef.org/agenda.htm>.
- Gin S., Beaudoux X., Angéli F., Jégou C. and Godon N. (2012) Effect of composition on the short-term and long-term dissolution rates of ten borosilicate glasses of increasing complexity from 3 to 30 oxides. *J. Non-cryst. Solids* **358**, 2559–2570.
- Gin S., Frugier P., Jollivet P., Bruguier F. and Curti E. (2013) New insight into the residual rate of borosilicate glasses: effect of S/V and glass composition. *Int. J. Appl. Glass Sci.* **4**, 371–382.
- Gin S., Abdelouas A., Criscenti L. J., Ebert W. L., Ferrand K., Geisler T., Harrison M. T., Inagaki Y., Mitsui S., Mueller K. T., Marra J. C., Pantano C. G., Pierce E. M., Ryan J. V., Schofiel J. M., Steefel C. I. and Vienna J. D. (2014) An international initiative on long-term behavior of high-level nuclear waste glass. *Mater. Today* **16**, 243–248.
- Gin S., Jollivet P., Fournier M., Angéli F., Frugier P. and Chapentier T. (2015) Origin and consequences of silicate glass passivation by surface layers. *Nat. Commun.* **6**, 6360.
- Gislason S. R. and Oelkers E. H. (2003) Mechanism, rates and consequences of basaltic glass dissolution: II. An experimental study of the dissolution rates of basaltic glass as a function of pH and temperature. *Geochim. Cosmochim. Acta* **67**, 3817–3832.
- Gislason S. R., Oelkers E. H., Eiriksdottir E. S., Kardjilov M. I., Gisladdottir G., Sigfusson B., Snorrason A., Elefsen S., Hardardottir J., Torssander P. and Oskarsson N. (2009) Direct evidence of the feedback between climate and weathering. *Earth Planet. Sci. Lett.* **277**, 213–222.
- Godon N., Thomassin J. H. and Touray J. C. (1988) Experimental alteration of R7T7 nuclear-model glass in solutions with different salinities (90 °C, 1 bar) – implications for the selection of geological repositories. *J. Mater. Sci.* **23**, 126–134.
- Gorbushina A. A. and Palinska K. A. (1999) Biodeteriorative processes on glass: experimental proof of the role of fungi and cyanobacteria. *Aerobiologia* **15**, 183–191.
- Grambow B. (1985) A general rate equation for nuclear waste glass corrosion. *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.* **44**, 15–27.
- Grases F., Genestar C. and Millan A. (1989) The influence of some metallic ions and their complexes on the kinetics of crystal growth of calcium oxalate. *J. Cryst. Growth* **94**, 507–512.
- Hausrath E. M., Neaman A. and Brantley S. L. (2009) Elemental release rates from dissolving basalt and granite with and without organic ligands. *Am. J. Sci.* **309**, 633–660.
- Hellmann R., Cotte S., Cadel E., Malladi S., Karlsson L. S., Lozano-Perez S., Cabié M. and Seyeux A. (2015) Nanometre-scale evidence for interfacial dissolution-precipitation control of silicate glass corrosion. *Nat. Mater.* **14**, 307–311.
- Hernlem B. J., Vane L. M. and Sayles G. D. (1996) Stability constants for complexes of the siderophore desferrioxamine B with selected heavy metal cations. *Inorg. Chim. Acta* **244**, 179–184.
- Hersman L., Lloyd T. and Sposito G. (1995) Siderophore-promoted dissolution of hematite. *Geochim. Cosmochim. Acta* **16**, 3327–3330.
- Holdren G. R. and Speyer P. M. (1985) Reaction rate-surface area relationships during the early stages of weathering—I initial observations. *Geochim. Cosmochim. Acta* **49**, 675–681.
- Holmen B. A. and Casey W. H. (1996) Hydroxamate ligands, surface chemistry, and the mechanism of ligand-promoted dissolution of goethite [~ –FeOOH (s)]. *Geochim. Cosmochim. Acta* **60**, 4403–4416.
- Hutchens E. (2009) Microbial selectivity on mineral surfaces: possible implications for weathering processes. *Fungal Biol. Rev.* **23**, 115–121.
- Jollivet P., Angeli F., Cailleteau C., Devreux F., Frugier P. and Gin S. (2008) Investigation of gel porosity clogging during glass leaching. *J. Non-cryst. Solids* **354**, 4952–4958.
- Kalinowski B. E., Liermann L. J., Brantley S. L., Barnes A. and Pantano C. G. (2000a) X-Ray photoelectron evidence for bacteria-enhanced dissolution of hornblende. *Geochim. Cosmochim. Acta* **64**, 1331–1343.
- Kalinowski B. E., Liermann L. J., Givens S. and Brantley S. L. (2000b) Rates of bacteria-promoted solubilization of Fe from minerals: a review of problems and approaches. *Chem. Geol.* **169**, 357–370.
- Knauss K. G., Johnson J. W. and Steefel C. I. (2005) Evaluation of the impact of CO<sub>2</sub>, co-contaminant gas, aqueous fluid and reservoir rock interactions on the geologic sequestration of CO<sub>2</sub>. *Chem. Geol.* **217**, 339–350.
- Knowles E., Staudigel H. and Templeton A. (2013) Geochemical characterization of tubular alteration features in subseafloor basalt glass. *Earth Planet. Sci. Lett.* **374**, 239–250.
- Kraemer S. M. (2004) Iron oxide dissolution and solubility in the presence of siderophores. *Aquat. Sci.* **66**, 3–18.
- Kraemer S. M., Cheah S. F., Zapf R., Xu J., Raymond K. N. and Sposito G. (1999) Effect of hydroxamate siderophores on Pb(II) adsorption and Fe release by goethite. *Geochim. Cosmochim. Acta* **63**, 3003–3008.
- Libourel G., Verney-Carron A., Morlok A., Gin S., Sterpenich J., Michelin A., Neff D. and Dillmann P. (2011) The use of natural and archeological analogues for understanding the long-term behavior of nuclear glasses. *C. R. Géosci.* **343**, 237–245.
- Liermann L. J., Kalinowski B. E., Brantley S. L. and Ferry J. G. (2000) Role of bacterial siderophores in dissolution of hornblende. *Geochim. Cosmochim. Acta* **64**, 587–602.
- Lombardo T., Gentaz L., Verney-Carron A., Chabas A., Loisiel C., Neff D. and Leroy E. (2013) Characterization of complex alteration layers in medieval glasses. *Corros. Sci.* **72**, 10–19.
- Luckscheiter B. and Nesovic M. (2004) Short-term corrosion of HLM glass in aqueous solutions enriched with various metal cations. *J. Nucl. Mater.* **327**, 182–187.
- Ludwig C., Casey W. H. and Rock P. A. (1995) Prediction of ligand-promoted dissolution rates from the reactivities of aqueous complexes. *Nature* **375**, 44–47.
- Martinez-Luevanos A., Rodriguez-Delgado M. G., Uribe-Salas A., Carillo-Pedroza F. R. and Osuna-Alarcon J. G. (2011) Leaching kinetics of iron from low grade kaolin by oxalic acid solutions. *Appl. Clay Sci.* **51**, 473–477.
- Michelin A., Burger E., Rebiscoul D., Neff D., Bruguier F., Drouet E., Dillmann P. and Gin S. (2013) Silicate glass alteration enhanced by iron: origin and long-term implications. *Environ. Sci. Technol.* **47**, 750–756.

- Nord G. and Wernberg O. (1975) Reduction of tris(2,2'-bipyridyl) and tris(1,10-phenanthroline) complexes of iron(III) and osmium(III) by hydroxide ion. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 845–849.
- Oelkers E. H. (2001) General kinetic description of multioxide silicate mineral and glass dissolution. *Geochim. Cosmochim. Acta* **65**, 3703–3719.
- Oelkers E. H. and Gislason S. R. (2001) The mechanism, rates and consequences of basaltic glass dissolution: I. An experimental study of the dissolution rates of basaltic glass as a function of aqueous Al, Si and oxalic acid concentration at 25 °C and pH 3 and 11. *Geochim. Cosmochim. Acta* **65**, 3671–3681.
- Oelkers E. H. and Schott J. (1998) Does organic acid adsorption affect alkali feldspar dissolution rates? *Chem. Geol.* **151**, 235–245.
- Oelkers E. H. and Schott J. (2009) Thermodynamics and kinetics of water-rock interaction. *Rev. Mineral. Geochem.* **70**, 569.
- Oelkers E. H., Schott J. and Devidal J. L. (1994) The effect of aluminium, pH, and chemical affinity on the rates of aluminosilicate dissolution reactions. *Geochim. Cosmochim. Acta* **58**, 2011–2024.
- Olsen A. A. and Rimstidt D. R. (2008) Oxalate-promoted forsterite dissolution at low pH. *Geochim. Cosmochim. Acta* **72**, 1758–1766.
- Parruzot B., Jollivet P., Rébiscoul D. and Gin S. (2015) Long-term alteration of basaltic glass: mechanisms and rates. *Geochim. Cosmochim. Acta* **154**, 28–48.
- Pelegrin E., Calas G., Ildefonse P., Jollivet P. and Galois L. (2010) Structural evolution of glass during alteration: application to nuclear waste glasses. *J. Non-cryst. Solids* **356**, 44–49.
- Pierce E. M., Rodriguez E. A., Calligan L. J., Shaw W. J. and McGrail B. P. (2008) An experimental study of the dissolution rates of simulated aluminoborosilicate waste glasses as a function of pH and temperature under dilute conditions. *Appl. Geochem.* **23**, 2559–2573.
- Rebiscoul D., Frugier P., Gin S. and Ayrat A. (2005) Protective properties and dissolution ability of the gel formed during nuclear glass alteration. *J. Nucl. Mater.* **342**, 26–24.
- Rosenberg D. R. and Maurice P. A. (2003) Siderophore adsorption to and dissolution of kaolinite at pH 3–7 and 22 °C. *Geochim. Cosmochim. Acta* **67**, 223–229.
- Rozalen M., Ramos M. E., Huertas F. J., Fiore S. and Gervilla F. (2013) Dissolution kinetics and biodegradability of tremolite particles in mimicked lung fluids. Effect of citrate and oxalate. *J. Asian Earth Sci.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jseas.2013.04.008>.
- Schalm O., Proost K., de Vis K., Cagno S., Janssens K., Mees F., Jacobs P. and Caen J. (2010) Manganese staining of archaeological glass: the characterization of Mn-rich inclusions in leached layers and a hypothesis of its formation. *Archaeometry* **53**, 103–122.
- Shen S., Wu Z. and Peng W. (2014) Experimental study on weathering of seafloor volcanic glass by bacteria (*Pseudomonas fluorescens*) – implications for the contribution of bacteria to the water-rock reaction at the Mid-Oceanic Ridge setting. *J. Asian Earth Sci.* **90**, 15–25.
- Silvestri A., Molin G. and Salviulo G. (2005) Archaeological glass alteration products in marine and land-based environments: morphological, chemical and microtextural characterization. *J. Non-cryst. Solids* **351**, 1338–1349.
- Souza M. T., Crovace M. C., Schröder C., Eckert H., Peitl O. and Zanotto E. (2013) Effect of magnesium ion incorporation on the thermal stability, dissolution behavior and bioactivity in Bioglass-derived glasses. *J. Non-cryst. Solids* **382**, 57–65.
- Staudigel H., Chastain R. A., Yayanos A. and Bourcier W. (1995) Biologically mediated dissolution of glass. *Chem. Geol.* **126**, 147–154.
- Sterpenich J. (2011) Les interactions fluide/roche: des vitraux médiévaux à la sequestration géologique du CO<sub>2</sub>. Thèse de doctorat, Université de Lorraine, 283p.
- Stillings L. L., Drever J. I., Brantley S. L. and Sun Y. (1995) Rates of feldspars dissolution at pH 3–7 with 0–8 mM oxalic acid. *Chem. Geol.* **132**, 79–89.
- Stillings L. L., Drever J. I. and Poulson S. R. (1998) Oxalate adsorption at a plagioclase (An47) surface and models for ligand-promoted dissolution. *Environ. Sci. Technol.* **32**, 2856–2864.
- Stockmann G. J., Shirokova L. S., Pokrovsky O. S., Bénézech P., Bovet N., Gislason S. R. and Oelkers E. H. (2012) Does the presence of heterotrophic bacterium *Pseudomonas reactans* affect basaltic glass dissolution rates? *Chem. Geol.* **296–297**, 1–18.
- Stroncik N. A. and Schmincke H. U. (2002) Palagonite – a review. *Int. J. Earth Sci.* **91**, 680–697.
- Techer I., Advocat T., Lancelot J. and Liotard J. M. (2000) Basaltic glass: alteration mechanisms and analogy with nuclear waste glasses. *J. Nucl. Mater.* **282**, 40–46.
- Templeton D. (2002) *Molecular and Cellular Iron Transport*. CRC Press, 848 p.
- Thien B. M. J., Gordon N., Ballester A., Gin S. and Ayrat A. (2012) The dual effect of Mg on the long-term alteration rate of AVM nuclear waste glasses. *J. Nucl. Mater.* **427**, 297–310.
- Ullman W. J., Kirchman D. L., Welch S. A. and Vandevivere P. (1996) Laboratory evidence for microbially mediated silicate mineral dissolution in nature. *Chem. Geol.* **132**, 11–17.
- Verney-Carron A., Gin S. and Libourel G. (2008) A fractured roman glass block altered for 1800 years in seawater: analogy with nuclear waste glass in a deep geological repository. *Geochim. Cosmochim. Acta* **72**, 5372–5385.
- Wang X., Li Q., Hu H., Zhang T. and Zhou Y. (2005) Dissolution of kaolinite induced by citric, oxalic and malic acids. *J. Colloid Interface Sci.* **290**, 481–488.
- Watkinson D., Weber L. and Anheuser K. (2005) Staining of archaeological glass from manganese-rich environments. *Archaeometry* **47**, 69–82.
- Watteau F. and Berthelin J. (1994) Microbial dissolution of iron and aluminum from soil minerals: efficiency and specificity of hydroxamate siderophores compared to aliphatic acids. *Soil Biol.* **30**, 1–9.
- Welch S. and Ullman W. (1992) The effect of organic acids on plagioclase dissolution rates and stoichiometry. *Geochim. Cosmochim. Acta* **57**, 2725–2736.
- Welch S. A. and Ullman W. J. (1993) The effect of organic acids on feldspar dissolution rates and stoichiometry. *Geochim. Cosmochim. Acta* **57**, 2725–2736.
- Wolff-Boenisch D. and Traina S. J. (2006) A comparative study of the effect of desferrioxamine B, oxalic acid, and Na-alginate on the desorption of U(VI) from goethite at pH 6 and 25 °C. *Geochim. Cosmochim. Acta* **70**, 4356–4366.
- Wolff-Boenisch D. and Traina S. J. (2007) The effect of desferrioxamine B, enterobactin, oxalic acid, and Na-alginate on the dissolution of uranyl-treated goethite at pH 6 and 25 °C. *Chem. Geol.* **243**, 357–368.
- Wolff-Boenisch D., Wenau S., Gislason S. R. and Oelkers E. H. (2011) Dissolution of basalts and peridotite in seawater, in the presence of ligands, and CO<sub>2</sub>: implications for mineral sequestration of carbon dioxide. *Geochim. Cosmochim. Acta* **75**, 5510–5525.
- Zinder B., Furrer G. and Stumm W. (1986) The coordination chemistry of weathering: II Dissolution of iron (III) oxides. *Geochim. Cosmochim. Acta* **50**, 1861–1869.

## Chapitre 4

# Rôle du fer dans les processus de bioaltération

A la suite des expériences abiotiques présentées dans le Chapitre 3, des cultures bactériennes ont été réalisées en présence des verres HAPLO, MORB2 et MORB3. Afin de pouvoir aisément comparer les résultats de ces expériences de bioaltération avec ceux présentés dans le chapitre précédent, les conditions choisies pour les expériences en présence de ligands ont été, dans la mesure du possible, maintenues dans ce chapitre. Le cheminement expérimental suivi pour la mise en place de ces nouveaux tests de dissolution est d'ailleurs explicité dans le Chapitre 2.

Cette nouvelle partie entend être une transposition des processus décrits dans le chapitre précédent à des systèmes plus représentatifs de la réalité. Les sidérophores ne sont plus introduits artificiellement en solution, mais produits par des bactéries. On s'attend donc à ce que la production de sidérophores (abondante ? minime ? indétectable ?) soit contrôlée par ces organismes vivants. On s'attend également à ce que, plus généralement, la présence de bactéries et d'exsudats bactériens dans le milieu influe sur la composition chimique de la solution au contact des verres et sur les processus de dissolution de ces derniers. En effet, introduire nos verres basaltiques dans ces cultures bactériennes signifie fournir dans l'environnement cellulaire une source importante d'éléments exploitables par les microorganismes, ou au contraire nuisibles à leur développement. Parmi les éléments constitutifs de nos verres, le sodium, magnésium et potassium participent aux métabolismes de base des cellules et sont absolument essentiels à la vie. Ces éléments sont d'ailleurs présents en grandes quantités dans les cellules bactériennes, à des concentrations de l'ordre du mM. Les métaux tels que le fer (au même titre que le zinc, nickel, cuivre, manganèse...) sont aussi impliqués dans les processus cellulaires et sont présents à des concentrations de l'ordre du  $\mu\text{M}$  au mM (Heldal *et al.*, 1985). La plupart des autres métaux, notamment le plomb, le mercure

et dans le cadre de nos expériences, l'aluminium, n'ont absolument aucune fonction biologique. Au contraire, les bactéries usent de mécanismes spécifiques pour se protéger de ces éléments parfois toxiques (Nies, 2003). Les enjeux d'une interactions verres/bactéries sont donc multiples. Toutefois, on tiendra compte de la difficulté à quantifier les contributions respectives des bactéries et de leurs exsudats dans les processus d'altération résultant de ces interactions.

Des expériences de dissolution des verres HAPLO, MORB2 et MORB3 ont donc été mises en place à 25°C, au contact de la souche *Pseudomonas (P.) aeruginosa* et dans un milieu minimum, pour stimuler la biosynthèse de pyoverdine (un sidérophore de *P. aeruginosa*). Les cinétiques de dissolution des trois verres, en milieu stérile, au contact de la souche, ou encore isolés de la suspension bactérienne par des membranes de dialyse, ont été établies. La croissance bactérienne ainsi que la production de sidérophores ont été mesurées au cours du temps. Des expériences de dissolution en eau ultrapure (EUP) mais en présence d'un sidérophore naturel directement extrait d'une culture en milieu minima ont aussi été mises en place.

Une partie des résultats présentés et discutés dans ce chapitre a fait l'objet d'un article, soumis à la revue *Geochimica et Cosmochimica Acta* en juin 2015.

## 4.1 Résultats

### 4.1.1 Croissance bactérienne

Les courbes de croissance de *P. aeruginosa* dans le milieu MM9, représentées par les valeurs de Densité Optique (DO) ou d'Unité Formant Colonie (UFC) en fonction du temps d'incubation, sont données par les Figures 4.1 et 4.2, respectivement pour les expériences n'utilisant pas ou utilisant des membranes de dialyse. On comparera notamment les courbes de croissance obtenues en présence des verres soumis à altération, mais aussi dans les expériences de contrôle (sans verre).

Pour les expériences en conditions "standards", sans recours aux membranes de dialyse (Figure 4.1), les quatre courbes obtenues sont caractérisées par des tendances similaires, quelles que soient les conditions expérimentales. La phase de latence, si elle existe, est très

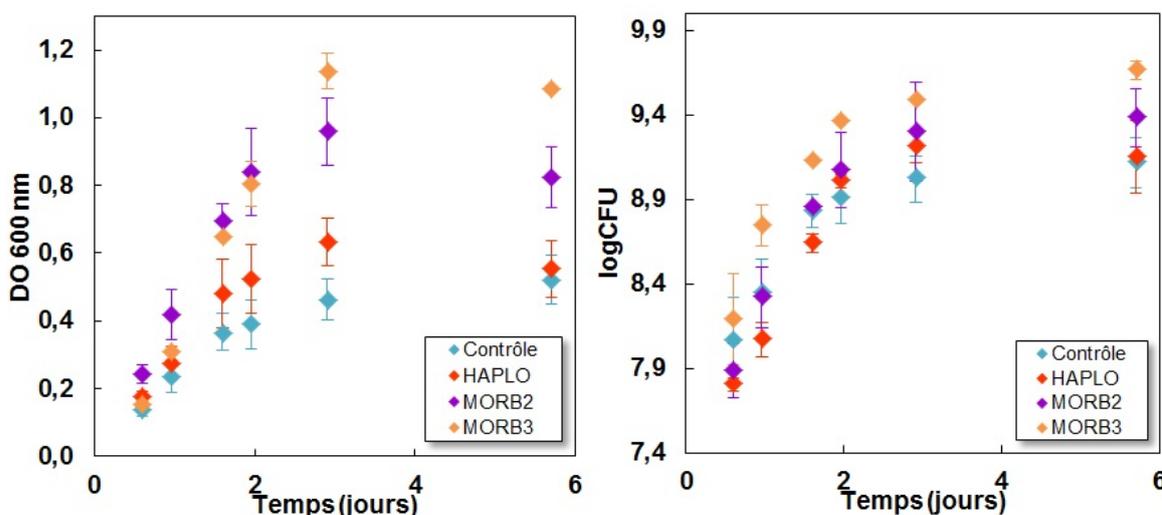


FIGURE 4.1: Courbes de croissance de *P. aeruginosa* dans le milieu MM9 seul (contrôle) ou en présence des verres HAPLO, MORB2 ou MORB3. Les barres d'erreur représentent l'écart-type entre les points de triplicats. Les coefficients de corrélation entre les valeurs de DO et d'UFC sont 0,97 (contrôle), 0,95 (HAPLO), 0,99 (MORB2) et 0,92 (MORB3).

courte (étant donné le manque de points dans cette partie des courbes, on ne peut qu'estimer sa durée entre zéro et 0,6 jours d'incubation). Les bactéries ayant été inoculées à partir de cultures fraîches, l'atteinte rapide d'une phase de croissance exponentielle n'est pas surprenante. Pour les quatre conditions, cette phase exponentielle se maintient jusqu'au troisième jour d'expérience. La concentration des cellules bactériennes dans les milieux devient ensuite constante. Après six jours, les expériences de dissolution prennent fin alors que les bactéries sont encore dans cette phase stationnaire.

On note toutefois que si en terme de durée, ces phases de croissance bactérienne sont les mêmes d'une expérience à une autre, la concentration en bactéries varie en fonction des conditions. L'ajout des verre MORB3, MORB2 et HAPLO amplifie visiblement la croissance bactérienne, les expériences de contrôle étant caractérisées par la croissance la plus faible. Cette amplification est plus marquée en présence des verres MORB3 et MORB2, qui diffèrent principalement du verre HAPLO par leur teneur en fer.

Pour les expériences utilisant des membranes de dialyse (Figure 4.2), les résultats sont très similaires : la croissance bactérienne est plus accentuée en présence des verres MORB3 ou MORB2 et bien plus modérée pour le verre HAPLO. L'établissement de la phase stationnaire est cependant plus lent, celle-ci est semble-t-il atteinte en fin d'expérience (six jours) seulement.

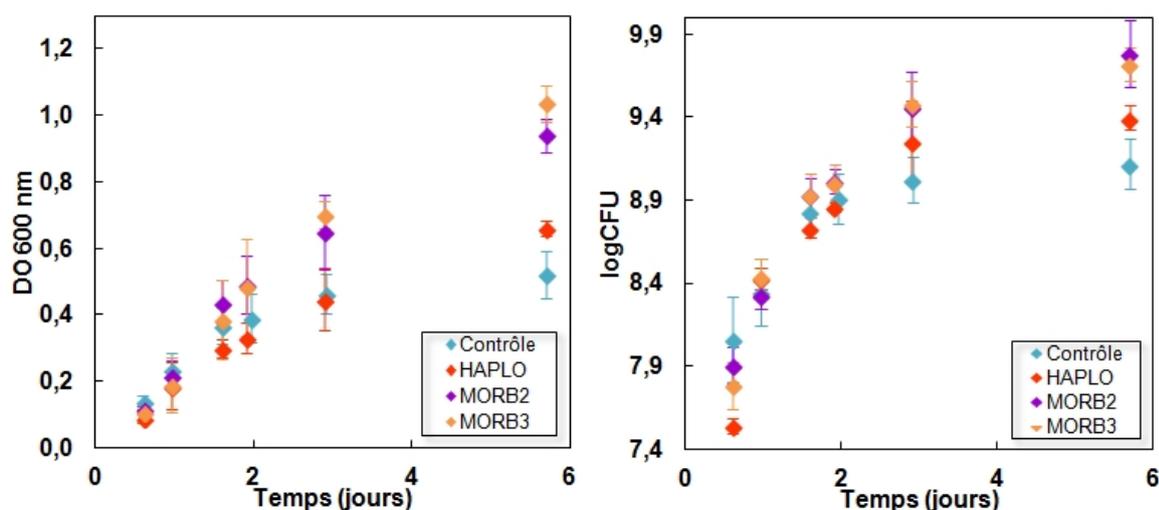


FIGURE 4.2: Courbes de croissance de *P. aeruginosa* dans le milieu MM9 seul (contrôle) ou en présence des verres HAPLO, MORB2 ou MORB3, confinés dans des membranes de dialyse. Les barres d'erreur représentent l'écart-type entre les points de triplicats. Les coefficients de corrélation entre les valeurs de DO et d'UFC sont 0,97 (contrôle), 0,93 (HAPLO), 0,98 (MORB2) et 0,99 (MORB3).

#### 4.1.2 Production de sidérophore

Lorsque l'environnement cellulaire est carencé en fer, *P. aeruginosa* est susceptible de produire un sidérophore, la pyoverdine. La pyoverdine est d'ailleurs produite par de nombreuses souches *Pseudomonas* et par *Azotobacter vinelandii* et se décline sous diverses structures chimiques. On recense plus de 100 pyoverdines apparentées (Meyer et Abdallah, 1978). Ces sidérophores sont constitués d'un chromophore quinoléique lié à un peptide partiellement cyclisé (Figure 4.3), qui diffère considérablement d'une pyoverdine à une autre, de par sa chaîne latérale (Schons *et al.*, 2005). Trois types de morphologies sont par exemple susceptibles d'être obtenues pour la pyoverdine synthétisée par la souche *Pseudomonas aeruginosa*. La forme majoritaire est celle représentée en I sur la Figure 4.3.

L'affinité pour le fer de ce sidérophore est très importante, se traduisant par une constante de complexation de l'ordre de  $10^{32}$ . La complexation est assurée par le groupement catéchol et les fonctions hydroxamates repérés sur la Figure 4.3 (Albrecht-Gary *et al.*, 1994). La stoechiométrie des complexes  $Fe^{3+}$ -pyoverdine, lorsque la coordinence préférentielle du fer est respectée, est donc de (1 :1).

Un des atouts des études sur la pyoverdine repose sur ses propriétés de fluorescence, qui lui sont conférées par son chromophore (Schalk *et al.*, 1999; Folschweiller *et al.*, 2002). En fonction des carences que présente le milieu, la production de pyoverdine peut être plus

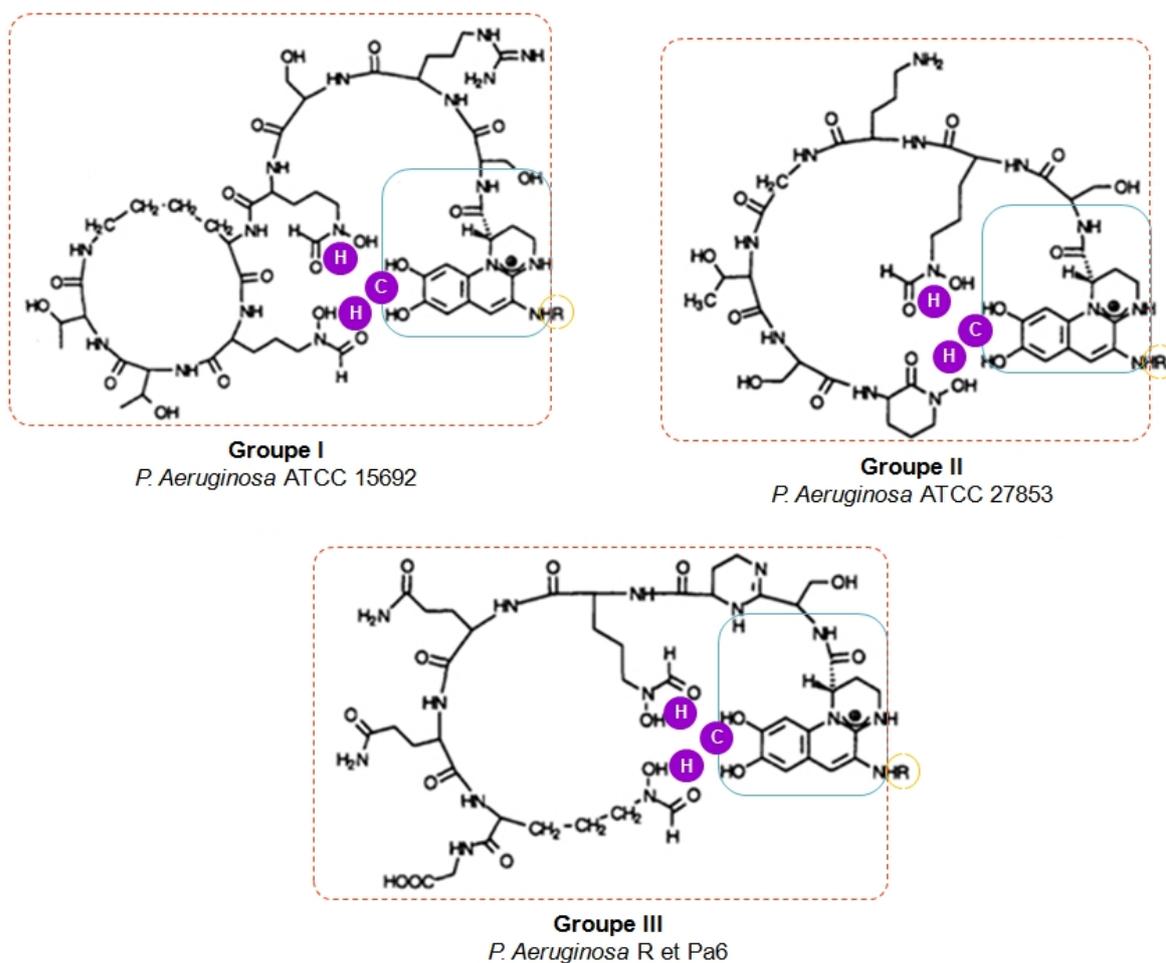


FIGURE 4.3: Trois isoformes de la pyoverdine synthétisée par *Pseudomonas aeruginosa* (Figure modifiée d'après (Meyer *et al.*, 1997)). Le groupement R (en jaune) peut être un dérivé de l'acide succinique, succinamide ou alpha-cétoglutarique. Les chromophore et chaîne peptidique sont respectivement repérés en bleu et rouge. Les groupements catéchols (C) et hydroxamates (H) participant à la réaction de complexation du Fe(III) sont indiqués en violet.

ou moins massive. Étant donnée cette couleur verte très fluorescente, sa présence en solution est facilement repérable à l'œil nu. Dans un premier temps, la couleur des milieux de culture incubés a donc été suivie en fonction du temps. Une fois les expériences de dissolution terminées, les cultures ont été maintenues sous agitation et à 25°C pendant quatorze jours supplémentaires, au cours desquels le suivi a été prolongé. L'aspect (couleur, transparence/turbidité) du milieu de culture après dix jours d'incubation, en fonction du verre soumis à altération, est montré sur les Figures 4.4 et 4.5.

Pour les expériences sans membranes de dialyse, on observe dans les cultures de contrôle (sans verre), et dans les milieux incubés en présence du verre HAPLO, une coloration verte dès les premiers instants (discernable dès 24h) s'intensifiant et persistant avec le temps. Au contraire, en présence du verre MORB3, aucune coloration n'est observée. Pour le verre MORB2, la solution se teinte légèrement de vert jusqu'au sixième jour, puis cette couleur disparaît progressivement entre six et vingt jours d'expérience (Figure 4.4). Au vingtième jour, la culture est caractérisée par une teinte marron clair.

Dans les expériences à membranes de dialyse, la production de pyoverdine est observée dans le milieu, quelles que soient les conditions expérimentales. La coloration verte est toutefois moins franche en présence des verres MORB3 et MORB2, et évolue en quatre à cinq jours vers une teinte marron, prononcée entre dix et vingt jours (Figure 4.5).

Si on devine aisément la présence de pyoverdine dans un milieu de culture par la couleur verte qu'elle confère à la solution, on peut aussi la détecter et surtout la quantifier, par spectrophotométrie UV-Visible, avec notamment l'observation d'un pic d'absorption entre 380 et 420 nm caractérisé par deux maxima (Meyer et Abdallah, 1978). Les spectres d'absorption enregistrés, entre 300 et 500 nm, au cours des expériences de bioaltération des verres HAPLO, MORB2 et MORB3, séparés ou non de la suspension bactérienne par des membranes de dialyse, sont donnés dans les Figures 4.6, 4.7 et 4.8.

Les spectres enregistrés au cours des expériences de contrôle (sans verre) témoignent bien de la présence de pyoverdine, puisqu'on observe le pic attendu entre 380 et 420 nm, caractérisé par deux épaulements à 395 et 410 nm, dont les absorbances augmentent avec le temps. Pour les expériences utilisant des membranes de dialyse, à six jours, ces absorbances sont supérieures à celles enregistrées en présence des verres MORB3, MORB2 ou HAPLO. De la même façon, les cultures incubées en présence du verre HAPLO présentent ce pic d'absorption entre 380 et 420 nm, dont l'absorbance maximale augmente avec le temps (0,8 et 1,3 respectivement à trois et six jours, cf. Figure 4.6.a) et est même, à trois jours, supérieure à celle relevée dans le contrôle. En revanche, pour les cultures en présence de verres porteurs



FIGURE 4.4: Aspect du milieu de culture MM9 après 10 jours d'incubation de la souche *P. aeruginosa* pour les expériences de contrôle (a) ou en présence des verres HAPLO (b), MORB2 (c) et MORB3 (d) (crédits photographiques : Stéphanie Rossano).

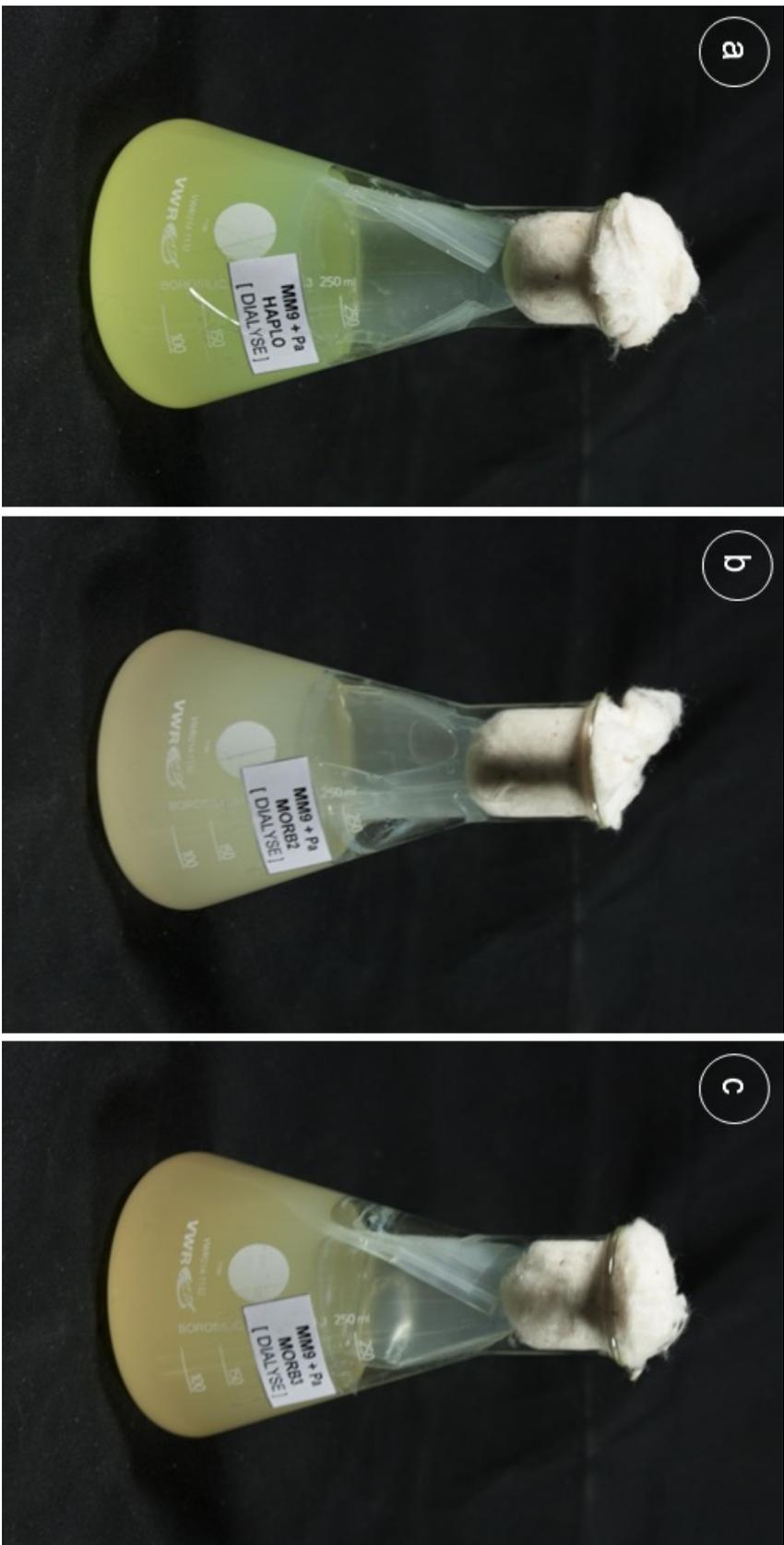


FIGURE 4.5: Aspect du milieu de culture MM9 après 10 jours d'incubation de la souche *P. aeruginosa*, en présence des verres HAPLO (a), MORB2 (b) et MORB3 (c), isolés de la suspension bactérienne par des membranes de dialyse (crédits photographiques : Stéphanie Rosanno).

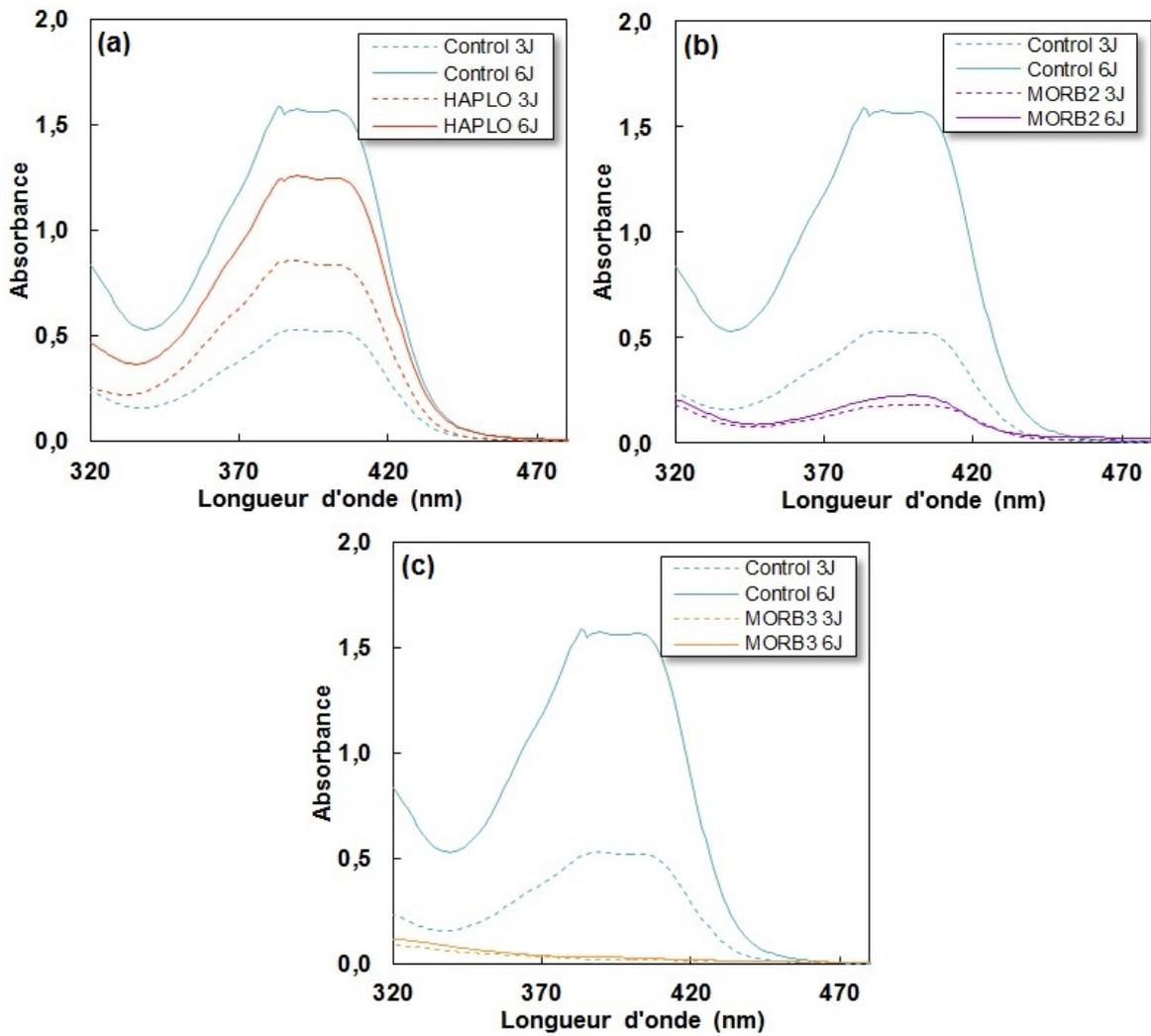


FIGURE 4.6: Spectres d'absorption UV-Vis à trois jours (3J) et six jours (6J) d'incubation de cultures de *P. aeruginosa* en présence/en l'absence d'échantillons basaltiques HAPLO (a), MORB2 (b) et MORB3 (c)

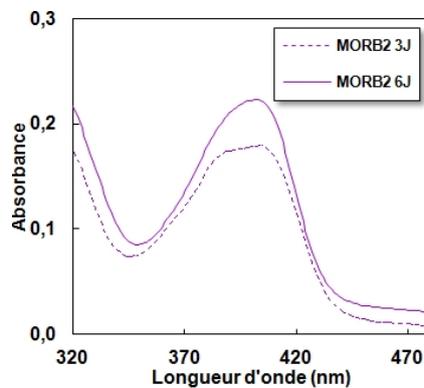


FIGURE 4.7: Spectres d'absorption UV-Vis après trois jours (3J) et six jours (6J) d'un milieu de culture incubé en présence d'un échantillon MORB2.

de fer, la pyoverdine n'est que peu ou pas détectée. Pour le verre MORB3, pas même une ébauche de pic ne se dessine entre 380 et 420 nm, ni à trois ni six jours d'expérience (Figure 4.6.c). Pour le verre MORB2, un pic de faible absorbance (0,2) est détecté entre trois et six jours d'expérience (Figure 4.6.b). Après un changement d'échelle (Figure 4.7), on constate une évolution de la forme de ce pic entre trois et six jours (rapprochement des deux maxima). Cette évolution n'est constatée que dans le cas du verre MORB2.

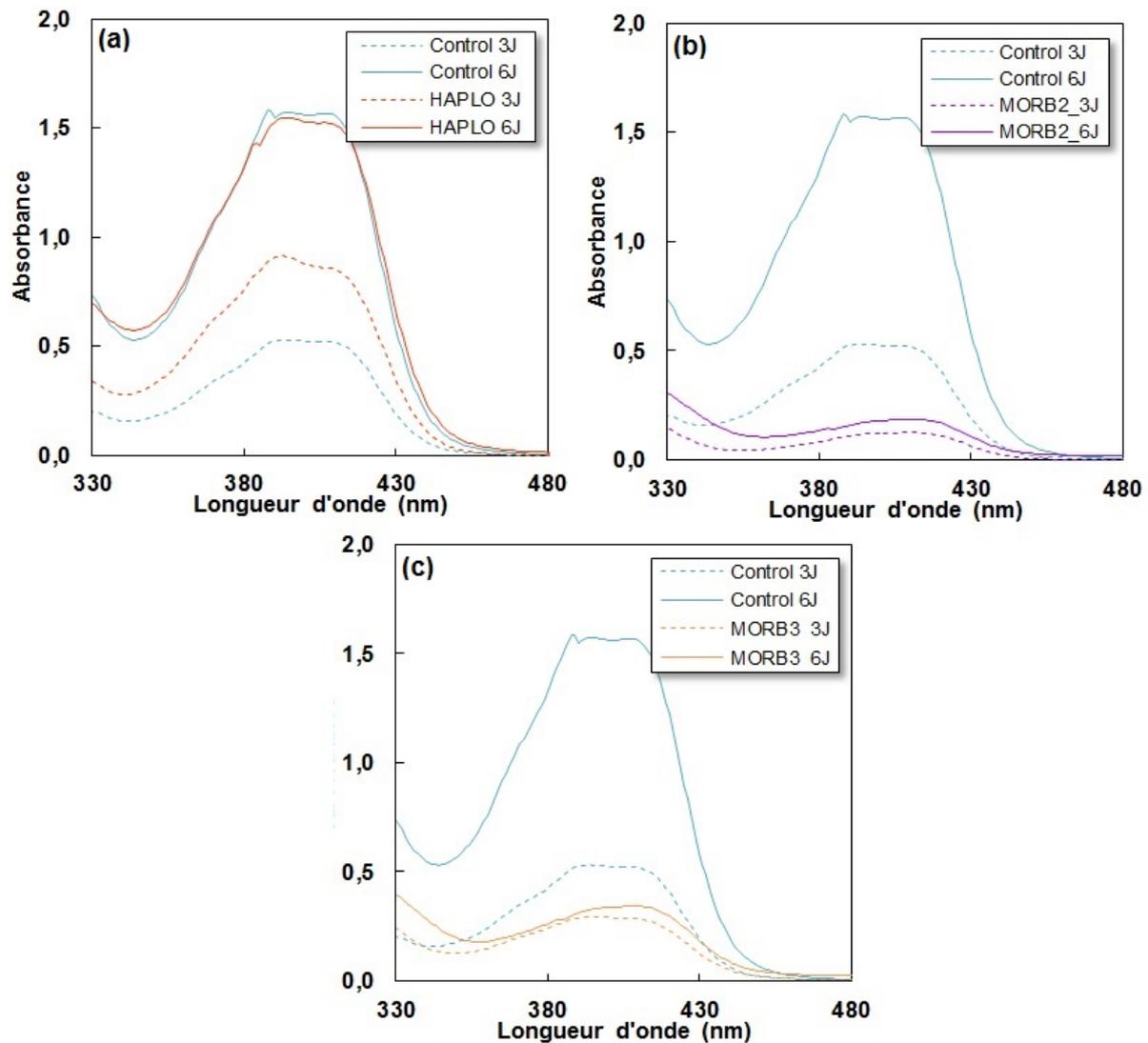


FIGURE 4.8: Spectres d'absorption UV-Vis à trois jours (3J) et six jours (6J) d'incubation de cultures de *P. aeruginosa* en présence/en l'absence d'échantillons basaltiques HAPLO (a), MORB2 (b) et MORB3 (c), isolés de la suspension bactérienne par des membranes de dialyse.

Dans les expériences utilisant des membranes de dialyse, en revanche, on détecte le pic caractéristique de la pyoverdine quel que soit le verre en présence (Figure 4.8). De manière générale, ces expériences sont caractérisées par des concentrations en pyoverdine au moins égales, voire supérieures à celles observées dans les expériences sans dialyse, quel que soit le verre impliqué. En présence du verre HAPLO, les absorbances du pic caractéristique

de la pyoverdine à six jours sont désormais égales à celles obtenues dans les expériences de contrôle (Figure 4.8.a). Pour le verre MORB3, la pyoverdine est cette-fois détectée et ce dès trois jours (absorbance 0,3, cf. Figure 4.8.c). Entre trois et six jours, l'amplitude du pic n'augmente plus. Cependant, sa forme et sa position évoluent avec le temps. En présence du verre MORB2, les résultats sont très similaires à ceux obtenus dans les expériences sans dialyse (Figures 4.6.b et 4.8.b).

Afin d'étudier plus précisément l'évolution de la forme et de la position des pics d'absorbance de la pyoverdine au fil des expériences de dissolution, un spectre des milieux incubés a été périodiquement enregistré (tous les trois jours), jusqu'à quinze jours d'expérience. Ce suivi a été fait pour les expériences de dissolution des verres MORB2 et MORB3 confinés dans des membranes de dialyse, puisque ce sont les seules expériences à présenter une production de pyoverdine en présence de verres porteurs de fer. Les spectres enregistrés sont donnés dans la Figure 4.9.

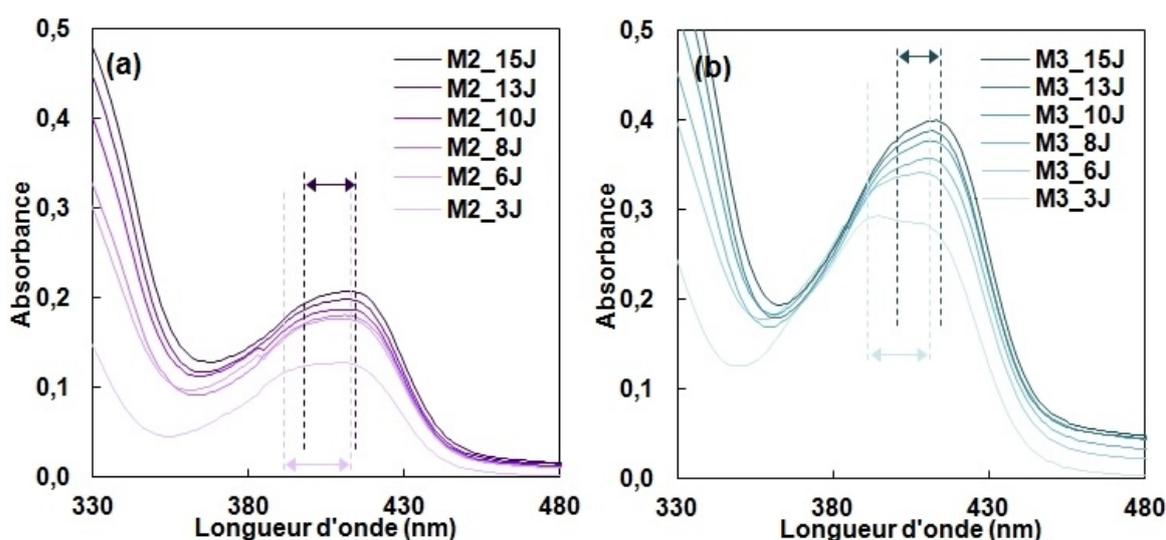


FIGURE 4.9: Spectres d'absorption UV-Vis entre trois et quinze jours d'expérience en présence des verres MORB2 (a) et MORB3 (b) contenus dans des membranes de dialyse.

La prolongation des expériences et l'enregistrement périodique des spectres d'absorption met en évidence la transformation progressive du pic, initialement caractérisé par deux épaulements d'absorbances maximales à 395 et 410 nm. Au fil des jours ces deux maxima se rapprochent, tendant vers un pic à un sommet unique, pic se déplaçant progressivement vers les plus grandes longueurs d'onde (absorbance maximale observée à 420 nm après quinze jours d'incubation).

D'après Meyer et Abdallah (1978), ce léger décalage ainsi que la modification de l'allure du pic traduit le passage de la pyoverdine libre (couleur verte) à la pyoverdine liée au

Fe(III) (couleur brune). Les spectres présentés dans la Figure 4.9 témoignent donc du caractère libre de la pyoverdine à trois jours d'expérience, puis de la présence de pyoverdine libre et de pyoverdine complexée au Fe(III) en solution, le ratio pyoverdine libre/pyoverdine liée s'amenuisant avec le temps.

### 4.1.3 Teneurs en aluminium et fer des cellules bactériennes

Les résultats des analyses chimiques des culots bactériens (pour rappel, ces derniers ont été récupérés selon le protocole détaillé dans le Chapitre 2, §2.2.1) sont donnés dans la Figure 4.10.

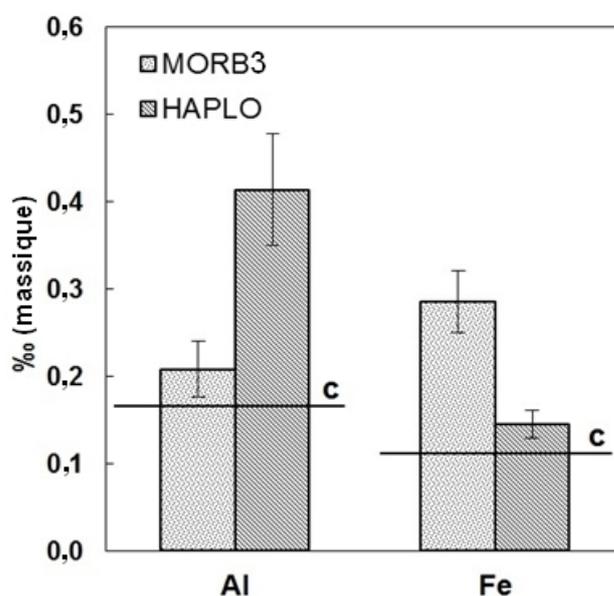


FIGURE 4.10: Teneurs en Al et Fe des cellules bactériennes récupérées à l'issue des expériences de bioaltération de verres MORB3 et HAPLO. Les concentrations mesurées ont été normalisées à la masse du pellet dissout dans  $\text{HNO}_3$  et sont exprimées en poids pour mille. Les lignes horizontales représentent les teneurs calculées pour les expériences de contrôle (c).

Les bactéries cultivées en présence du verre MORB3 apparaissent enrichies en fer ( $0,28\text{‰}$ ), par rapport aux expériences de contrôle ou en présence du verre HAPLO, pour lesquelles les cellules sont caractérisées par des teneurs en fer similaires (respectivement  $0,14$  et  $0,18\text{‰}$ ) compte-tenu des barres d'erreurs. Au contraire, les bactéries cultivées en présence du verre HAPLO sont visiblement enrichies en aluminium ( $0,41\text{‰}$ ), par comparaison aux expériences de contrôle ( $0,17\text{‰}$ ) et aux cultures réalisées en présence du verre MORB3 ( $0,19\text{‰}$ ).

## 4.1.4 Suivi des cinétiques de dissolution

### 4.1.4.1 Concentrations

Le pH des cultures a été systématiquement contrôlé en fin d'expérience. De faibles variations ont pu être observées (pHs finals mesurés compris entre 6,5 et 6,7) et n'ont pas été prises en compte dans l'interprétation des résultats.

Les concentrations en éléments silicium, aluminium et fer relâchés en solution depuis les verres MORB3, MORB2 et HAPLO sont respectivement données dans les Tableaux 4.1, 4.2 et 4.3.

Les concentrations en silicium (< 1 mg/L) dans toutes les solutions, après six jours d'expérience, sont largement inférieures celles caractérisant une solution à l'équilibre avec la silice amorphe (54 mg/L) et le quartz (5 mg/L) Gunnarson et Annorsson (2000).

Rentrons un peu plus dans les détails. Les concentrations en silicium sont inférieures à 500 ppb et 1 ppm, respectivement en conditions stériles et dans les expériences utilisant la souche *P. aeruginosa*, quel que soit le verre impliqué. Les concentrations maximales en aluminium avoisinent quant à elles 100 ppb sans bactéries et se situent entre 200 à 300 ppb avec bactéries. Enfin, pour les verres MORB2 et MORB3, le fer est détecté en solution dès les premiers instants en expériences stériles (20-100 ppb), mais est caractérisé par des concentrations faibles voire inférieures aux limites de détection de l'appareil en présence de *P. aeruginosa*, sauf au sixième jour d'expérience où il finalement est mesuré à des concentrations inférieures à 100 ppb.

	t	Si		Al		Fe	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
MM9	0,6j	98,3±3,2	147,2±5,9	23,8±2,8	33,3±2,8	40,7±1,9	35,2±1,9
	0,9j	145,6±5,9	190,6±5,9	37,0±2,8	29,3±2,8	51,2±4,5	37,7±1,9
	1,6j	176,8±5,9	211,4±7,3	40,7±2,8	42,9±2,8	61,8±4,5	51,0±4,5
	1,9j	188,5±5,9	222,1±7,3	44,6±2,8	42,2±2,8	67,6±4,5	49,2±1,9
	2,9j	215,7±7,3	260,2±7,3	59,7±3,2	56,6±3,2	77,5±4,5	59,6±4,5
	5,7j	406,6±7,3	452,3±7,3	92,2±3,2	94,1±3,2	63,6±4,5	104,7±4,3
MM9 + Pa	0,6j	104,1±5,9	94,8±3,2	26,7±2,8	37,7±2,8	13,4±1,9	40,5±1,9
	0,9j	115,5±5,9	128,0±5,9	29,3±2,8	46,0±2,8	7,7±1,9	n.d.
	1,6j	177,8±5,9	182,5±5,9	53,7±3,2	68,0±3,2	n.d.	n.d.
	1,9j	206,6±7,3	219,6±7,3	63,3±3,2	83,1±3,2	n.d.	1,1±1,9
	2,9j	318,1±7,3	287,8±7,3	104,6±6,4	98,5±3,2	4,9±1,9	n.d.
	5,7j	562,0±17,0	535,7±17,0	150,2±6,4	144,8±6,4	50,0±1,9	71,6±4,5
MM9 + Pa + D	0,6j	115,7±5,9	124,4±5,9	30,5±2,8	55,6±3,2	9,9±1,9	9,9±1,9
	0,9j	140,1±5,9	146,0±5,9	30,0±2,8	59,4±3,2	n.d.	n.d.
	1,6j	228,7±7,3	266,2±7,3	52,7±3,2	71,4±3,2	n.d.	n.d.
	1,9j	277,4±7,3	363,4±7,3	48,3±2,8	73,3±3,2	n.d.	n.d.
	2,9j	421,3±7,3	502,9±17,0	75,8±3,2	67,8±3,2	7,6±1,9	n.d.
	5,7j	880±17,0	1028,6±17,0	188,8±6,4	170,7±6,4	57,5±4,5	58,6±4,5

Tableau 4.1: Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) en éléments Si, Al et Fe relâchés depuis le verre MORB3 dans le milieu stérile (MM9), au contact de la suspension bactérienne (MM9 + Pa) ou séparé de celle-ci par des membranes de dialyse (MM9 + Pa + D), en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes indiquées correspondent aux erreurs analytiques. Le calcul de ces dernières est explicité dans le Chapitre 2.

	t	Si		Al		Fe	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
MM9	0,6j	84,1±3,2	85,2±3,2	35,4±2,8	30,0±2,8	25,1±1,9	30,9±1,9
	0,9j	126,3±5,9	124,5±5,9	37,0±2,8	32,1±2,8	45,3±1,9	29,0±1,9
	1,6j	90,6±3,2	169,9±5,9	39,2±2,8	35,2±2,8	56,9±4,5	43,5±1,9
	1,9j	100,9±5,9	189,1±5,9	42,0±2,8	45,5±2,8	56,2±4,5	49,0±1,9
	2,9j	147,4±5,9	202,4±5,9	47,0±2,8	49,9±2,8	67,3±4,5	72,4±4,5
	5,7j	356,6±7,3	375,2±7,3	90,0±3,2	88,8±3,2	114,5±4,3	103,6±4,3
MM9 + Pa	0,6j	156,2±5,9	142,3±5,9	32,3±2,8	22,8±2,8	n.d.	5,7±1,9
	0,9j	303,5±7,3	149,8±5,9	62,2±3,2	38,0±2,8	n.d.	n.d.
	1,6j	213,4±7,3	176,3±7,3	50,9±3,2	98,6±3,2	6,3±1,9	10,2±1,9
	1,9j	242,4±7,3	224,6±7,3	69,2±3,2	61,0±3,2	n.d.	n.d.
	2,9j	325,4±7,3	342,5±7,3	67,9±3,2	87,3±3,2	n.d.	n.d.
	5,7j	617,1±17,0	764,3±17,0	139,8±6,4	211,3±6,6	63,6±4,5	92,7±4,5
MM9 + Pa + D	0,6j	108,6±5,9	111,4±5,9	50,8±3,2	51,2±3,2	9,6±1,9	0,1±1,9
	0,9j	139,5±5,9	173,3±5,9	47,1±2,8	62,4±3,2	n.d.	n.d.
	1,6j	221,3±7,3	197,3±5,9	62,2±3,2	77,0±3,2	n.d.	n.d.
	1,9j	249,8±7,3	272,6±7,3	69,2±3,2	91,1±3,2	n.d.	29,3±1,9
	2,9j	382,8±7,3	332,1±7,3	92,7±3,2	102,6±3,4	n.d.	n.d.
	5,7j	729,3±17,0	707,1±17,0	160,1±3,4	174,4±3,4	27,5±1,9	23,1±1,9

Tableau 4.2: Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) en éléments Si, Al et Fe relâchés depuis le verre MORB2 dans le milieu stérile (MM9), au contact de la suspension bactérienne (MM9 + Pa) ou séparé de celle-ci par des membranes de dialyse (MM9 + Pa + D), en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes indiquées correspondent aux erreurs analytiques. Le calcul de ces dernières est explicité dans le Chapitre 2.

	t	Si		Al	
		(1)	(2)	(1)	(2)
MM9	0,6J	80,1±3,2	90,2±3,2	32,5±2,8	40,6±2,8
	0,9J	108,3±5,9	120,7±5,9	45,2±2,8	43,0±2,8
	1,6J	162,4±5,9	169,9±5,9	58,0±3,2	52,4±3,2
	1,9J	179,9±5,9	179,1±5,9	69,7±3,2	56,7±3,2
	2,9J	245,9±7,3	240,6±7,3	75,6±3,2	65,3±3,2
	5,7J	399,8±7,3	406,8±7,3	86,5±3,2	88,9±3,2
MM9 + Pa	0,6J	84,8±3,2	75,6±3,2	37,7±2,8	30,9±2,8
	0,9J	103,5±5,9	85,9±3,2	42,3±2,8	32,9±2,8
	1,6J	168,9±5,9	163,3±5,9	64,6±3,2	44,6±2,8
	1,9J	205,5±7,3	198,9±5,9	95,7±3,2	49,8±2,8
	2,9J	308,1±7,3	336,8±7,3	109,5±6,4	90,3±3,2
	5,7J	848,2±17,0	946,8±17,0	289,2±6,6	293,1±6,6
MM9 + Pa + D	0,6J	71,0±3,2	75,1±3,2	38,5±2,8	25,6±2,8
	0,9J	102,4±5,9	85,4±3,2	58,5±3,2	25,6±2,8
	1,6J	166,2±5,9	138,6±5,9	73,5±3,2	37,0±2,8
	1,9J	205,2±7,3	158,0±5,9	73,5±3,2	37,0±2,8
	2,9J	308,7±7,3	234,7±7,3	103,7±6,4	75,7±3,2
	5,7J	681,3±17,0	642,2±17,0	163,9±6,4	167,9±6,4

Tableau 4.3: Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) en éléments Si et Al relâchés depuis le verre HAPLO dans le milieu stérile (MM9), au contact de la suspension bactérienne (MM9 + Pa) ou séparé de celle-ci par des membranes de dialyse (MM9 + Pa + D), en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats produites pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes indiquées correspondent aux erreurs analytiques. Le calcul de ces dernières est explicité dans le Chapitre 2.

#### 4.1.4.2 Pertes de masse normalisées

Les NLs sont représentées, en fonction du temps, sur les Figures 4.11, 4.12 et 4.13, respectivement pour les verres MORB3, MORB2 et HAPLO et en fonction des conditions expérimentales (expériences stériles, en présence de bactéries, en présence de bactéries mais dans lesquelles le verre est isolé de la suspension bactérienne par des membranes de dialyse).

Les NLs du silicium et de l'aluminium augmentent avec le temps, quelles que soient les conditions. Ces augmentations sont linéaires, ce qui témoigne de vitesses de relâchement constantes. Les NLs du fer augmentent avec le temps dans les expériences en MM9 stérile seulement. En présence de bactéries (avec ou sans dialyse), le fer est faiblement relâché en début d'expérience, puis non détecté, pour finalement l'être à nouveau à partir de 5,7 jours (Figures 4.11, 4.12).

Pour les expériences en milieu MM9 stérile, les profils de dissolution du silicium, de l'aluminium et du fer sont similaires d'un verre à un autre. Les NLs du silicium augmentent jusqu'à atteindre  $20 \text{ mg/m}^2$ , tandis que les valeurs des NLs du fer et de l'aluminium n'ex-

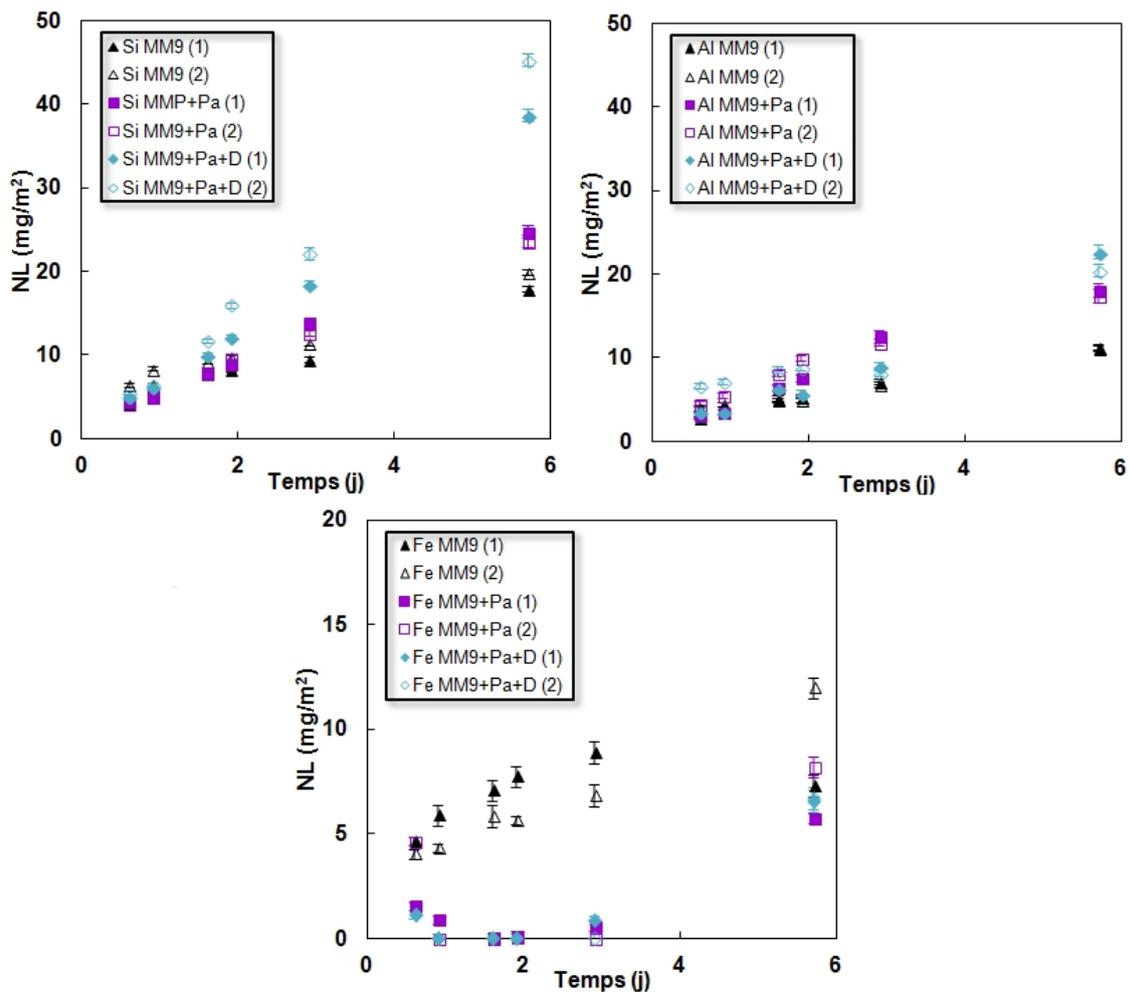


FIGURE 4.11: Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al et Fe du verre MORB3 en fonction du temps d'altération, dans le milieu MM9 stérile (MM9), dans le milieu MM9 et en présence de *P. aeruginosa* (MM9 + Pa) et enfin dans le milieu MM9 en présence de la souche mais séparé de celle-ci par une membrane de dialyse (MM9 + Pa + D). Les barres d'erreur représentées sont les barres d'erreur analytiques. Les symboles remplis et vides représentent respectivement les première (1) et deuxième (2) séries de duplicats.

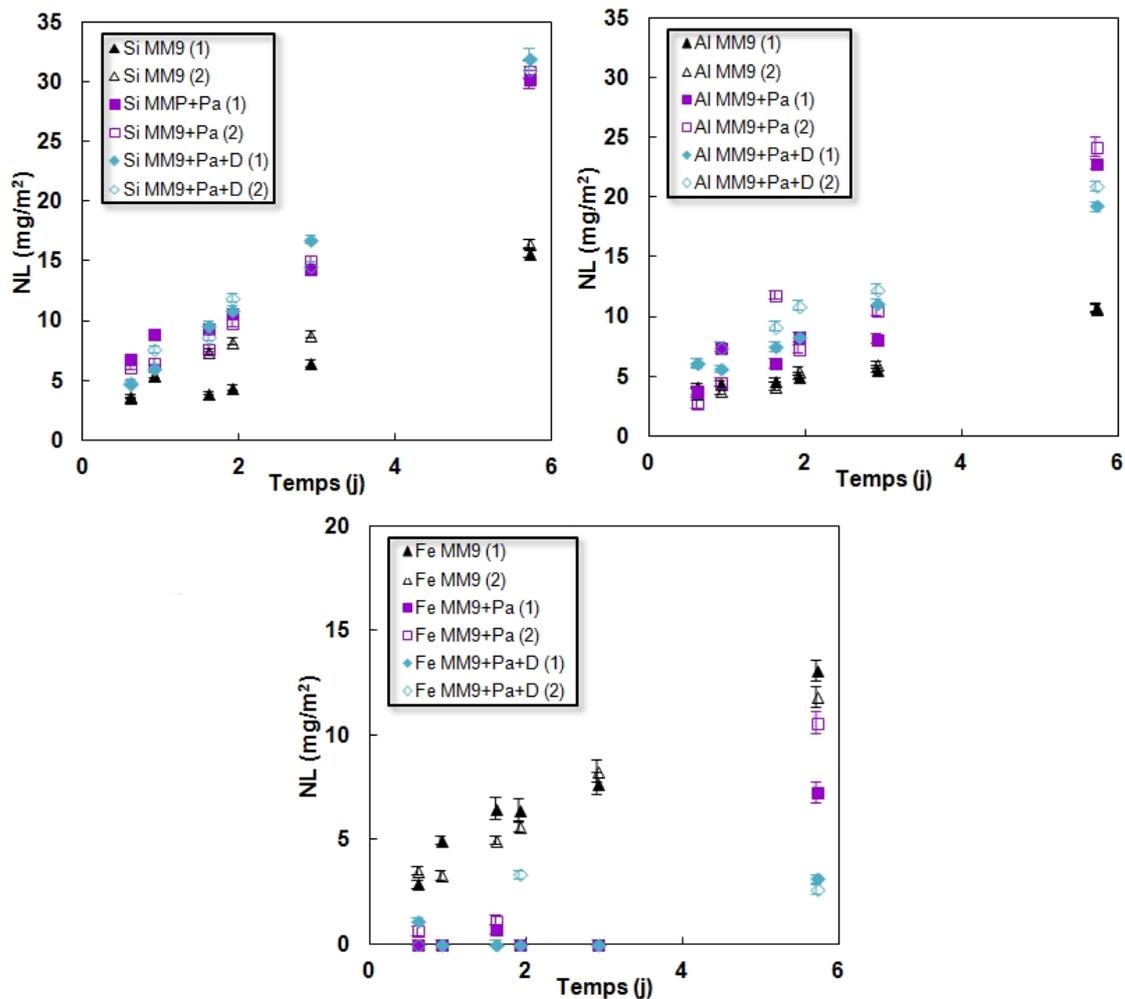


FIGURE 4.12: Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al et Fe du verre MORB2 en fonction du temps d'altération, dans le milieu MM9 stérile (MM9), dans le milieu MM9 et en présence de *P. aeruginosa* (MM9 + Pa) et enfin dans le milieu MM9 en présence de la souche mais séparé de celle-ci par une membrane de dialyse (MM9 + Pa + D). Les barres d'erreur représentées sont les barres d'erreur analytiques. Les symboles remplis et vides représentent respectivement les première (1) et deuxième (2) séries de duplicats.

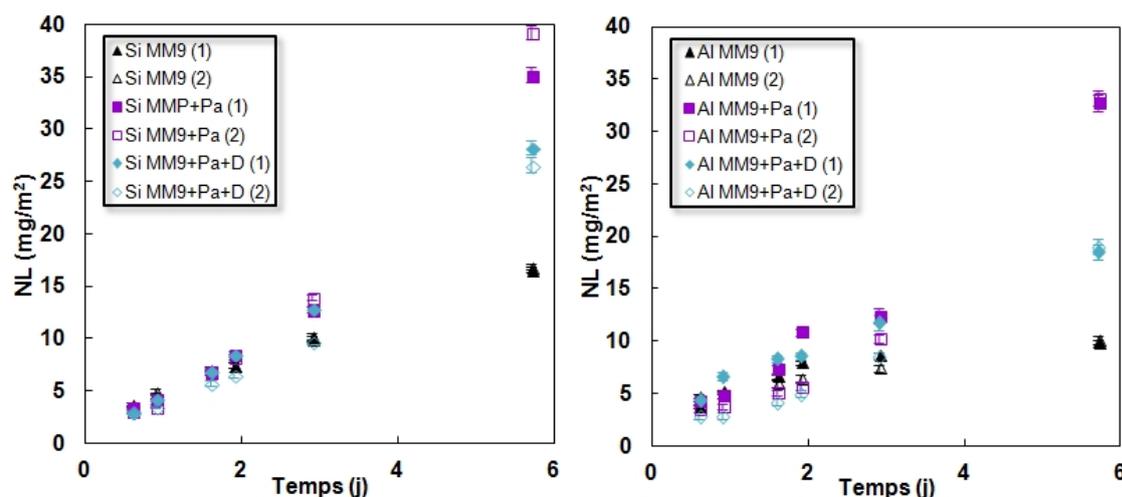


FIGURE 4.13: Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al du verre HAPLO en fonction du temps d'altération, dans le milieu MM9 stérile (MM9), dans le milieu MM9 et en présence de *P. aeruginosa* (MM9 + Pa) et enfin dans le milieu MM9 en présence de la souche mais séparé de celle-ci par une membrane de dialyse (MM9 + Pa + D). Les barres d'erreur représentées sont les barres d'erreur analytiques. Les symboles remplis et vides représentent respectivement les première (1) et deuxième (2) séries de duplicats.

cèdent pas  $10 \text{ mg/m}^2$ . Les expériences de dissolution en milieu stérile sont caractérisées, de manière générale, par des valeurs de NLs du silicium et de l'aluminium inférieures à celles calculées en présence de *P. aeruginosa*. La comparaison aux expériences à membranes de dialyse est notamment particulièrement parlante, les valeurs finales des NLs du silicium et de l'aluminium après six jours étant, dans ces conditions, presque systématiquement doublées par rapport aux expériences en milieu stérile.

En présence de bactéries (mais sans dialyse), les profils de dissolution sont différents d'un verre à un autre. Les valeurs des NLs du silicium et de l'aluminium augmentent globalement dans cet ordre : MORB3 < MORB2 < HAPLO. On exclura le fer puisque cet élément n'est quasi pas détecté dans le milieu. A titre d'exemple, pour le silicium, les NLs après 5,7 jours d'expérience sont respectivement égales à 24, 30 et  $38 \text{ mg/m}^2$ , pour les verres MORB3, MORB2 et HAPLO (Figures 4.11, 4.12 et 4.13).

Le verre MORB2 est le seul pour lequel la présence ou l'absence de membrane de dialyse ne joue pas sur le relâchement des éléments en solution (Figure 4.12). Pour les deux autres verres, en revanche, la présence d'une membrane isolant le verre de la suspension bactérienne bouleverse les tendances dégagées des expériences précédentes. Les valeurs des NLs du verre HAPLO, largement supérieures à celles des autres verres en présence de *P. aeruginosa*, subissent la présence des membranes de dialyse en étant divisées par 1,5 environ (Figure 4.13). Au contraire, pour le verre MORB3, les NLs sont augmentées de manière signi-

ficatives, notamment pour le silicium, dont les NLs excèdent désormais 40 mg/m<sup>2</sup> (Figure 4.11).

#### 4.1.4.3 Vitesses initiales

Les vitesses initiales de dissolution relatives aux relâchements du silicium, de l'aluminium et du fer sont données dans le Tableau 4.4 et représentées, en fonction des conditions expérimentales, sur la Figure 4.14.

		Si	Al	Fe
MORB3	MM9	2,6±0,1	1,5±0,0	1,7±0,1
	MM9 + Pa	4,0±0,2	2,8±0,4	n.calc.
	MM9 + Pa + D	7,3±0,8	3,2±0,8	n.calc.
MORB2	MM9	2,4±0,1	1,4±0,1	1,8±0,1
	MM9 + Pa	4,8±0,4	3,7±0,4	n.calc.
	MM9 + Pa + D	5,2±0,3	2,8±0,1	n.calc.
HAPLO	MM9	2,6±0,1	1,1±0,0	-
	MM9 + Pa	6,8±0,6	5,8±0,3	-
	MM9 + Pa + D	4,9±0,2	3,0±0,5	-

Tableau 4.4: Vitesses initiales de dissolution (mg/m<sup>2</sup>/j) des éléments Si, Al, Fe relâchés depuis les verres MORB3, MORB2 et HAPLO, en fonction des conditions expérimentales (stériles ou non, emploi ou non de membranes de dialyse). Les incertitudes reportées sont égales à ± SD, où SD est la valeur de l'écart-type entre les valeurs des vitesses calculées pour chaque série de réplicats.

En conditions stériles, les vitesses initiales de relâchement du silicium, de l'aluminium et du fer sont très similaires d'une composition à une autre et leurs valeurs se situent entre 1,4 et 2,5 mg/m<sup>2</sup>/j.

En présence de *P. aeruginosa*, avec ou sans membrane de dialyse, les vitesses de relâchement du silicium et de l'aluminium sont accélérées par rapport aux expériences stériles, quelle que soit la composition du verre impliquée. Les vitesses relatives au fer sont nulles, étant donnée la quasi-non détection de cet élément en solution. Si l'on s'intéresse à présent aux différences entre les trois verres, le calcul des vitesses de dissolution vient confirmer les tendances s'étant dessinées à partir de l'observation des NLs. Pour les expériences n'utilisant pas de membranes de dialyse, la dissolution du verre HAPLO est caractérisée par les relâchements les plus rapides du silicium (6,8 mg/m<sup>2</sup>/j) et de l'aluminium (5,8 mg/m<sup>2</sup>/j), respectivement multipliés par un facteur trois et six, en comparaison avec les expériences stériles. Si la dissolution du verre MORB3 est, quant à elle, la moins impactée par une possible action bactérienne, les vitesses de dissolution du silicium et de l'aluminium sont néanmoins multipliées par 1,5. Le verre MORB2 est le seul verre pour lequel l'ajout de

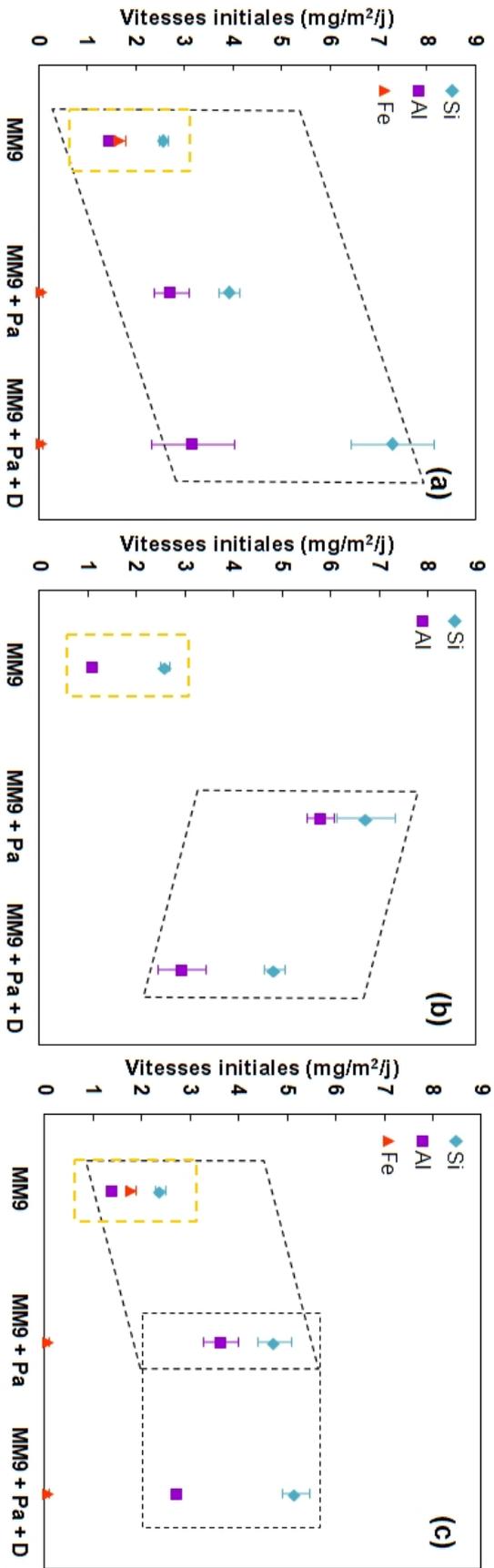


FIGURE 4.14: Vitesses de relâchement des éléments Si, Al et Fe des verres MORB3 (a), HAPLO (b) et MORB2 (c) dans le milieu stérile (MM9) et en présence de la souche *P. aeruginosa* avec (MM9 + Pa + D) ou sans (MM9 + Pa) membranes de dialyse. Les délimitations en pointillés noirs soulignent (a) l'accélération des vitesses de dissolution relatives au Si et à l'Al dans l'ordre milieu MM9 < milieu MM9 + bactéries < milieu MM9 + bactéries + dialyses pour le verre MORB3, (b) l'accélération des vitesses de dissolution relatives au Si et à l'Al dans l'ordre milieu MM9 < milieu MM9 + bactéries < milieu MM9 + bactéries + dialyses pour le verre HAPLO, (c) l'accélération des vitesses de dissolution relatives au Si et à l'Al dans l'ordre milieu MM9 < milieu MM9 + bactéries et les vitesses équivalentes dans les expériences biotiques avec ou sans membranes de dialyse. Les pointillés jaunes permettent de repérer les résultats des expériences stériles

membranes de dialyse n'influence pas, ou du moins ne se ressent pas sur les cinétiques de dissolution : quelles que soient les conditions expérimentales, les vitesses de relâchement du silicium et de l'aluminium sont, pour ce verre, multipliées par un facteur environ égal à deux par rapport aux expériences stériles.

Pour les verres MORB3 et HAPLO, et lorsque ces derniers sont isolés de la suspension bactérienne par ces membranes, les tendances s'inversent : les vitesses de relâchement du silicium et de l'aluminium sont désormais maximales pour le verre MORB3 et sont les plus faibles pour le verre HAPLO. Pour le verre MORB3, ces vitesses sont respectivement triplées et doublées pour le silicium et l'aluminium, par rapport aux expériences stériles. Dans le cas du verre HAPLO, l'influence de la présence de bactéries est néanmoins toujours notable, la vitesse de relâchement du silicium étant par exemple presque doublée par rapport aux expériences en conditions stériles.

## 4.2 Discussion

Au vu de ces résultats, il apparaît de façon évidente que la présence de *P. aeruginosa* a une incidence sur les cinétiques de dissolution des trois verres étudiés. Réciproquement, la composition du verre au contact de la souche semble jouer sur la croissance bactérienne, mais aussi sur son comportement en solution et notamment sur la production de sidérophores. Ceci met dès à présent en évidence la complexité des mécanismes mis en jeu dans les systèmes utilisant des organismes vivants, en comparaison aux expériences abiotiques qui ont pu être présentées dans le chapitre précédent et dont les résultats dépendaient pourtant déjà d'un jeu de paramètres conséquent, intrinsèques à la composition de la solution et aux propriétés structurales du verre.

Préciser, avant de discuter plus en détails des résultats obtenus, que toute comparaison en terme de cinétiques de dissolution, entre ces expériences en milieu de culture et les expériences discutées dans le chapitre précédent, doit être faite avec précautions. En effet, la présence de phosphates dans les milieux de cultures est connue, notamment à des pH proches de la neutralité, pour accélérer de manière notable la dissolution d'un certain nombre de phases minérales (Pokrovsky *et al.*, 2009a,b). On ne s'étonnera donc pas de remarquer des différences entre les cinétiques de dissolution des verres MORB et HAPLO en EUP et en milieu MM9 stérile. La détection de fer dans le milieu seul, étonnante au regard de la faible solubilité de cet élément et notamment des expériences en EUP dans lesquelles

le fer relâché précipitait immédiatement sous forme d'hydroxydes, s'explique par le rôle de ligand joué par ces phosphates, modifiant la spéciation du fer (Shirokova *et al.*, 2012).

#### 4.2.1 Impact de la composition du verre sur l'activité bactérienne

Dans cette partie, on se concentrera sur les résultats des expériences sans membranes de dialyse. Une section à part entière de ce chapitre sera dédiée à l'étude de l'effet de ces membranes sur les processus microbiens et sur les cinétiques de dissolution des trois verres.

##### 4.2.1.1 Rôle du magnésium

Le magnésium est, comme le fer, un élément essentiel à la croissance bactérienne (Hoo *et al.*, 2004 ; Tempest et Strange, 1966). Il est d'ailleurs initialement présent dans le milieu de culture MM9. En l'absence de verre, ou plus précisément en l'absence de fer dans ce milieu (expériences de contrôle/verre HAPLO), on observe tout de même une croissance bactérienne modérée. A la vue de ce résultat, deux cultures (sans verre/verre HAPLO) ont été additionnellement réalisées dans un milieu MM9 privé de magnésium. Les DO à 600 nm de ces cultures ont été mesurées chaque jour pendant une semaine et les courbes de croissance obtenues sont données dans la Figure 4.15.

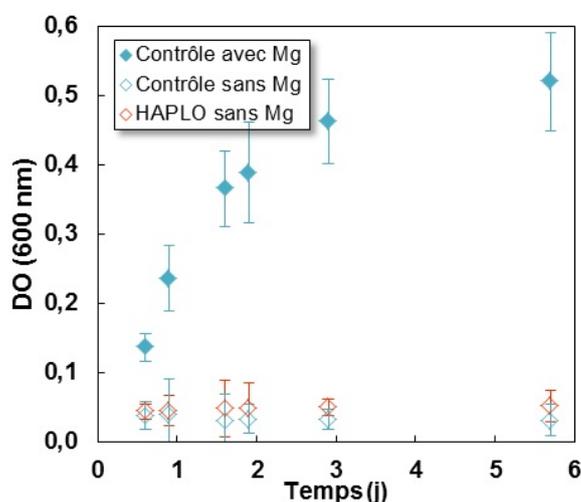


FIGURE 4.15: Courbes de croissance (DO 600 nm en fonction du temps) de *P. aeruginosa* dans le milieu MM9 (symboles pleins) et dans ce même milieu privé de Mg (symboles vides), en présence ou en l'absence du verre HAPLO.

Seule une faible concentration bactérienne est mesurée dans le milieu MM9 sans magnésium, entre huit heures et six jours d'expérience. On en conclut que le magnésium initialement présent dans le milieu MM9 est indispensable à la croissance bactérienne. On aurait pu s'attendre à ce que, en présence du verre HAPLO et en l'absence de magnésium dans le milieu initial, la souche tire profit du magnésium fourni par le verre pour croître, même

modérément. Toutefois, à la vue des résultats, le magnésium n'est visiblement pas libéré en quantités suffisantes dans l'environnement cellulaire pour combler les carences bactériennes.

#### 4.2.1.2 Rôle du fer

Dans un milieu carencé et en l'absence de verre (expérience de contrôle), *P. aeruginosa* est capable de croître jusqu'à une population de taille substantielle, comme montré par la Figure 4.1. Une croissance plus prononcée est observée lorsque la souche est au contact de chacun des trois verres. On constate d'ailleurs l'amplification de cette croissance microbienne en fonction de la composition du verre, dans cet ordre : contrôle < HAPLO < MORB2  $\approx$  MORB3. La présence dans le milieu des verres MORB2 et MORB3 (porteurs de fer), semble donc favoriser la croissance de *P. aeruginosa*. Ces résultats sont en accord avec la littérature et notamment avec une étude de Liermann *et al.* (2000) sur la dissolution du hornblende, de Maurice *et al.* (2001) sur la kaolinite, ou encore de Ferret *et al.* (2014) sur une smectite, en présence de souches hétérotrophes. Maurice *et al.* (2001) ont notamment réalisé une série d'expériences de bioaltération en présence de *Pseudomonas mendocina*, dans des milieux de culture contenant ou non du fer et ont aussi observé que la croissance microbienne était favorisée dans cet ordre : contrôles sans fer < kaolinite < Fe-EDTA. Dans cette étude, la kaolinite représente une source de nutriments (notamment de fer) pour la bactérie, nutriments certes moins accessibles que lorsque fournis par une solution de Fe-EDTA, mais potentiellement mobilisables par les cellules.

Dans les expériences de dissolution des verres MORB2 et MORB3, le fer est très peu détecté en solution (au cours des premières heures, puis seulement après cinq jours d'expérience) (Figures 4.11 et 4.12). Dans les expériences en conditions stériles, le fer est pourtant détecté en solution et qui plus est à des concentrations croissant avec le temps. Ces observations, couplées à celle d'une croissance bactérienne prononcée en présence de ces mêmes verres (Figure 4.1), suggèrent que le fer est d'abord relâché dans le système (par un processus abiotique ou autre) puis est assimilé par les cellules bactériennes, assimilation qui influe positivement sur leur croissance. Cette hypothèse est supportée par l'absence de fer dans le milieu de culture, mais aussi par l'enrichissement des cellules en fer lorsque cultivées en présence du verre MORB3 (Figure 4.10). Dans des environnements carencés en fer, le fer fourni par le verre basaltique peut donc faciliter la croissance bactérienne en étant mobilisé par les cellules, comme observé dans une étude d'Hersman *et al.* (1995) pour l'hématite. Toutefois, la détection du fer dans les milieux après 5,7 jours d'incubation (Figure 4.11 et 4.12) laisse à penser que les cellules, après avoir atteint leur phase stationnaire de croissance, ont pu devenir saturées en fer. Ainsi, alors que la dissolution du verre se poursuit et que le fer

est toujours progressivement relâché en solution, ce dernier n'est plus systématiquement mobilisé par les bactéries, d'où sa persistance dans le milieu en fin d'expérience. Un résultat similaire, mais concernant le relâchement de l'aluminium, a d'ailleurs été obtenu dans une étude de Hutchens *et al.* (2003), sur la dissolution de feldspaths en présence de souches hétérotrophes isolées depuis un sol. Alternativement, on pourrait aussi attribuer la persistance du fer dans le milieu à 5,7 jours d'expérience à la lyse des cellules en phase stationnaire de croissance, entraînant le relargage en solution du fer initialement mobilisé.

Les carences en fer du milieu seul ou au contact du verre HAPLO ont pour conséquence la production massive de pyoverdine, ainsi qu'une croissance bactérienne très modérée (Figures 4.1 et 4.6). La production de sidérophores *par unité cellulaire* est ainsi maximale dans ces conditions expérimentales. Au contraire, en présence de la plus importante source de Fe(III) dans le milieu (*i.e.* le verre MORB3), la pyoverdine n'est même pas détectée en solution. Les expériences de dissolution du verre MORB3 étant caractérisée par la croissance bactérienne la plus prononcée, la production de pyoverdine dans ces conditions est clairement la plus faible. Finalement, la production de sidérophore par cellule dans le milieu MM9 augmente donc dans cet ordre : MORB3 < MORB2 < HAPLO < contrôle, c'est-à-dire inversement à la croissance bactérienne. Ce résultat est en accord avec les travaux de Maurice *et al.* (2001) et Ams *et al.* (2002), témoignant d'une production de sidérophores par unité cellulaire amplifiée dans cet ordre : Fe-EDTA < kaolinite < contrôles sans fer. Nos données sont également en accord avec les conclusions de Meyer et Abdallah (1978); Neilands (1981); Hersman *et al.* (2000), attestant d'une production de sidérophores d'autant plus abondante que les carences en fer dans l'environnement cellulaire sont grandes.

L'absence de pyoverdine ou sa présence à de faibles concentrations dans le milieu au contact des verres MORB2 et MORB3 (Figure 4.6) impliquent que les bactéries ne sont, dans ces conditions expérimentales, pas carencées en fer et que cet élément leur est fourni par le verre. Qu'il soit initialement présent sous sa forme oxydée (verre MORB3) ou réduite (verre MORB2), le fer est donc finalement mobilisé par les cellules. Pour le verre MORB2, la présence, dès trois jours, de pyoverdine dans le milieu à une concentration visiblement constante, indique que jusqu'à trois jours (durée que l'on remarquera être égale à celle de la phase exponentielle de croissance), les bactéries ne parviennent pas à mobiliser suffisamment de fer depuis leur environnement. A partir de trois jours cependant, leur besoin en fer est visiblement satisfait et la production de pyoverdine est stoppée. Ceci est tout à fait en accord avec les processus de régulation de l'acquisition du fer par les bactéries, processus qu'il est intéressant de rappeler ici.

Les éléments métalliques impliqués dans les processus cellulaires le sont la plupart

du temps en tant que cofacteurs d'enzymes. Une analyse systématique de 1372 enzymes différents a montré que 47% d'entre elles contenaient un cation métallique (Andreini et al., 2008). Parmi tous ces métaux, le magnésium est de loin le plus systématique, suivi de près par le fer. Lorsque l'environnement cellulaire est appauvri en ces éléments, de nombreuses enzymes nécessaires aux métabolismes bactériens sont inactifs, compromettant la survie du microorganisme. Paradoxalement, la présence d'un excès de métal peut être toxique, générant un stress oxydatif et favorisant la production d'espèces oxygénées réactives, comme des radicaux libres ou des peroxydes, pouvant entraîner l'endommagement de l'ADN cellulaire (Valko et al., 2005). Afin de pallier ce stress, la concentration intracellulaire en chacun des métaux est finement régulée, pour instaurer au sein des cellules des conditions dites "d'homéostasie". On attribue ainsi généralement aux sidérophores un rôle clé dans l'homéostasie du fer. Les processus impliqués sont explicités en détails par la Figure 4.16.

On reviendra plus loin sur l'acquisition du fer structural du verre MORB2 par les bactéries, mais on peut dès à présent constater que dans nos systèmes, en présence d'un verre MORB oxydé ou réduit, la production de pyoverdine est nulle ou stoppée aussitôt que les bactéries entrent dans une phase stationnaire de croissance (Figure 4.1). Liermann *et al.* (2000) observent un comportement similaire dans leurs systèmes de dissolution d'hornblende en milieu MM9 et en présence de la souche *Streptomyces*, à savoir une production de sidérophores freinée avec le ralentissement de la croissance bactérienne.

#### 4.2.1.3 Rôle de l'aluminium

En raison des déficiences en fer dans les milieux de culture incubés en présence du verre HAPLO, la pyoverdine est abondamment produite tout au long de ces expériences (Figure 4.6). La présence d'autres métaux que le fer dans l'environnement cellulaire, et notamment d'aluminium, pourrait être un stimulateur de la production de sidérophores, comme suggéré par plusieurs auteurs (Huyer et Page, 1988; Hofte *et al.*, 1993; Hu et Boyer, 1996). Lorsque le fer est présent dans l'environnement cellulaire, les réactions de complexation s'opérant entre fer et sidérophores, suivie du transport du fer dans le cytoplasme cellulaire via une interaction entre pyoverdine et récepteurs protéiques sur la membrane externe de la cellule, est un signal qui va réguler la production de nouvelles molécules de sidérophores en solution (Figure 4.16). La production de sidérophores est ainsi stoppée aussitôt que les bactéries ne nécessitent plus de fer. Quand un milieu est appauvri en fer, voire n'en contient pas du tout, mais que d'autres éléments ont la possibilité d'être complexés par les sidérophores en question, la concentration en molécules de sidérophores "libres" dans le milieu va diminuer, en conséquence des réactions de complexation avec ces cations. Cette diminution de la concentration "apparente" en sidérophores dans l'environnement cellulaire va ainsi stimuler

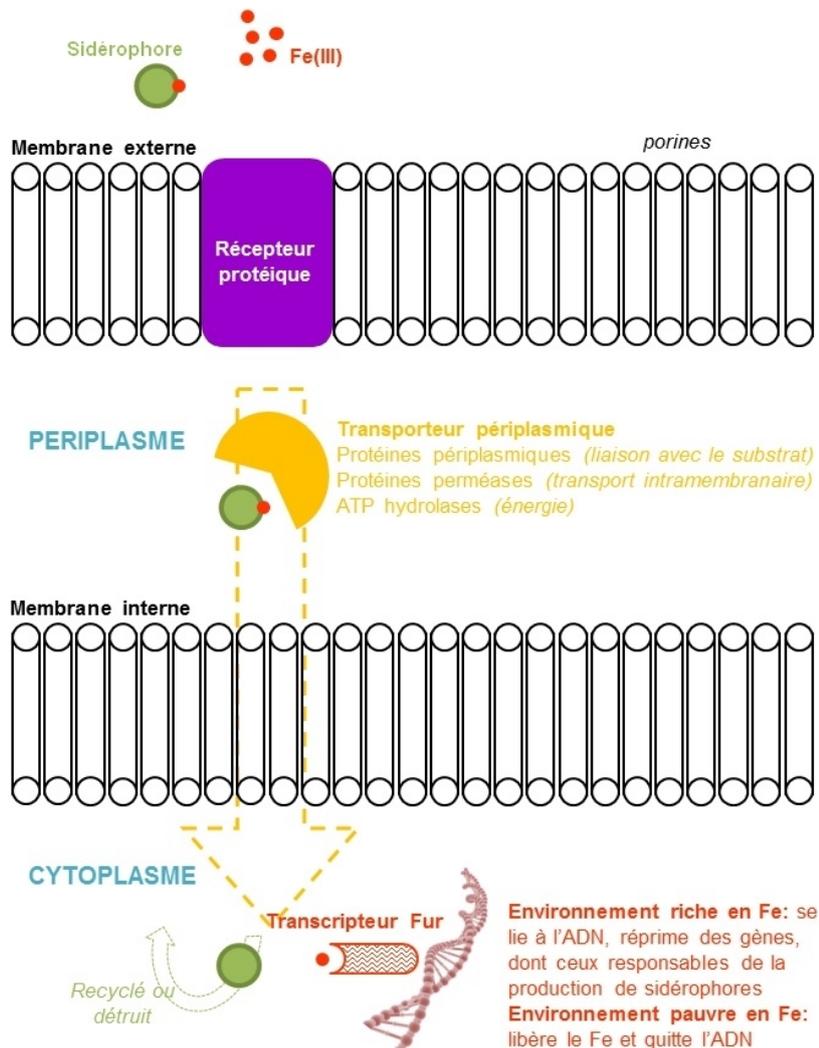


FIGURE 4.16: Mécanisme de transport du  $\text{Fe(III)}$  depuis le milieu de culture jusque dans le cytoplasme bactérien. Le fer, lié au sidérophore, traverse la membrane externe de la cellule par l'intermédiaire de protéines réceptrices, spécifiques des complexes  $\text{Fe}^{3+}$ -sidérophore. Une fois la membrane externe franchie, le complexe est reconnu et pris en charge par des protéines du périplasmique faisant office de transporteur (protéines faisant la liaison avec le substrat, protéines perméases membranaires assurant le passage à travers la membrane cytoplasmique et enfin ATP hydrolases fournissant de l'énergie au système). Une fois dans le cytoplasme, le sidérophore est soit détruit, soit recyclé pour la complexation de nouveaux cations métalliques en solution. Le fer, réduit lors de son relâchement, interagit alors avec une protéine régulatrice, le transcripteur Fur (*Ferric uptake regulator*). Fur est constitué de deux unités terminales. L'une d'entre elle lui permet de se lier au fer. Dans un environnement riche en fer, Fur acquiert alors une conformation qui augmente fortement son affinité pour sa cible d'ADN, à laquelle il se lie de par son autre extrémité. Cette liaison entraîne la répression d'une cinquantaine à une centaine de gènes, dont ceux impliqués dans l'acquisition du fer et la biosynthèse de sidérophores. Au contraire, pour des concentrations faibles en fer cytoplasmique, Fur libère le fer et ne réprime aucun gène (Arceneaux *et al.*, 1973; Visca *et al.*, 1988; Cornelis *et al.*, 2009; Daou, 2009).

la biosynthèse de nouvelles molécules de sidérophores (Schalk *et al.*, 2011). Aucun apport de fer dans l'environnement cellulaire entraîne donc finalement la production continue de pyoverdine.

La pyoverdine complexe aisément d'autres cations que  $Fe^{3+}$ , comme  $Ag^+$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cr^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Eu^{3+}$ ,  $Ga^{3+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Sn^{2+}$ ,  $Tb^{3+}$ ,  $Tl^+$ ,  $Zn^{2+}$  et  $Fe^{2+}$  (Albrecht-Gary *et al.*, 1994; Chen *et al.*, 1994; Braud *et al.*, 2009). Parmi ces cations, on s'intéressera à  $Al^{3+}$ , l'aluminium étant aussi un élément structural du verre. La production continue de pyoverdine dans les expériences d'altération du verre HAPLO (Figure 4.6) pourrait donc résulter de la formation de complexes  $Al^{3+}$ -pyoverdine. Si la présence de complexes  $Fe^{3+}$ -pyoverdine en solution se repère, sur les spectres d'absorption UV-Visible, par la modification de la forme du pic caractéristique de la pyoverdine et par le décalage de ce dernier vers de plus grandes longueurs d'onde (Figure 4.9), la présence de complexes  $Al^{3+}$ -pyoverdine ne se décèle pas si aisément. En effet, quel que soit le pH de la solution, ces complexes absorbent à 400 nm, ce qui correspond sensiblement à la position du pic de la pyoverdine libre à pH 6,5 (pH de nos expériences) (Meyer et Abdallah, 1978; Poppe *et al.*, 1987; Braud *et al.*, 2009). Toutefois, la formation des complexes  $Al^{3+}$ -pyoverdine s'accompagne d'une intensification de la fluorescence émise (celle-ci peut être jusqu'à vingt fois plus intense) par la solution (del Olmo *et al.*, 2003; Braud *et al.*, 2009). Ceci pourrait expliquer l'observation, à l'œil nu, d'une culture verte très fluorescente après plusieurs jours d'incubation en présence du verre HAPLO (Figure 4.4), plus fluorescente même que la culture de contrôle, alors que les spectres d'absorption UV-Visible témoignent d'une concentration en pyoverdine plus importante dans les contrôles sans verre (Figure 4.6).

La stimulation de la biosynthèse de pyoverdine en présence d'un élément pourtant non-impliqué dans les métabolismes bactériens, voire toxique pour les cellules (Hu et Boyer, 1996), pourrait suggérer l'implication de la pyoverdine dans les processus de tolérance des bactéries aux métaux toxiques. De par leur petite taille, les cations métalliques tels que  $Al^{3+}$  peuvent pénétrer le périplasma des cellules gram-négatives par diffusion, depuis l'environnement extracellulaire, à travers les porines (Li *et al.*, 1997) (Figure 4.16). La complexation en solution de ces métaux par les sidérophores limite ces mécanismes de diffusion, ces complexes étant trop imposants pour franchir les porines. Braud *et al.* (2010) montrent d'ailleurs que *P. Aeruginosa* est plus résistante à la toxicité de certains métaux que d'autres souches ne produisant pas de sidérophores. En présence de pyoverdine, l'assimilation de l'aluminium par la souche est notamment réduite de 80%.

Nos analyses témoignent toutefois d'un enrichissement notable en aluminium des cellules cultivées en présence du verre HAPLO par rapport aux expériences de contrôle/MORB

(Figure 4.10). A ce jour, on ne connaît pas d'utilisation de l'aluminium dans les métabolismes microbiens. L'incorporation plus importante de cet élément dans les cellules lors des expériences de dissolution du verre HAPLO pourrait résulter de l'assimilation des complexes  $Al^{3+}$ -pyoverdine lors de leur réception au niveau de la membrane cellulaire. La plupart des complexes formés par la pyoverdine semblent en effet interagir avec les récepteurs protéiques au niveau de la membrane externe des cellules de *P. aeruginosa* (Braud *et al.*, 2009). Les complexes  $Al^{3+}$ -pyoverdine peuvent notamment franchir cette membrane et s'accumuler dans le périplasma cellulaire (Greenwald *et al.*, 2008). Ceci expliquerait les teneurs en aluminium plus élevées des cellules cultivées au contact du verre HAPLO et peut fournir une explication supplémentaire quant à la production constante de pyoverdine tout au long de l'expérience, non ralentie en phase stationnaire. En effet, l'accumulation de ces complexes dans le périplasma empêche le recyclage des molécules de pyoverdine par les cellules bactériennes, incitant ces dernières à la production (Hu et Boyer, 1996).

**Ce qu'il faut retenir :**

Les résultats présentés dans cette première partie ont mis en évidence le rôle endossé par la pyoverdine dans la séquestration de certains éléments constitutifs majeurs des verres basaltiques : véritable navette missionnée par les bactéries pour leur ravitaillement en fer, ou potentiel piège à métaux relativement toxiques comme l'aluminium. Lorsque le fer et l'aluminium sont tous deux abondants dans l'environnement cellulaire (apportés sous forme de fer et d'aluminium structuraux par le verre), on observe que la biosynthèse de la pyoverdine n'est pas déclenchée pour la séquestration de l'aluminium toxique seule. Dans nos systèmes, la production de pyoverdine serait donc avant tout commandée par un besoin en fer. Les récepteurs de la membrane externe des cellules ne filtrant pas systématiquement les complexes autre que  $Fe^{3+}$ -pyoverdine, des complexes  $Al^{3+}$ -pyoverdine peuvent passer ces systèmes de reconnaissance et s'accumuler dans le périplasma cellulaire. Enfin, l'acquisition d'autres éléments métalliques comme le magnésium, est indispensable aux métabolismes. Toutefois le magnésium contenu dans la structure des verres ne suffit pas à la croissance bactérienne en tant que seule source de magnésium disponible dans l'environnement cellulaire.

### 4.2.2 Effet du redox sur la dissolution du verre

Le fer est normalement présent dans les verres basaltiques sous sa forme réduite (Bezou et Humler, 2005). Cet élément, relâché en solution lors des processus d'altération en conditions aqueuses, est généralement (plus ou moins rapidement) oxydé en présence d'oxygène dans le système (Hersman *et al.*, 1996). Le Fe(III) est caractérisé par sa très faible solubilité en général -  $10^{-7}$  à  $10^{-24}$  (Raymond *et al.*, 2003) - et notamment dans les environnements aérobie, à des pH proches de la neutralité. On l'a vu, cet élément est pourtant nécessaire aux métabolismes microbiens. Sa complexation par des molécules tels que les sidérophores permet d'augmenter sa solubilité dans l'environnement extracellulaire et le rend biodisponible.

Si, compte-tenu de l'affinité connue des bactéries pour le Fe(III), le verre MORB3 a été soumis aux expériences de bioaltération pour favoriser et étudier l'interaction avec les sidérophores, les expériences impliquant le verre MORB2 représentent toutefois mieux les systèmes naturels. On remarque que pour ces deux verres, les résultats en termes de cinétiques et de croissance bactérienne sont de prime abord assez proches : le milieu est caractérisé par l'absence de fer en solution (Figures 4.11 et 4.12) et par une croissance bactérienne manifeste (Figure 4.1), signant l'assimilation du fer structural par les bactéries. Cependant, ces expériences diffèrent de par la présence de sidérophore en solution : dans le cas du verre MORB2, on observe en effet une production (certes modérée) de pyoverdine (Figure 4.6). Ceci pourrait indiquer que les mécanismes mis en jeu ne sont en réalité pas identiques d'un verre à l'autre.

Dans les expériences de dissolution du verre MORB2, le fer n'est plus détecté en solution après quelques heures d'incubation. Pourtant, la pyoverdine est produite par *P. aeruginosa* dès les premiers instants de l'expérience. La biosynthèse de pyoverdine jusqu'à trois jours suggère que les bactéries sont dans un premier temps carencées en Fe(III), probablement parce que le fer est d'abord relâché en solution sous sa forme réduite. L'absence de fer dans le milieu après quelques heures suggère toutefois que l'élément est quasi-instantanément assimilé par les microorganismes en phase de croissance exponentielle. Deux scénarios peuvent être envisagés : (1) le Fe(II) est oxydé en Fe(III) par réaction avec le dioxygène présent dans le système aussitôt qu'il est relâché du verre et mobilisé par les cellules, (2) la pyoverdine se lie au fer dans son état réduit et oxyde le Fe(II) en Fe(III). Bien qu'un processus d'oxydation "naturel" du Fe(II) relâché en solution soit envisageable, la première hypothèse est discutable, étant donné que plusieurs auteurs ont observé la persistance de cations  $\text{Fe}^{2+}$  dans des systèmes similaires (semi-fermés, pH proche de la neutralité), après plusieurs jours d'expérience, pour des matériaux tels que l'hornblende (White et Yee, 1985)

ou la goethite (Brantley *et al.*, 2004). De plus, d'après Brantley *et al.* (2004), la présence de fer réduit en solution n'est pas surprenante en expériences biotiques, généralement caractérisées par un faible potentiel redox, la croissance bactérienne provoquant une chute de la quantité d'oxygène dans le système, en particulier au cours de la phase exponentielle de croissance. La seconde hypothèse nous a été inspirée par une étude de Xiao et Kisaalita (1998) sur les propriétés de complexation de la pyoverdine et en particulier de sa capacité à complexer le fer ferreux. Dans ce travail, les auteurs démontrent que non seulement la pyoverdine a une affinité non négligeable pour  $\text{Fe}^{2+}$ , mais qu'une réaction d'oxydoréduction peut s'opérer une fois le cation complexé, favorisant son transport à travers la membrane cellulaire et son assimilation en tant que  $\text{Fe}^{3+}$  par la cellule. Il n'existe cependant à notre connaissance pas d'autre étude attestant d'un tel mécanisme. Cependant, on trouve dans la littérature d'autres études en faveur d'une affinité de la pyoverdine pour le fer ferreux ( $K_f=10^{8,3}$ ) (Chen *et al.*, 1994).

On a vu que la pyoverdine libre était caractérisée par ses propriétés de fluorescence et qu'en sa présence, le milieu de culture prenait une teinte jaune-vert très vive. Néanmoins, cette fluorescence est modulée par les réactions de complexation dans laquelle ce sidérophore peut être engagé. Elle sera par exemple, on l'a vu, stimulée par des éléments métalliques tels que l'aluminium, ou éteinte lors de la complexation du Fe(III) (Schalk *et al.*, 1999). Dans les expériences de dissolution du verre MORB2, contrairement au verre MORB3, la couleur verte persiste jusqu'au moins six jours d'incubation, ce qui indique que la pyoverdine est présente dans le milieu dans un état libre ou bien lié à un cation autre que  $\text{Fe}^{3+}$  (probablement  $\text{Al}^{3+}$  ou  $\text{Fe}^{2+}$ ). L'extinction progressive de la fluorescence et l'évolution de la couleur de la solution vers des teintes brunes (six à vingt jours) pourrait attester de la formation de complexes entre l'excès de pyoverdine demeurant dans le système et les cations  $\text{Fe}^{3+}$  présent en solution et résultant de l'oxydation progressive, en solution, des cations  $\text{Fe}^{2+}$  relâchés depuis le verre MORB2. L'extinction de fluorescence se traduit sur les spectres d'absorption par une évolution de la forme et de la position du pic caractéristique de la pyoverdine (Figure 4.9).

**Ce qu'il faut retenir :**

Dans les expériences de dissolution du verre MORB2, l'oxydation du Fe(II) relâché en solution et son devenir en tant que Fe(III) dépendent de deux processus distincts, intervenant à des stades différents de l'expérience : (1) le fer utile aux métabolismes de la souche est tout d'abord oxydé de manière abiotique/après complexation avec la pyoverdine, suite à quoi il est immédiatement assimilée par les bactéries, alors en phase exponentielle de croissance, (2) une fois les bactéries dans leur phase stationnaire, le fer relâché réagit progressivement avec le dioxygène présent en solution puis est complexé par les molécules de pyoverdine libres subsistant dans le milieu, provoquant l'extinction de la fluorescence de la solution.

### 4.2.3 Impact des bactéries sur les cinétiques de dissolution

Dans toutes les expériences en présence de *P. aeruginosa*, les vitesses de dissolution sont accélérées par rapport aux expériences en milieu stérile. Ceci atteste d'une influence bactérienne sur la dissolution du verre. Cependant, les différences constatées d'une expérience à une autre (production de sidérophores, croissance bactérienne), mettent en évidence plusieurs mécanismes possibles d'accélération des réactions de dissolution. La littérature atteste notamment de 3 types d'interactions : certains éléments du verre peuvent être en effet (1) adsorbés à la surface des cellules ou incorporés à l'intérieur de celles-ci, (2) complexés en solution par des métabolites bactériens ou enfin (3) retenus dans les biofilms. Ces interactions sont autant de possibilités d'influer sur le relâchement des éléments du verre en solution et donc sur les cinétiques de dissolution.

#### 4.2.3.1 Impact des sidérophores

La présence de pyoverdine en quantités notables dans les expériences de dissolution du verre HAPLO coïncide avec l'accélération des relâchements du silicium et de l'aluminium en solution, par rapport aux expériences stériles (Figure 4.14). Cette accélération est bien plus modérée pour les verres MORB, en présence desquels la pyoverdine n'est pas ou seulement peu produite dans le milieu. Ces résultats ne sont pas sans rappeler ceux du chapitre précédent, sur l'impact des réactions de formation des complexes  $Fe^{3+}$ -sidérophore et  $Al^{3+}$ -sidérophore sur les mécanismes de dissolution des verres basaltiques. Dans le cas du verre HAPLO, la complexation et le relâchement de l'aluminium se sont avérés être res-

ponsables, en l'absence de fer dans le verre, de la fragilisation de la structure silicatée et de l'accélération de la dissolution. Le sidérophore étudié était alors la desferrioxamine-B (DFA), connue pour son affinité prépondérante pour le fer, certes, mais aussi pour sa capacité à former des complexes également très stables avec l'aluminium (Tableau 4.5). Si on ne connaît pas la valeur de la constante de complexation entre pyoverdine et  $Al^{3+}$ , les modulations de la fluorescence émise par la solution au contact du verre HAPLO attestent assurément de la présence de complexes  $Al^{3+}$ -*pyoverdine* dans le système. De plus, la littérature témoigne de très fortes similarités entre DFA et pyoverdine, qui forment avec les mêmes cations divalents et trivalents des complexes de stabilités équivalentes (Tableau 4.5).

	DFA	Pyoverdine
$Al^{3+}$	$10^{24,1}$	-
$Fe^{3+}$	$10^{30,6}$	$10^{32,0}$
$Fe^{2+}$	$10^{9,0}$	$10^{8,3}$
$Mn^{2+}$	$10^{17,4}$	$10^{17,3}$

Tableau 4.5: Comparaison entre les constantes de complexation respectives ( $K_f$ ) de la DFA et de la pyoverdine avec quelques éléments métalliques (Albrecht-Gary *et al.*, 1994; Chen *et al.*, 1994; Hernlem *et al.*, 1996; Szabo et Karkas, 2011).

Similarités en terme de nature peptidique, de structure chimique et de taille, la DFA et la pyoverdine ne diffèrent finalement que par leurs charges respectives lorsqu'elles sont totalement protonées (une charge positive pour la DFA contre deux pour la pyoverdine) (Albrecht-Gary *et al.*, 1994). A la vue des profils de dissolution des trois verres (Figure 4.11, 4.12, 4.13), mais aussi après comparaison des cinétiques de dissolution caractérisant ces expériences avec celles obtenues en présence de DFA (chapitre précédent), on peut donc émettre l'hypothèse selon laquelle la dissolution du verre HAPLO, au contact de *P. aeruginosa*, est dominée par un mécanisme de complexation de l'aluminium structural du verre. Shirokova *et al.* (2012) constatent également que le principal contrôle "bactérien" exercé sur la dissolution des aluminosilicates en présence de *P. reactans* est la complexations des ligands organiques avec l'aluminium dissout ou structural. On constate d'ailleurs que cet effet accélérateur est plus efficace qu'en conditions abiotiques (*i.e.* doublé). Ceci n'est pas étonnant, étant donné que la solution est sans cesse renouvelée en pyoverdine par la souche, en comparaison aux expériences stériles en présence de DFA, au cours desquelles les réactions de complexation consomment progressivement les sidérophores dans la solution.

Caractérisées par des croissances bactériennes équivalentes, les expériences de dissolution (sans membranes de dialyse, rappelons-le) des verres MORB2/MORB3 ne diffèrent à première vue l'une de l'autre que par la présence, même faible, de pyoverdine au contact du verre MORB2. La présence de ce sidérophore pourrait expliquer le faible écart, en terme

de vitesses de dissolution, entre ces deux verres (Figure 4.14). Malgré tout, par comparaison avec les résultats obtenus pour le verre HAPLO, l'interaction fer/sidérophore ne semble pas constituer le processus dominant la réaction de dissolution des verres porteurs de Fe(II).

#### 4.2.3.2 Alternatives à l'action des sidérophores

Concentrons-nous dans un premier temps sur le verre MORB3, en présence duquel la pyoverdine n'est pas détectée dans la solution. Les vitesses de relâchements du silicium et de l'aluminium apparaissent néanmoins accélérées (multipliées par 1,5), par rapport aux expériences réalisées en conditions stériles. Ceci met en évidence l'existence d'un/de plusieurs mécanisme(s) faisant directement ou indirectement intervenir *P. aeruginosa* et influant favorablement sur la réaction de dissolution de ce verre. Expliciter ce mécanisme est difficile, tant les pistes sont nombreuses et les impacts physiques/chimiques/microbiens sont à réfléchir. On peut toutefois faire une première distinction entre (1) de possibles réactions mettant en jeu les éléments structuraux du verre et certains des nombreux métabolites produits par les bactéries en solution et (2) un impact bactérien direct, à la surface du verre. Les résultats des expériences de dissolution des verres confinés dans des membranes de dialyse vont permettre, pour chaque verre, d'évaluer ces contributions bactériennes *directes* ou *indirectes*.

#### *Questions relatives aux mécanismes de dissolution*

Les principales interrogations soulevées lors de la discussion des résultats précédents et dont on espère trouver les réponses grâce aux résultats des expériences en confinement, sont les suivantes :

- 1/ Lorsqu'isolées du verre, les bactéries "devenent-elles" la présence de ce dernier dans leur environnement cellulaire et réagissent-elles différemment en fonction de la composition impliquée ?
- 2/ L'action de la pyoverdine, si elle semble dominer les mécanismes de dissolution du verre **HAPLO**, est-elle le seul facteur d'accélération de cette dissolution ?
- 3/ Lors des expériences de dissolution du verre **MORB3**, les bactéries se satisfont-elles du fer abiotiquement relâché en solution et si oui, l'assimilation systématique du fer présent dans le milieu a-t-elle un impact sur les cinétiques ? Sinon, assiste-t-on aussi à une dissolution préférentielle du fer, résultant d'une action directe des bactéries à la surface du verre ?

4/ Dans le cas du verre **MORB2**, la production de pyoverdine en solution est-elle responsable de l'accélération des vitesses de relâchement des éléments constitutifs du verre ? De manière un peu plus générale, pour la dissolution des verres MORB, doit-on tenir compte d'un impact direct des bactéries (attachement direct à la surface du verre ou effet des biofilms) ?

*Les effets de la séparation verre/bactéries*

Rappelons les résultats principaux s'étant dégagés de ces expériences :

1/ La population bactérienne en fin d'expérience avec dialyse est sensiblement la même que dans les expériences sans confinement. Toutefois, la croissance bactérienne est légèrement ralentie entre zéro et cinq jours par rapport aux expériences sans dialyse, quelle que soit la composition du verre (Figure 4.17).

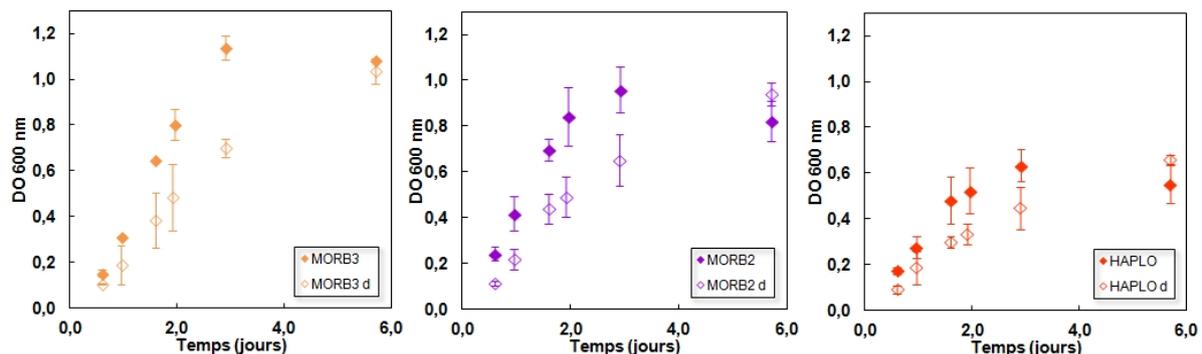


FIGURE 4.17: Influence de l'utilisation de membranes de dialyses (d) dans les tests de dissolution sur la croissance bactérienne, pour les verres MORB3, MORB2 et HAPLO.

Ce retard suggère que le contact direct entre les bactéries et les verres favorise la croissance bactérienne. On observe notamment cet effet pour le verre HAPLO, ce qui nous laisse présumer que celui-ci représente bien une source en nutriments, même limitée au regard de leur croissance très modérée, pour les cellules bactériennes.

2/ L'atteinte retardée de la phase stationnaire de croissance lorsque la bactérie est isolée du verre HAPLO est d'ailleurs corrélée à une production plus importante de pyoverdine (traduisant un stress nutritionnel plus important), par rapport aux expériences sans dialyse (Figures 4.6 et 4.8). Ce résultat confirme que l'interaction directe verre HAPLO/bactéries favorise, même faiblement, le développement bactérien. Les tests de croissance dans le milieu MM9 sans magnésium ayant montré que le magnésium structural d'un échantillon HAPLO ne

suffisait pas à favoriser la croissance de la souche (Figure 4.15), une interrogation subsiste : quel(s) élément(s) du verre HAPLO *P. aeruginosa* met-elle à profit lorsqu'elle est au contact direct du verre ? (fer sous forme d'impuretés dans le verre, ou autre ?)

3/ Une production de pyoverdine est observée dès les premiers instants de l'expérience, quelles que soient les conditions expérimentales. Il semblerait donc qu'en l'absence d'un contact direct verre-bactéries, les cellules synthétisent systématiquement certains métabolites, dont les sidérophores, dont la faible masse moléculaire permet l'exploration de l'environnement cellulaire, incluant le contenu des sacs de dialyse auquel la bactérie n'a pas accès. La rencontre avec une source de fer (*i.e.* nos verres MORB) et le rapatriement de cet élément via des réactions de complexation à la surface des verres et la diffusion des complexes formés à travers la solution jusqu'à l'interaction avec un récepteur protéique cellulaire, va permettre la régulation de la biosynthèse de sidérophores, en fonction des besoins de la souche. On retrouve donc la pyoverdine à des concentrations augmentant avec le temps en présence du verre HAPLO, ou se stabilisant rapidement pour les verres MORB2 et MORB3. Ce résultat rappelle les travaux de Oulkadi *et al.* (2014a,b), qui ont réalisé des expériences de dissolution de plusieurs phyllosilicates, présents sous la forme de particules colloïdales piégées dans un gel de silice poreux interdisant l'accès aux phyllosilicates aux bactéries, mais autorisant le passage des sidérophores ou acides organiques. Ces auteurs ont ainsi montré que la diffusion des acides organiques et des sidérophores dans ce gel, hors adhésion ou formation d'un biofilm en surface des minéraux, était suffisante pour altérer efficacement les particules minérales.

La Figure 4.18 présente les concentrations en pyoverdine après six jours d'incubation, calculées à partir des valeurs de DO à 405 nm des milieux de cultures, d'après la relation (Ferret, 2012) :

$$[PVD]_{(\mu\text{mol/L})} = \frac{DO_{405\text{nm}}}{19000} \times 10^6$$

A trois jours d'incubation, la pyoverdine en solution est visiblement sous sa forme libre, puisqu'on observe le pic caractéristique à deux épaulements (395 et 410 nm) et une absorbance maximale de 0,3. Cette absorbance augmente doucement, mais constamment (0,4 à quinze jours d'incubation). L'évolution de la forme du pic, cependant, traduit un passage de la pyoverdine libre à la pyoverdine liée au Fe(III) (Figures 4.9). Les spectres théoriques de la pyoverdine libre ou

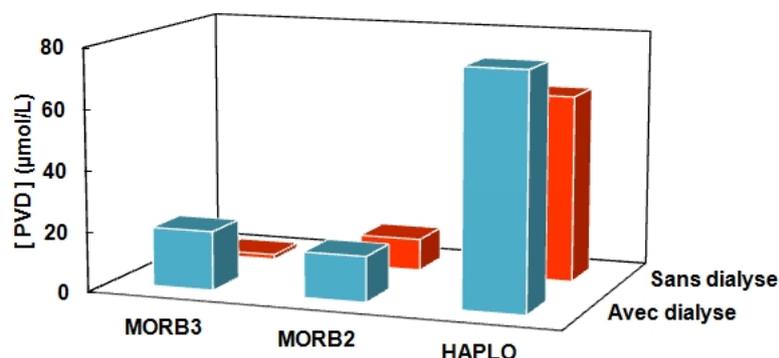


FIGURE 4.18: Concentrations en pyoverdine dans les milieux de cultures en présence des verres MORB3, MORB2 et HAPLO, isolées ou non de la suspension bactérienne par des membranes de dialyse.

liée au Fe(III) sont donnés sur la Figure 4.19 à titre de comparaison, à un facteur de proportionnalité près (dans ces spectres le coefficient d'extinction molaire, plutôt que l'absorbance, est représenté en fonction de la longueur d'onde).

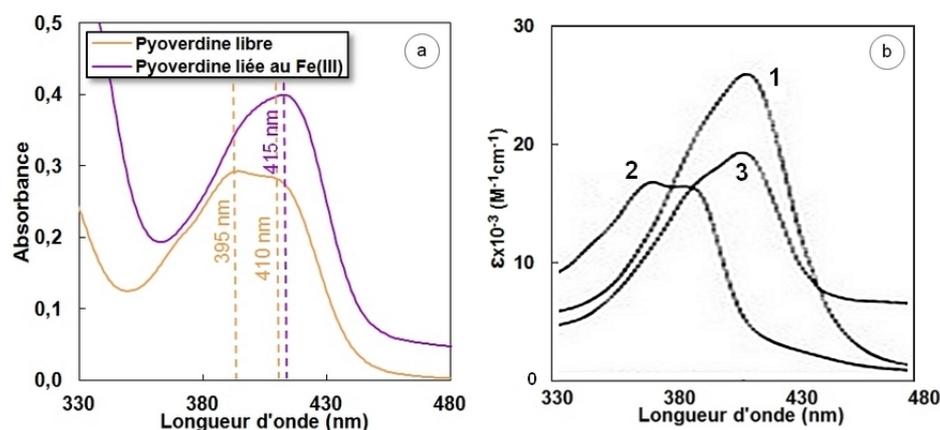


FIGURE 4.19: (a) Spectres d'absorption UV-Visible de la pyoverdine libre (en orange) et liée (en violet), respectivement obtenus à partir des cultures de contrôle et en présence d'un verre MORB3 (confiné par des membranes de dialyse) et (b) comparaison avec les spectres théoriques d'une pyoverdine liée au Fe(III) (1), libre et protonée (2), libre et déprotonée (3) (d'après Albrecht-Gary *et al.* (1994)).

Si ces spectres ont été enregistrés dans des conditions différentes (composition du milieu de culture, pH, concentrations en pyoverdine...), on retrouve bien l'allure caractéristique des pics respectifs des pyoverdines libre et liée, à savoir la présence de deux maxima pour le pic d'absorption de la pyoverdine seule, tendant vers un pic unique et décalé vers les plus grandes longueurs d'ondes avec la formation des complexes  $Fe^{3+}$ -pyoverdine. On note bien que la valeur du pH de la solution de pyoverdine influe sur la position du pic de la pyoverdine libre, tandis que les propriétés d'absorption de la pyoverdine liée au Fe(III) sont visi-

blement peu dépendantes du pH.

4/ Les vitesses de dissolution du verre MORB3 confiné sont clairement accélérées par rapport aux expériences "standards" (sans dialyse). Cette accélération coïncide avec la présence de pyoverdine en solution. Hutchens *et al.* (2006) montrent aussi, dans une étude de la dissolution de l'apatite en présence de la souche *Bacillus megaterium*, que cette dissolution est plus lente lorsque l'apatite est au contact direct des bactéries. La corrélation entre concentrations en pyoverdine et accélération des cinétiques de dissolution des verres HAPLO et MORB3 vient confirmer l'ascendance des mécanismes de complexation par les sidérophores sur les processus de dissolution des verres basaltiques. Les résultats des expériences à membranes de dialyse, qui s'affranchissent en partie d'une influence bactérienne (impact direct, rôle du biofilm), sont finalement assez proches des résultats présentés dans le chapitre précédent pour la DFA. Pour une certaine concentration en pyoverdine dans le milieu (on observe un effet marqué dès  $20 \mu\text{M}$ ), le moteur de la dissolution d'un verre riche en Fe(III) est la complexation du fer structural et son relâchement préférentiel en solution. Pour un verre ne contenant pas de fer, la complexation de l'aluminium joue alternativement un rôle prépondérant dans la réaction de dissolution du réseau silicaté. Pour des concentrations bien plus élevées en pyoverdine en présence du verre HAPLO (jusqu'à trois fois plus importantes qu'en présence du verre MORB3) et malgré un renouvellement incessant de ces molécules dans la solution par les bactéries, l'effet de la complexation du cation  $\text{Al}^{3+}$  sur les cinétiques de dissolution du verre HAPLO est moins marqué (Figure 4.20).

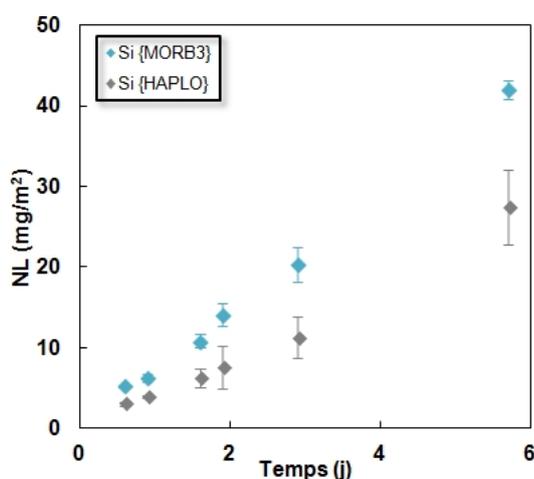


FIGURE 4.20: Comparaison des profils de dissolution du Si des verres MORB3 et HAPLO confinés dans les membranes de dialyse. Les barres d'erreur représentent les erreurs relatives entre deux points de duplicats.

On constate aussi que pour le verre HAPLO, si les concentrations en pyoverdine mesurées sont plus importantes en expériences confinées (autour de 0,08 mM à six jours), les vitesses de dissolution les plus élevées sont observées sans membranes de dialyse. On peut envisager d'attribuer ce résultat à l'existence d'une concentration seuil en pyoverdine, à partir de laquelle l'effet du sidérophore sur la dissolution du verre n'augmente plus. L'existence de concentrations-seuils a aussi été constatée dans le chapitre précédent, pour les expériences impliquant l'acide oxalique (AO) et la DFA.

La formation d'un biofilm ou l'attachement des bactéries à la surface du verre ne semble ni favorablement, ni défavorablement perturber la dissolution globale du verre MORB2. En effet, les résultats obtenus (cinétiques, production de sidérophore) sont très similaires d'une expérience sans membrane à une expérience avec membrane. Dans une étude sur la dissolution de l'olivine en présence de la souche *P. reactans*, Shirokova *et al.* (2012) observent aussi des vitesses de dissolution équivalentes (magnésium et silicium) en présence et en l'absence de membranes de dialyse et en déduisent un faible impact du biofilm. On ne généralisera pourtant pas ce résultat à l'ensemble des trois verres. En effet, les interactions bactéries/matériaux sont décrites dans la littérature comme gouvernées par le potentiel nutritionnel des matériaux en question (Bennett *et al.*, 2001; Rogers et Bennett, 2004). Les deux principaux éléments constitutifs du verre MORB2 pouvant être mobilisés en tant que nutriments par les bactéries sont le magnésium et le fer, soit deux cations modificateurs du réseau, pouvant être relargués préférentiellement car faiblement impliqués dans la structure du verre (liaisons à caractère ionique et non pas covalentes). On peut donc présumer que le relâchement favorisé de ces éléments dans les expériences sans dialyse, en conséquence d'un contact direct, n'aurait pas un fort impact sur la dissolution globale du verre. L'observation de vitesses du silicium et de l'aluminium équivalentes, dans les expériences avec et sans dialyse, n'est donc *a priori* pas surprenante.

Pour les verres HAPLO et MORB3, la séparation de l'échantillon de la suspension bactérienne accroît la production de sidérophores. Ceci traduit un besoin en nutriments plus prononcé dans ces conditions et suggère, lorsque le verre n'est pas isolé de la culture bactérienne, la mise à profit d'une interaction bactéries/verre pour la mobilisation de ces nutriments. Pour le verre MORB3, l'accélération modérée mais significative des processus de dissolution en conditions "standards" (sans dialyse) relativement aux expériences stériles (Figure 4.14) pourrait donc s'expliquer par une action directe des bactéries à la surface du verre. Pour le verre HAPLO, il est beaucoup plus difficile de quantifier l'action directe des bactéries, puisque des sidérophores sont systématiquement et abondamment produits dans les deux types d'expériences de dissolution et qu'un effet seuil de la concentration en sidé-

rophores est de plus visiblement à prendre en compte dans l'interprétation des cinétiques de dissolution.

Les surfaces des verres HAPLO, MORB2 et MORB3 au contact des cultures de *P. aeruginosa* ont finalement été observées par MEB. Pour cela, les verres ont été récupérés en fin d'expérience (vingt jours) et, dans un premier temps, abondamment rincés à l'EUP et séchés à l'ambiante. Une sélection des images enregistrées est présentée sur la Figure 4.21.

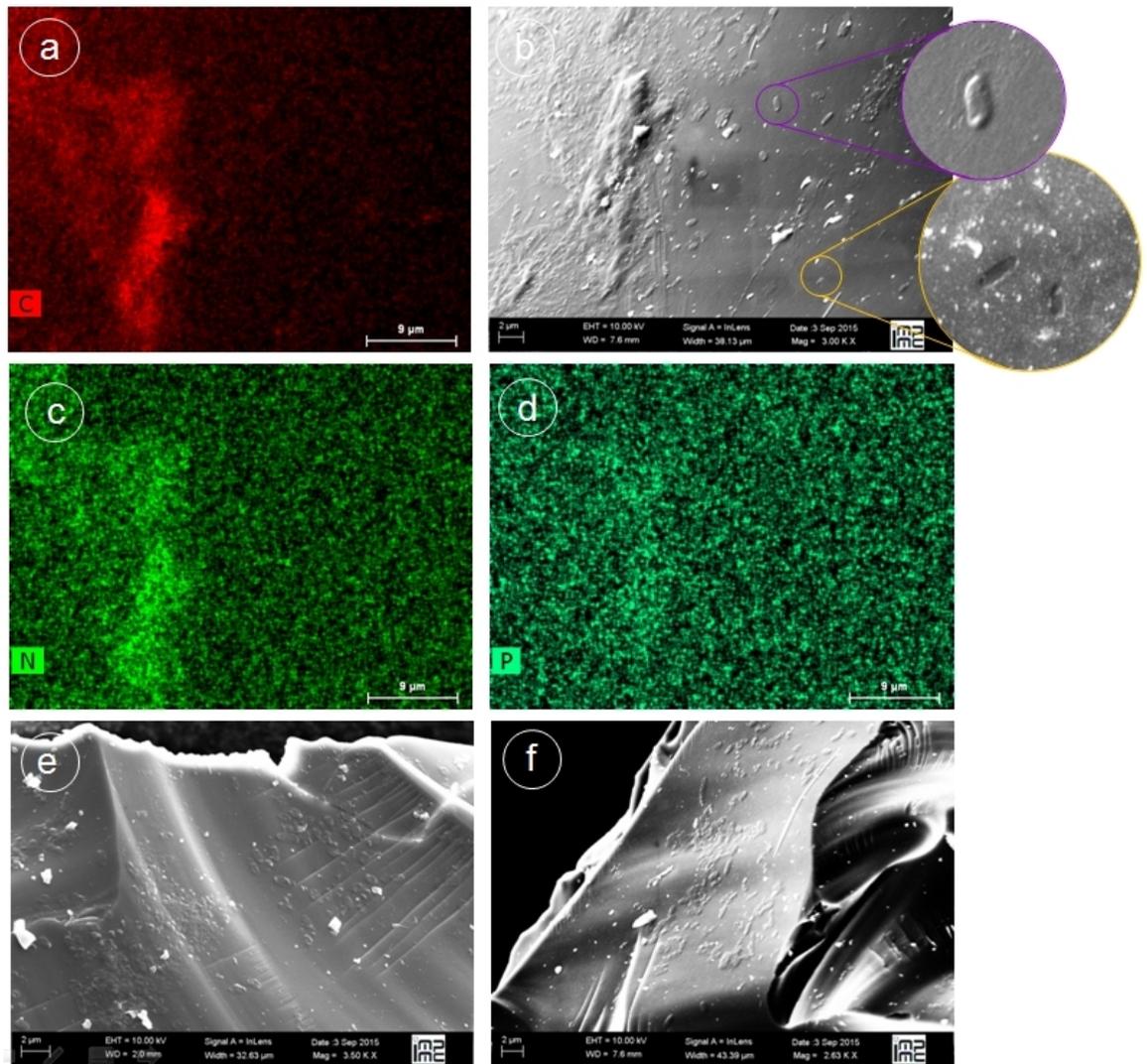


FIGURE 4.21: Images MEB (mode *in-lens* de détection d'électrons secondaires) de la surface d'un verre MORB3 (b), HAPLO (e) et MORB2 (f), placés pendant quinze jours au contact d'une culture de *P. aeruginosa* et cartographies du C (a), de l'N (c) et du P (d) d'une zone à la surface du verre MORB3 (représentée sur la vignette b) réalisées en EDS.

On observe, en surface des verres MORB3, HAPLO et MORB2, de nombreuses cellules bactériennes ayant résisté au rinçage, ce qui témoigne d'un attachement important des bactéries. On décèle d'ailleurs, par endroits, des empreintes dont les dimensions sont

celles des bactéries étudiées (encadré jaune). Pour chaque verre, l'observation de plusieurs grains nous permet de constater, de manière reproductible, que cet attachement croit dans l'ordre MORB2 < HAPLO < MORB3. De plus, pour le verre MORB3, on décèle aisément la présence d'un biofilm (notamment sur la Figure 4.21.e), ayant probablement subi quelques dommages lors de l'étape de séchage, mais facilement repérable lors des analyses semi-quantitatives en EDS : on mesure en effet, dans les zones où l'on soupçonne la présence de ce biofilm, d'importantes concentrations en carbone (Figure 4.21.a) témoignant de la présence de matière organique (*exopolymères*), mais aussi en azote (Figure 4.21.c) et en phosphore (Figure 4.21.d), caractéristiques d'une activité microbienne. La présence d'exopolymères est moins évidente pour les verres HAPLO et MORB2. L'étape de séchage des grains de verre immergés dans les cultures de *P. aeruginosa* ne préservant visiblement pas la structure des biofilms et la précipitation des sels issus du milieu (ayant séché à l'air libre) ne facilitant pas l'observation de la surface, quelques milligrammes de verres MORB3 et HAPLO, après 20 jours d'altération, ont été récupérés, lavés puis déshydratés en appliquant la méthode de *contournement du point critique* (Chapitre 2, §2.2.2.2). Les surfaces altérées de quelques grains ont alors été observées par MEB et quelques planches d'images sont données dans les Figures 4.22, 4.23 et 4.24 pour le verre MORB3 et dans la Figure 4.25 pour le verre HAPLO.

Ces images nous permettent de constater que les surfaces des verres, qu'ils contiennent ou non du fer, subissent un attachement globalement modéré des cellules bactériennes. Dans le cas du verre MORB3, les bactéries semblent coloniser les grains de verres en constituant progressivement un réseau d'exopolymères qui (1) les sédentarise à la surface du verre (Figures 4.22.b et 4.23.a), (2) les connecte entre elles (fonctionnement en *consortium bactérien*) (Figure 4.23.c). On devine également l'attachement des cellules à la surface du verre MORB3 *via* la présence d'empreintes de la taille et de la forme des microorganismes (Figure 4.23.b), déjà mises en évidence sur la Figure 4.21. Ces empreintes traduisent la dissolution locale du verre à l'endroit où s'opère l'interaction directe verre/bactérie. La Figure 4.22.a ne permet pas d'affirmer clairement si les bactéries observées sont partiellement enfoncées à la surface du verre ou s'il s'agit de résidus de cellules lysées subsistant en surface. Les cellules à l'état sessile, mais aussi en suspension dans les cultures au contact des verres et récupérées par filtration sur membranes en polycarbonates, ont fait l'objet d'observations en mode de détection d'électrons rétrodiffusés. Couplées à des analyses chimiques en EDS (résultats non-montrés), ces observations mettent en évidence la présence *intracellulaire* de polyphosphates (Figures 4.24.b et 4.24.c), des polymères pouvant notamment être accumulés en réponse à des stress nutritifs ou environnementaux. Dans le cas du verre HAPLO, si l'on constate également sur chaque grain étudié la présence, parfois dense, de bactéries (Figure 4.25), la constitution d'un biofilm semble, contrairement au verre MORB3, à peine amorcée. On décèle néanmoins des empreintes de la taille des microorganismes, témoignant

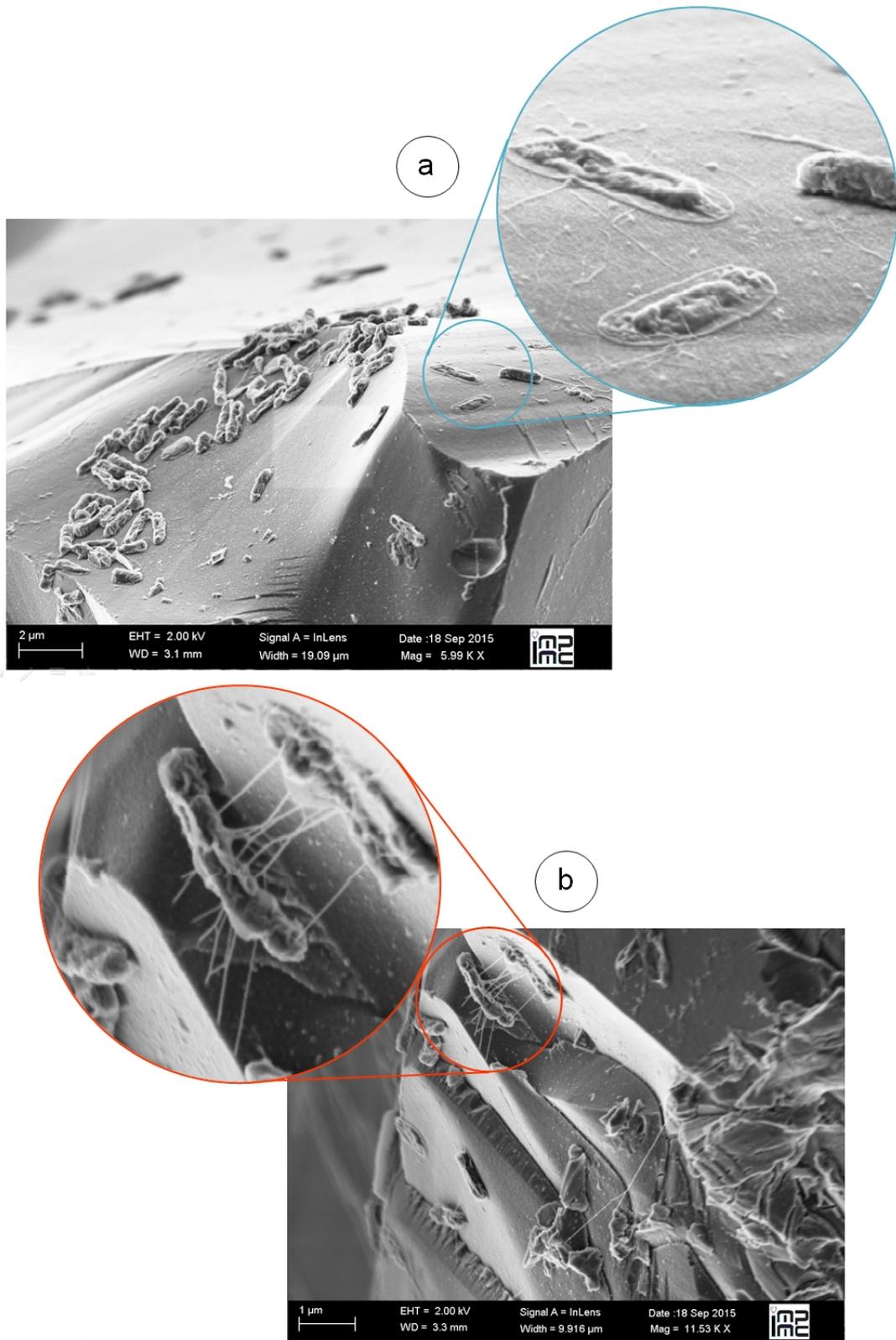


FIGURE 4.22: Images MEB en mode *in-lens* de détection d'électrons secondaires de la surface d'un verre MORB3 altéré sous forme de poudre une vingtaine de jours dans un milieu MM9 en présence de la souche *P. aeruginosa*. Ces images mettent en évidence : en (a) des cellules lysés subsistant à ou creusant la surface du verre, en (b) une cellule fixée à la surface du verre et produisant des exopolymères.

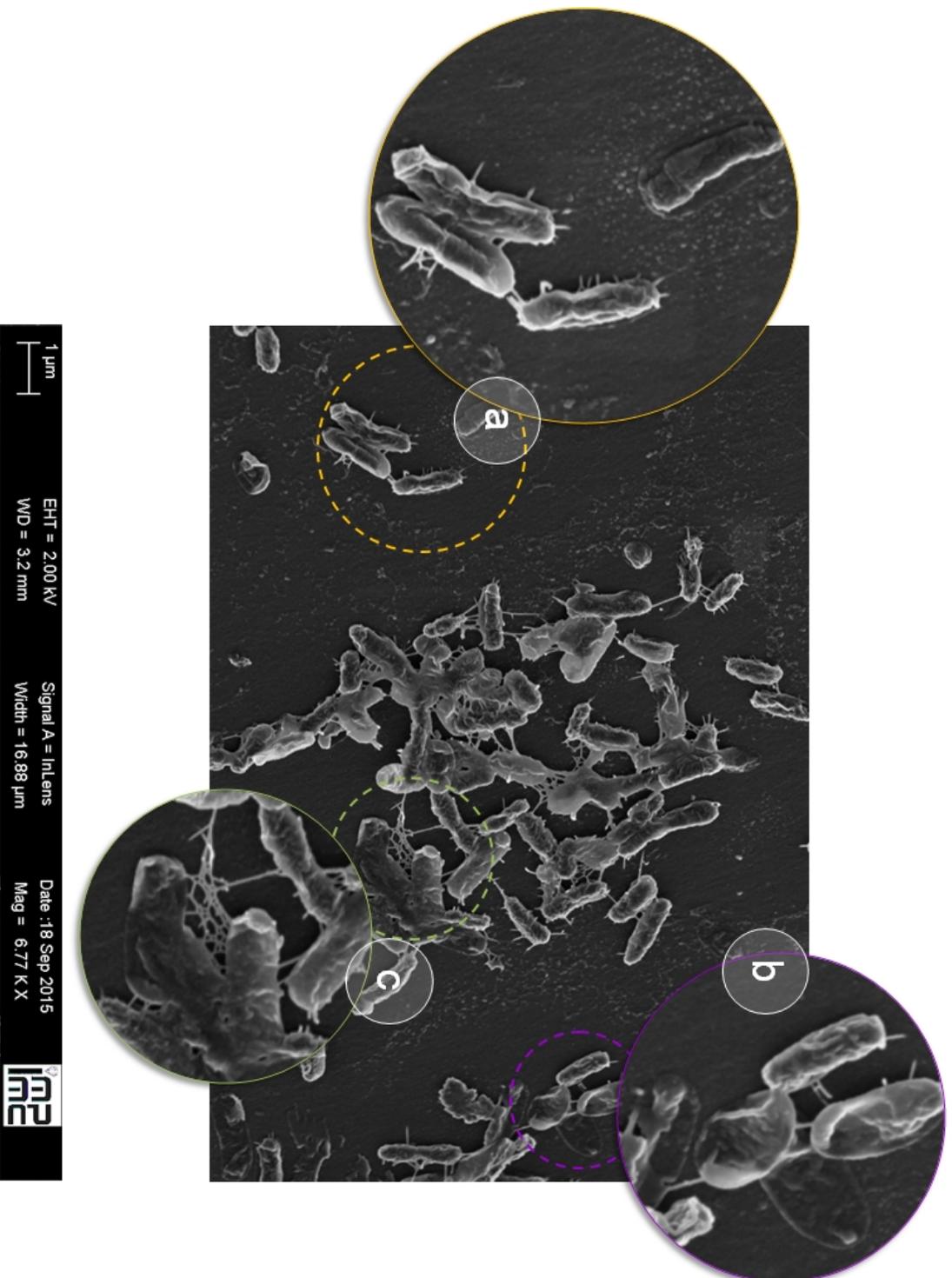


FIGURE 4.23: Image MEB en mode *in-lens* de détection d'électrons secondaires de la surface d'un verre MORB3 colonisée par la souche *P. aeruginosa* et formant progressivement un biofilm. Cette image met en évidence : en (a) l'attachement des bactéries à la surface *via* la production d'exopolymères, en (b) des empreintes en surface laissées par des bactéries mortes, en (c) la connexion des bactéries sédentaires en phase de formation du biofilm.

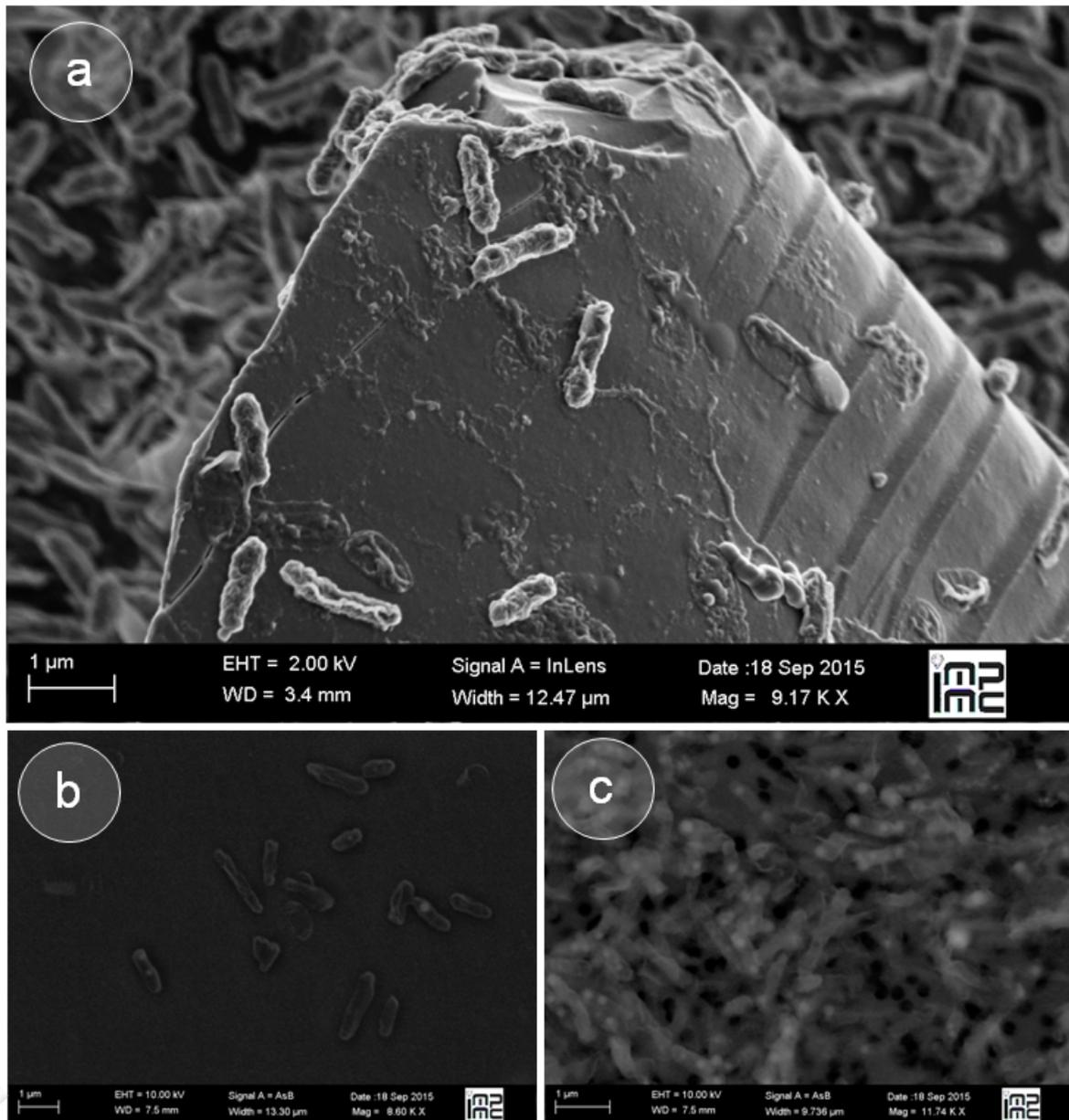


FIGURE 4.24: (a) Images MEB en mode de détection d'électrons secondaires de la surface d'un grain de verre MORB3 altéré une vingtaine de jours dans un milieu MM9 en présence de la souche *P. aeruginosa* ; images MEB en mode de détection d'électrons rétrodiffusés (b) de cellules bactérienne (*P. aeruginosa*) à la surface du verre, (c) de cellules bactériennes initialement en suspension dans la culture liquide et récupérées sur un filtre en polycarbonate ( $\varnothing$  0,2  $\mu\text{m}$ ).

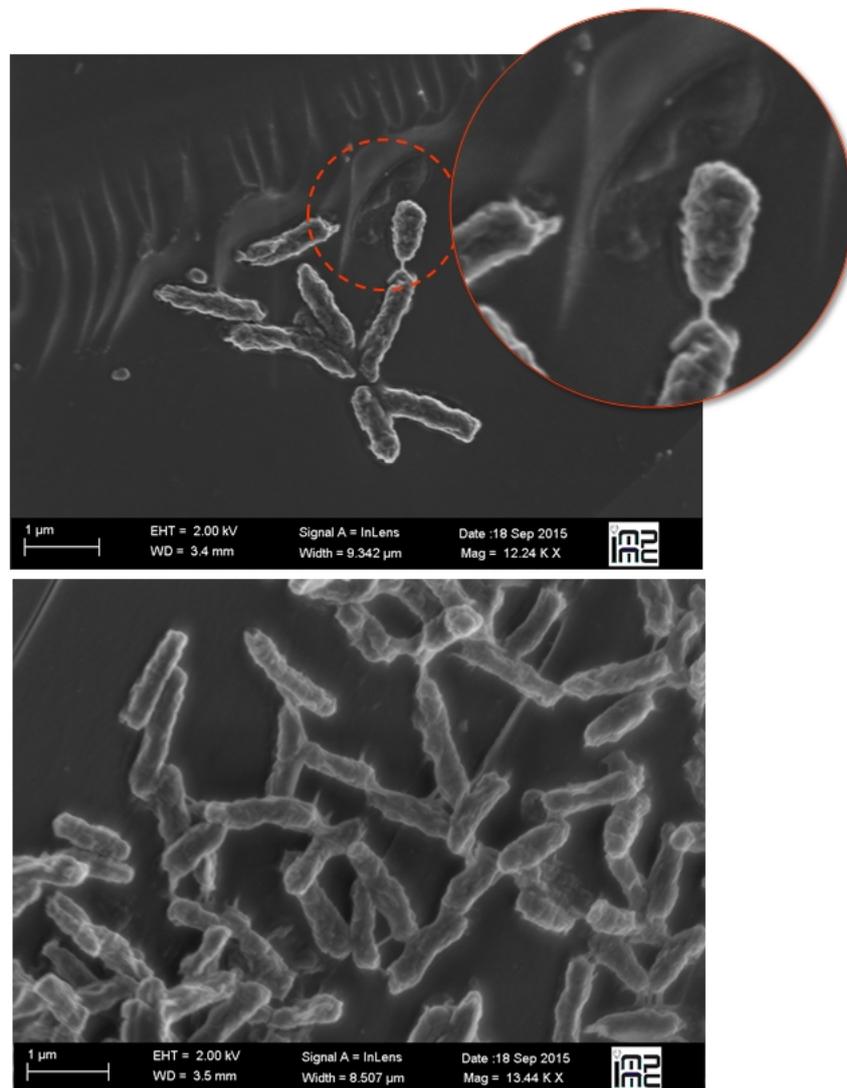


FIGURE 4.25: (a) Images MEB en mode de détection d'électrons secondaires de la surface d'un verre HAPLO altéré une vingtaine de jours dans un milieu MM9 en présence de la souche *P. aeruginosa*.

de l'attachement de certaines cellules à la surface du verre. Ces observations recourent donc finalement bien les résultats des expériences utilisant des membranes de dialyse décrits dans les paragraphes précédent : la dissolution du verre MORB3 est la plus sensible à la présence/absence de ces membranes (traduisant une influence significative des bactéries à l'état sessile), tandis que pour les verres HAPLO et notamment MORB2, la présence ou l'absence de membranes joue peu voire n'influe pas du tout sur les cinétiques de dissolution (traduisant un impact bactérien direct moins important).

Les biofilms fixés à la surface du verre constituent autant de microenvironnements au sein desquels la concentration bactérienne mais également les concentrations en exudats

cellulaires (sidérophores et acides organiques notamment) sont amplifiées. Dans des expériences similaires pratiquées sur une smectite, Ferret (2012) observe la formation d'un épais biofilm à la surface des grains. En parallèle de la formation de ce biofilm, elle note la diminution de la concentration en pyoverdine et des teneurs en aluminium et en fer dans la solution, laissant envisager que le biofilm pourrait piéger une partie des éléments métalliques ainsi que les sidérophores. La détection, dès 28h d'incubation des smectites dans une culture de *P. aeruginosa* en milieu succinate, de faibles concentrations en pyoverdine dans les biofilms s'étant développé à la surface du matériau, appuie d'ailleurs cette hypothèse. Maurice *et al.* (2000) font également l'hypothèse d'un piégeage du fer structural des goethites dans les biofilms de *P. mendocina*. Rien n'exclue donc, dans nos systèmes basaltiques et notamment ceux impliquant le verre MORB3, que la pyoverdine soit produite dans ces microenvironnements, mais non détectée car piégée dans la matrice d'exopolymères. On doit aussi envisager que le piégeage d'une partie des éléments métalliques solubilisés dans ces microenvironnements pourrait écranter les cinétiques de dissolution du verre, déterminées *via* l'analyse de la composition du milieu de culture seulement. Toutefois, étant donné la faible consistance des biofilms et l'attachement visiblement modéré des bactéries à la surface du verre MORB3 après vingt jours d'expérience, on s'autorisera à considérer cet effet d'écrantage comme négligeable.

**Ce qu'il faut retenir :**

- ▷ Un verre non-porteur de fer (HAPLO) soumis à une expérience de bioaltération voit sa vitesse initiale de dissolution multipliée par trois, par rapport à la même expérience faite dans des conditions de stérilité. Le moteur de cette accélération est la production continue de pyoverdine, molécule complexant l'aluminium formateur structural du verre. A partir d'une concentration seuil en pyoverdine (*a priori* comprise entre 0,06 et 0,08 mM), l'effet du sidérophore sur la vitesse de dissolution n'augmente plus.
- ▷ Un verre porteur de Fe(III) (MORB3) se dissout légèrement plus vite (vitesses  $\times 1,5$ ) au contact des bactéries qu'en conditions stériles. En l'absence de pyoverdine en solution, on prête cette accélération à une action directe des bactéries organisées en biofilm/sédentarisées à la surface du verre.
- ▷ Un verre porteur de Fe(II) (MORB2) voit la valeur de sa vitesse de dissolution augmenter ( $\times 2$ ) lorsqu'il est au contact de la souche *P. aeruginosa*. Cette augmentation semble être corrélée à la présence modérée de sidérophores en solution.

#### 4.2.4 Retour sur les mécanismes de complexation

A la vue de ces conclusions et avant de clore ce chapitre, une dernière partie sera dédiée à la discussion des résultats d'une expérience un peu différente, à la frontière entre les expériences de dissolution abiotiques présentées dans le chapitre précédent et de ces expériences de bioaltération. A l'instar des expériences abiotiques, les verres MORB3 et HAPLO ont en effet été mis au contact d'une solution d'EUP et d'un sidérophore. Ce sidérophore a toutefois été obtenu en conditions biotiques, puisqu'il s'agit de pyoverdine extraite à partir d'une culture réalisée dans un milieu carrencé. Le protocole d'extraction a été adapté à partir du travail de thèse de Samuel Bertrand (2009) et va à présent être détaillé.

##### 4.2.4.1 Protocole d'extraction

Un milieu de culture est un mélange relativement complexe de sels, de petites molécules organiques (vitamines, sucres, acides aminés) et de protéines. Les protocoles d'extraction des sidérophores, depuis de telles solutions, reposent sur des méthodes d'isolement de

ces molécules, en fonction de leur polarité. On exploitera notamment dans ce travail l'affinité que peuvent avoir les sidérophores avec un type de résine adsorbante de faible polarité, à savoir l'Amberlite XAD-4 (Sayyed et Chincholkar, 2006; Wilson *et al.*, 2006), qui peut être utilisée comme phase stationnaire en chromatographie liquide. On l'utilisera ici plus simplement, en solution, même si le principe de l'extraction reste le même : après rétention sur la résine, le sidérophore est "élué" lors d'une étape de lavage par un solvant, ici le méthanol (Figure 4.26).

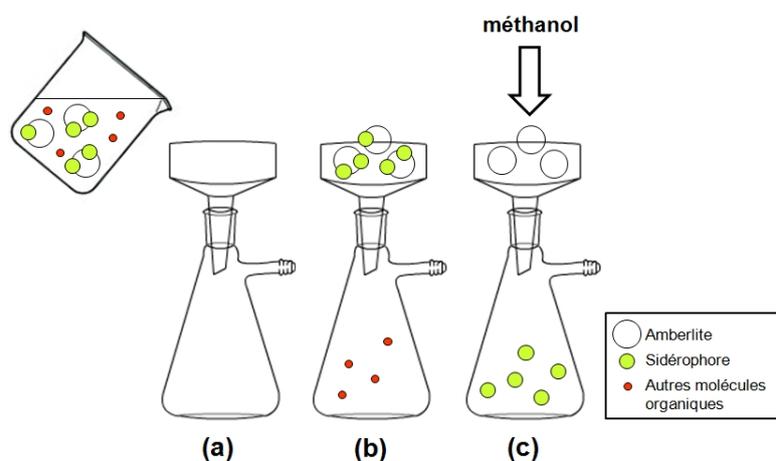


FIGURE 4.26: Principe d'extraction d'un sidérophore depuis un milieu de culture par rétention sur résine amberlite XAD-4. Le mélange est d'abord filtré (a), le sidérophore retenu sur l'amberlite ne franchit pas le filtre (b), la fiole de filtration est alors changée et la résine rincée au méthanol, ce qui conduit à l'élution du sidérophore (c).

Le protocole, basé sur l'utilisation d'une résine amberlite XAD-4 et mis en œuvre pour l'extraction de la pyoverdine, est donné dans la Figure 4.27.

La souche *P. aeruginosa* est au préalable inoculée dans un milieu LB, incubé pendant 24 heures à 25°C. Deux litres de milieu CAA (Casamino acids) sont ensuite préparés, par dissolution de 10 g de Casamino acids, 2,36 g de  $K_2HPO_4$  et 0,5 de  $MgSO_4$  heptahydraté dans de l'EUP (Huguenot, 2010). Ces deux litres sont répartis dans cinq bouteilles en verre de 500 mL et 200  $\mu$ L de culture LB sont introduits dans chaque bouteille. Après 48 heures à 25°C et sous une agitation de 160 tours par minute, les milieux CAA incubés sont caractérisés par une teinte vert vif, typique de la présence de pyoverdine en solution. Ces milieux liquides sont alors centrifugés à 4500 tours par minute, pendant 40 minutes, afin de séparer la suspension bactérienne du milieu. Deux litres de surnageant sont récupérés. De l'acide trichloroacétique est ensuite dissout dans ces deux litres à hauteur de 3% (massiques), afin de précipiter les protéines. L'ajout massif d'acide en solution entraîne la disparition de la couleur verte du milieu, les propriétés optiques de la pyoverdine étant, on l'a vu, très sensibles au pH. La solution est maintenue sous très faible agitation pendant deux heures, puis

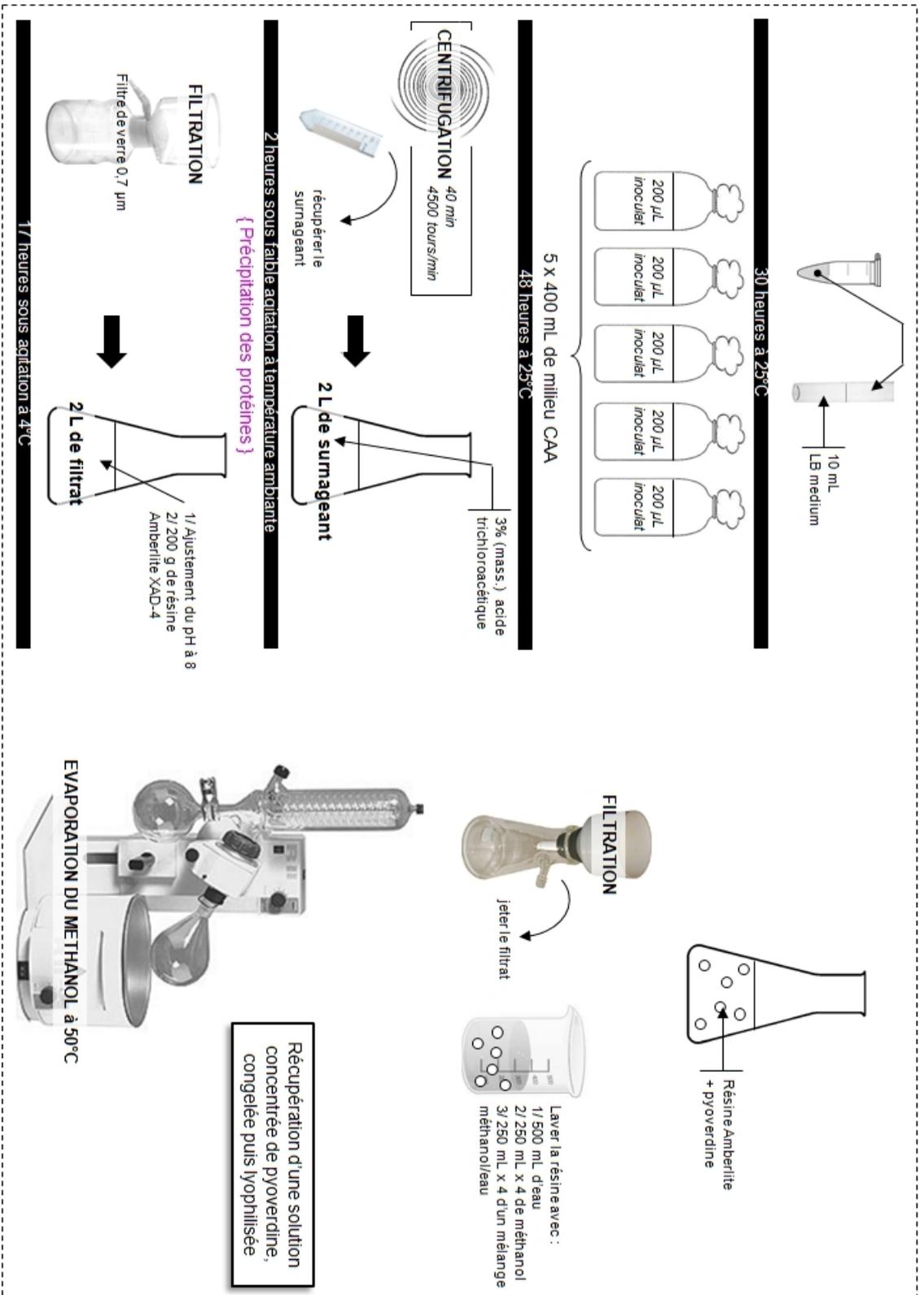


FIGURE 4.27: Protocole d'extraction de la pyoverdine depuis un milieu de culture CAA.

filtrée, sous vide et sur filtre en fibres de verre (taille des pores  $0,7 \mu\text{m}$ ) afin d'éliminer ces précipités. Le pH du filtrat est alors remonté à 8 par ajout progressif de pastilles de soude. L'augmentation du pH provoque la réapparition de la couleur verte de la solution.

200 g de résine Amberlite XAD-4 sont alors introduits dans la solution et le mélange est maintenu sous agitation pendant 17 heures, à  $4^\circ\text{C}$ . Après filtration sur büchner, la résine est récupérée et lavée à grande eau (environ 500 mL). Elle est ensuite soumise à plusieurs lavages par du méthanol ( $4 \times 250 \text{ mL}$ ) puis par un mélange contenant 50% de méthanol et 50% d'eau ( $4 \times 250 \text{ mL}$ ), afin de décoller la pyoverdine adsorbée à sa surface. A l'issue de chaque lavage, l'amberlite est récupérée par filtration sur büchner et le filtrat, vert fluorescent, est conservé. Tous ces lavages conduisent à l'obtention de deux litres d'un mélange de méthanol, d'eau et de pyoverdine. Le méthanol et une partie de l'eau sont éliminés à l'évaporateur rotatif à  $50^\circ\text{C}$  et une solution concentrée de pyoverdine est récupérée, puis congelée et lyophilisée. Une certaine quantité de pyoverdine est alors introduite, par ajouts successifs, dans un litre d'EUP, dont le pH est ajusté à 6,5 par ajout de  $\text{NaHCO}_3$  à 1 mM et de  $30,8 \mu\text{L}$  d' $\text{HNO}_3$  à 65%. L'absorbance à 405 nm de la solution obtenue, entre chaque ajout, est mesurée jusqu'à obtenir 1,18, ce qui par application de la loi de Beer-Lambert, correspond à une concentration de 0,062 mM en pyoverdine. Elle a été choisie car elle correspond à la concentration, dans les expériences précédentes, à partir de laquelle l'effet du sidérophore sur la dissolution n'augmentait plus.

#### 4.2.4.2 Expériences de dissolution

Les expériences de dissolution dans cette solution de pyoverdine ont été réalisées en conditions stériles.  $4 \times 200 \text{ mL}$  de cette solution ont été filtrés à travers un filtre seringue en acétate de cellulose ( $\varnothing 0,2 \mu\text{m}$ ) puis introduits dans quatre erlemeyers de 250 mL (deux de ces erlenmeyers contenant 0,5 g de verre MORB3 et deux autres contenant 0,5 g de verre HAPLO). Les erlenmeyers ont été fermés par des bouchons en coton et placés sous une agitation de 160 tours/min pendant quinze jours à  $25^\circ\text{C}$ , avec quelques petites interruptions pour la réalisation de prélèvements de 3 mL après huit heures, un, deux, trois, quatre et sept jours. Pour chaque prélèvement, 1,5 mL de solution ont été placés dans une cuve spectrophotométrique pour l'enregistrement d'un spectre UV-Visible entre 300 et 500 nm, tandis que les 1,5 mL restants ont été acidifié à hauteur de 1% de  $\text{HNO}_3$  et réservés pour l'analyse des concentrations en silicium, aluminium et fer par ICP-OES (Figure 4.28).

#### 4.2.4.3 Résultats et discussion

Les spectres UV-Visible enregistrés après différents temps d'incubation sont représentés sur la Figure 4.29. On constate que dans ces solutions d'EUP et de pyoverdine extraite

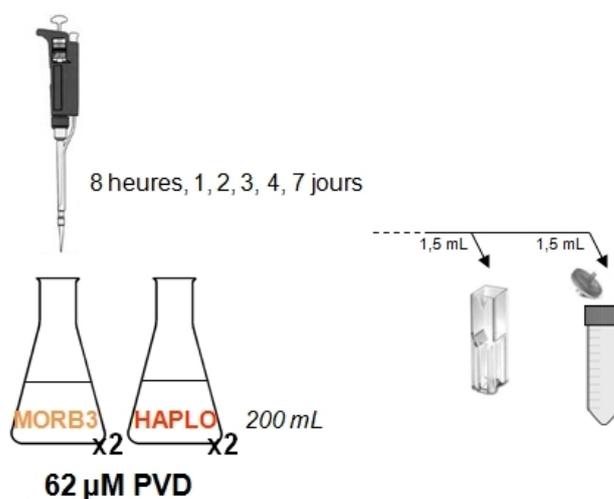


FIGURE 4.28: Méthode de prélèvement pour les expériences de dissolution en EUP et en présence de pyoverdine.

d'une culture bactérienne, la position et la forme du pic observé sur les spectres enregistrés entre 300 et 500 nm sont différentes (un maxima unique à 412 nm) de celles obtenues lors des expériences en milieu MM9 et rappellent le pic caractéristique de la pyoverdine libre déprotonée, donné sur la Figure 4.19 (conséquences du protocole d'extraction ?).

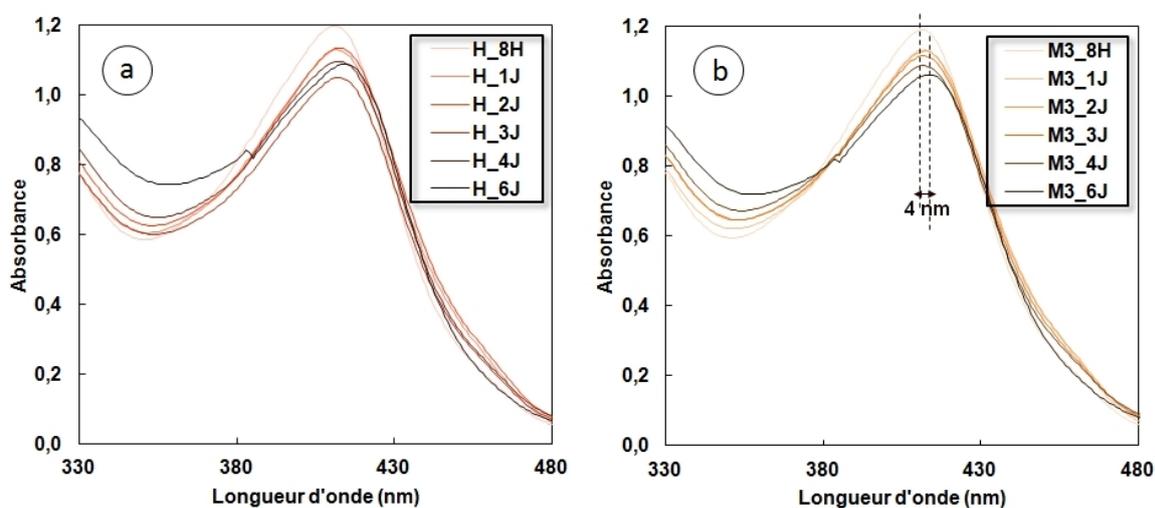


FIGURE 4.29: Spectres UV-Visible des solutions de pyoverdine en présence des verres HAPLO (a) et MORB3 (b), après huit heures, un, deux, trois, quatre et sept jours d'incubation à 25°C.

Pour le verre MORB3, on observe clairement une diminution assez régulière de l'absorbance maximale du pic caractéristique de la pyoverdine avec le temps d'incubation (traduisant une diminution de la concentration en pyoverdine). On observe aussi un léger décalage de ce pic, surtout visible après sept jours (attestant de la présence de pyoverdine complexée au fer). Le coefficient d'extinction molaire de la pyoverdine liée étant supérieur

à celui de la pyoverdine libre (Figure 4.19), une diminution des valeurs d'absorbance à 405 nm atteste forcément de la diminution de la concentration en pyoverdine en solution. De plus, au regard du très léger décalage du pic caractéristique de la pyoverdine après six jours d'incubation, on considèrera la pyoverdine libre largement en excès dans la solution tout au long de l'expérience. Pour cette raison, les calculs des concentrations en pyoverdine dans la solution seront fait en appliquant la loi de Beer-Lambert et en considérant le coefficient d'extinction molaire de la pyoverdine libre, quitte à surestimer légèrement la valeur de cette concentration.

En revanche, pour le verre HAPLO, si l'absorbance maximale du pic caractéristique de la pyoverdine après sept jours (1,03) est bien inférieure à l'absorbance initiale (1,18), celle-ci passe par un minimum à mi-expérience (1,00 à trois jours), avant d'augmenter légèrement. On attribuera ces fluctuations à la présence de complexes  $Al^{3+}$ -pyoverdine très fluorescents en solution. L'intensification de la fluorescence liée à la formation de ces complexes joue aussi sur les propriétés d'absorption de la pyoverdine liée à l'aluminium (Braud *et al.*, 2009). Pour ces raisons, on évitera de faire l'approximation précédente et on ne calculera pas les concentrations en pyoverdine dans la solution à partir des valeurs d'absorbance relevées. Etant donné la diminution de l'absorbance maximale du pic à 412 nm entre un et six jours, ces résultats mettent néanmoins en évidence la diminution de la concentration en pyoverdine libre entre le début et la fin de l'expérience de dissolution.

Les valeurs de DO à 405 nm ont été reportées en fonction du temps pour les expériences de dissolution du verre MORB3 sur la Figure 4.30.a. A partir de ces valeurs, les concentrations correspondantes en pyoverdine dans la solution ont donc été calculées d'après la loi de Beer-Lambert. Sur la base de la diminution de cette concentration avec le temps, le pourcentage de molécules de pyoverdine ayant disparue de la solution au fil de l'expérience a été calculé. Ce pourcentage a été présumé égal au pourcentage de molécules de pyoverdine adsorbées à la surface du verre (Ferret *et al.*, 2014) et a été représenté en fonction du temps sur la Figure 4.30.b.

De manière générale, les valeurs de DO entre huit heures et sept jours d'expérience témoignent de la diminution de la concentration en pyoverdine de la solution. On constate la diminution de cette concentration avec le temps, couplée à l'augmentation de la concentration en pyoverdine adsorbée à la surface du verre (jusqu'à 13,6%). Ces résultats mettent en évidence une interaction sidérophore/verre et sont en faveur des mécanismes de complexation s'opérant en surface dont on a fait l'hypothèse dans le chapitre précédent.

Ces résultats permettent d'estimer la quantité de molécules de pyoverdine adsorbées

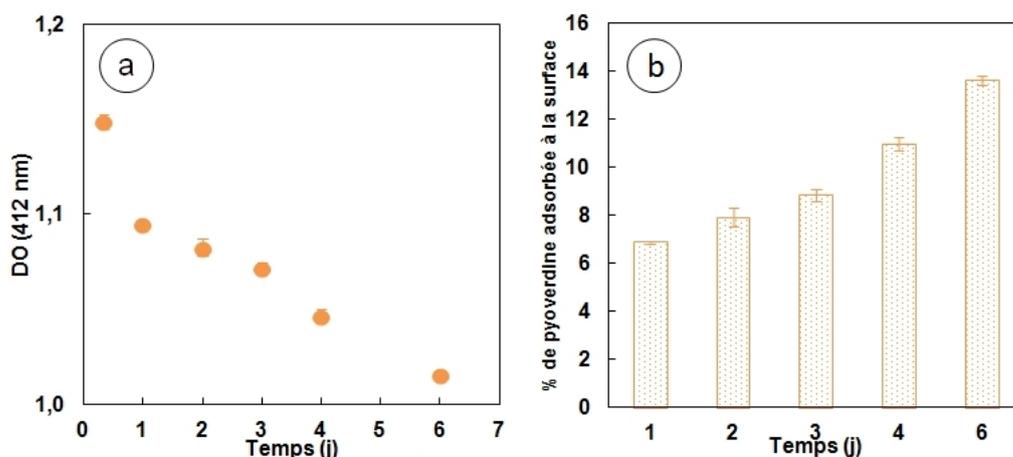


FIGURE 4.30: (a) DO (405 nm) mesurée dans dans chaque prélèvement de solution de pyoverdine au contact des verres HAPLO et MORB3. (b) Pourcentage de pyoverdine adsorbée à la surface du verre (HAPLO ou MORB3) en fonction du temps d'expérience. Les barres d'erreurs sur les deux figures correspondent à l'écart-type entre deux points de réplicats.

par unité de surface du verre MORB3 à  $77 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ . Un dernier prélèvement a été effectué après quinze jours d'incubation. La mesure de l'absorbance maximale du milieu de culture en présence du verre MORB3 nous indique que 21% des molécules de pyoverdine initialement présentes dans la solution sont adsorbées à la surface du verre, soit un taux d'adsorption de  $130 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ . Ces valeurs, à six jours comme à quinze, sont bien au dessus de celles (discutées dans le chapitre précédent) que l'on peut trouver dans la littérature pour certains ligands comme l'AO, celles-ci se situant entre 1 et  $10 \mu\text{mol}/\text{m}^2$  pour la goethite (Nowack et Sigg, 1997; Cheah *et al.*, 2003). Ces ligands ont néanmoins une affinité bien moins importante pour le fer. Peu d'études ont été dédiées à la détermination du nombre de molécules de sidérophores adsorbées à la surface de matériaux silicatés/oxydes. Les quelques valeurs disponibles concernant l'adsorption de la DFA à la surface de goethites sont toutefois bien plus faibles que celles calculées ici, puisque se situant entre 0,01 et  $1 \mu\text{mol}/\text{m}^2$  (Kraemer *et al.*, 1999; Wolff-Boenisch et Traina, 2006).

Les valeurs des concentrations en silicium, aluminium et fer dans les solutions de pyoverdine au contact des verres MORB3 et HAPLO sont données dans le Tableau 6.7 en Annexe et les NLs correspondantes ont été représentées en fonction du temps sur les Figures 4.31 (b) et (c). A titre de comparaison, les NLs calculées dans le cadre des expériences de dissolution du verre MORB3 en EUP seule ou dans une solution de DFA à 0,024 mM (résultats donnés dans le Chapitre 3) sont respectivement données en (a) et (d). Rappelons que dans le chapitre précédent, les profils de dissolution des verres MORB3 et HAPLO en EUP seule étaient complètement équivalents.

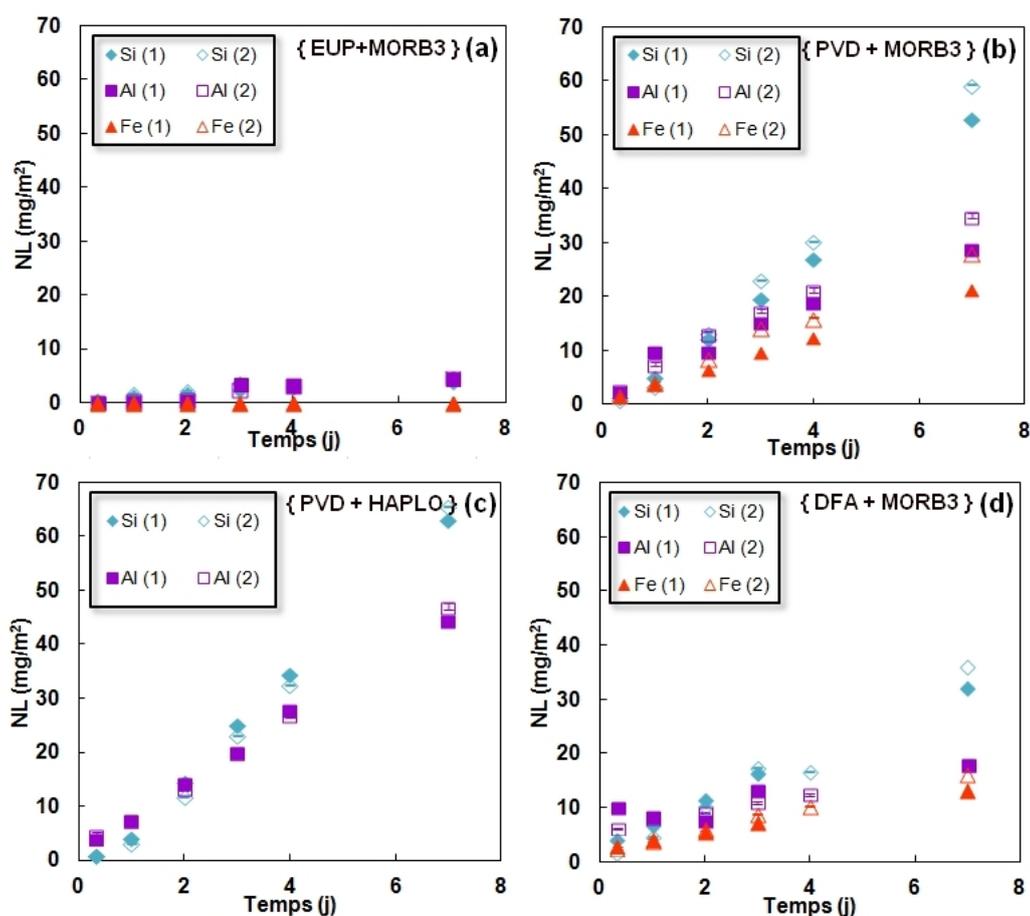


FIGURE 4.31: Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al et Fe en solution d'EUP au contact des verres (a) MORB3, (b) MORB3 et en présence de pyoverdine (PVD) à 0,062 mM, (c) HAPLO et en présence de pyoverdine (PVD) à 0,062 mM et (d) MORB3 et en présence de DFA à 0,024 mM. Les barres d'erreurs représentées sont les barres d'erreurs analytiques. Les symboles remplis et vides représentent respectivement les première (1) et deuxième (2) séries de duplicats.

La dissolution des verres MORB3 et HAPLO est clairement accélérée en présence de pyoverdine : les NLs du silicium après sept jours sont jusqu'à environ dix fois plus importantes qu'en EUP seule, cinq à six fois pour l'aluminium, quatre fois pour le fer. Il est aussi intéressant de comparer ces profils de dissolution avec ceux issus des expériences en solution de DFA, qui sont très similaires (dissolution stœchiométrique du fer et de l'aluminium, préférentielle du silicium), bien que diminués : pour le verre MORB3, les valeurs des NLs du silicium, de l'aluminium et du fer sont divisées par deux. On s'autorisera à comparer l'influence d'une solution à 0,062 mM de pyoverdine à celle d'une solution à 0,024 mM de DFA, puisque ces deux sidérophores complexent le Fe(III) et l'aluminium de manière similaire (complexes 1 :1) et puisque 0,024 mM est une concentration à partir de laquelle on a montré dans le chapitre précédent que l'efficacité de la DFA sur la dissolution du verre n'augmentait plus.

Les vitesses initiales de dissolution du silicium, de l'aluminium et du fer ont été calculées (valeurs données dans le Tableau 6.8 en Annexe) et sont représentées sur la Figure 4.32.

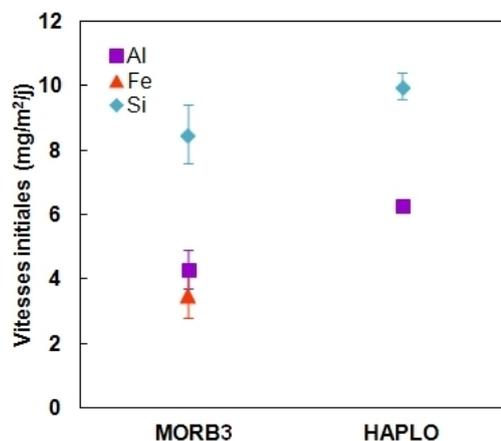


FIGURE 4.32: Vitesses de relâchement des éléments Si, Al et Fe des verres MORB3 et HAPLO dans une solution d'EUP et de pyoverdine à 0,062 mM. Les barres d'erreur représentent l'écart entre deux points de duplicats.

On observe un résultat surprenant. S'il est clair que les réactions de complexation, en surface du verre, entre pyoverdine et aluminium/Fe(III) déstabilisent suffisamment la structure du verre pour accélérer significativement sa dissolution, on s'attend, étant donnée la valeur de la constante de formation des complexes  $Fe^{3+}$ -pyoverdine, à ce que cet effet soit d'autant plus marqué que le verre contient du fer. Or les vitesses de relâchement du silicium, que l'on présumera représentatives des vitesses de dissolution globale des verres, sont très proches. En l'absence de fer dans le verre, la complexation et le relâchement de l'aluminium accélèrent nettement la dissolution du verre. Pour le verre MORB3, le relâchement de l'aluminium est moins important puisque la pyoverdine complexe *a priori* préférentiellement le fer. Toutefois, la complexation du fer n'a pas l'effet marqué sur la dissolution du verre qu'on a pu observer dans le chapitre précédent avec la DFA (les vitesses initiales du verre HAPLO étaient systématiquement inférieures à celles du verre MORB en présence de ce sidérophore). Le fait que la constante de formation du  $Al^{3+}$ -pyoverdine ne soit pas connue ne facilite pas l'interprétation, mais ceci laisse à penser que la pyoverdine forme des complexes très stables avec l'aluminium. Cet élément étant plus présent dans le verre HAPLO que le fer ne l'est dans le verre MORB3, on peut supposer que la formation de complexes malgré tout très stables et de surcroît plus nombreux, contrebalance l'affinité particulière que la pyoverdine peut avoir pour le fer. Il serait intéressant, pour trancher quant au rôle de l'aluminium, de comparer ces cinétiques de dissolution avec celles d'un verre MORB équivalent mais ne contenant pas d'aluminium.

### 4.3 Conclusions

Ces expériences utilisant des cultures bactériennes ont donc permis de nuancer les résultats obtenus en conditions abiotiques. En effet, dans le chapitre précédent, l'influence des sidérophores sur la dissolution des verres était directement corrélée à la force de leur affinité pour certains cations formateurs de réseau, à savoir le Fe(III) et l'aluminium. En présence d'un sidérophore équivalent à la pyoverdine (taille, constantes de complexation, nombre de groupements impliqués dans les réactions de complexation...), le verre MORB3, riche en Fe(III), se dissolvait plus rapidement que le verre HAPLO, porteur d'aluminium. La prise en compte de bactéries dans le système modifie les cinétiques de dissolution, puisque la production de sidérophore est contrôlée, en amont, par les cellules et notamment par leurs carences en fer. Pour une culture au contact d'un verre MORB2 ou MORB3, les bactéries se satisfont du fer structural naturellement relâché en solution et tirent profit d'une interaction directe avec la surface du verre, influant faiblement sur les vitesses de dissolution. Au contraire, au contact d'un verre HAPLO, la souche est soumise à un stress nutritionnel important, ce qui favorise la biosynthèse de pyoverdine, dont les réactions de complexation avec l'aluminium structural du verre impacte de manière significative sur les cinétiques. Le confinement des verres dans des membranes de dialyse renverse néanmoins ces tendances, puisque qu'une production modérée de pyoverdine accélère dans ce cas très nettement la dissolution du verre MORB3. Les résultats des expériences abiotiques en présence de pyoverdine naturelle attestent de la localisation des réactions de formation des complexes  $Fe^{3+}$ -*pyoverdine* ou  $Al^{3+}$ -*pyoverdine* à la surface des verres.

On conclura donc que l'accessibilité du fer dans l'environnement cellulaire contrôle les cinétiques de dissolution des verres basaltiques. Lorsque le contact direct bactéries/verre est difficile, le déclenchement de la biosynthèse de pyoverdine joue un rôle prépondérant dans les mécanismes de dissolution. On remarquera néanmoins que pour un verre basaltique réduit, la pyoverdine est présente dans le système de manière invariante, qu'un contact direct bactéries/verre soit possible ou non. En dépit de l'implication moindre du Fe(II) dans la structure du verre, cette production de pyoverdine, ou plus généralement les mécanismes induits par la présence de bactéries dans le milieu de culture entraîne une dissolution deux fois plus rapide du verre par rapport aux expériences stériles.



## Chapitre 5

# Caractérisation des surfaces altérées

L'analyse des solutions d'altération et notamment la discussion des résultats a mis en évidence des cinétiques de dissolutions différentes d'une condition expérimentale à une autre (présence ou absence de ligands organiques, présence ou absence de bactéries, composition des échantillons). La caractérisation des surfaces altérées est alors apparue comme une étape indispensable à l'obtention d'informations complémentaires pour une meilleure compréhension des mécanismes. La plupart des expériences réalisées étant des expériences à court terme, les échantillons obtenus présentaient une altération de surface quasi-indécelable. Ce travail de recherche étant limité dans la durée, la priorité a été donnée aux échantillons immergés à plus long terme dans les solutions altérantes (trois à cinq mois à 25, 45 et 90°C) et présentant une altération plus marquée pouvant être étudiée à l'aide de techniques dont nous pouvions disposer aisément. La caractérisation de ces échantillons s'est toutefois avérée délicate, l'altération, même pour ces temps relativement longs, demeurant peu prononcée.

A travers les efforts déployés pour identifier les phases formées, s'est dégagée une nouvelle dynamique de travail, différant de par son approche plus méthodologique des protocoles expérimentaux et des modes de réflexion utilisés dans les chapitres précédents. Confrontée à la faible réactivité des verres préparés et à la fragilité des produits d'altération formés, je me suis interrogée sur les techniques à exploiter pour l'observation et la caractérisation de surfaces faiblement altérées, quitte à envisager des techniques plus innovantes, traditionnellement peu ou pas utilisées dans le contexte de l'altération des verres. L'arrivée au laboratoire d'une ICP-OES couplée à un système de prélèvement de phases solides par ablation laser a notamment été l'occasion de tester les possibilités qu'offre cet équipement. Ce dernier a été acquis dans le but de développer, au laboratoire, des méthodes de prélèvement et d'analyse par ablation laser d'échantillons altérés et notamment d'objets archéologiques (en particulier des verres de vitraux médiévaux). L'optimisation d'un protocole pour la caractérisation des faibles épaisseurs d'altération de mes verres s'est donc inscrite dans un

contexte plus général de l'altération, ce qui a paradoxalement généré plus de contraintes : il s'agissait en effet de prévoir une analyse quantitative, peu destructrice (et surtout indétectable à l'œil nu), sans préparation préalable (physique ou chimique) de l'échantillon. Pour la réalisation de ce projet, j'ai été gratifiée d'une bourse de l'Ecole Doctorale, qui m'a permis de passer deux mois à Londres, entre deux laboratoires (à savoir les départements *Earth and Planetary Sciences* respectifs de la *Birkbeck School* et de l'*University College London*), pour travailler à l'optimisation d'un tel protocole. L'équipement sur lequel je me suis exercée est un spectromètre de masse, couplé à un système de prélèvement d'échantillons solides par ablation laser.

L'étape dédiée à la caractérisation des produits d'altération a aussi été l'occasion d'utiliser la Microscopie Electronique à Balayage (observation des surfaces ou de sections polies), la Microscopie Electronique à Transmission ou encore la tomographie, de manipuler le code Chess (outil de modélisation thermodynamique de systèmes aqueux complexes) et de participer à l'encadrement de deux stagiaires travaillant sur l'altération de verres modèles de vitraux médiévaux. Au vu du grand nombre d'échantillons caractérisés, notamment en MEB, le choix a été fait de ne discuter dans ce chapitre que des résultats relatifs aux échantillons monolithiques MORB3 altérés entre un et cinq mois dans des solutions d'eau ultrapure (EUP) et d'acide oxalique (AO), à 45°C. Ces échantillons ont été jugés représentatifs des systèmes de dissolution avec/sans ligands et présentent en outre une surface suffisamment altérée pour la mise en œuvre d'un protocole d'analyse par LA-ICP-MS. Quelques planches d'images résultant des observations en MEB des échantillons altérés sous diverses conditions expérimentales (récapitulés par la Figure 2.25 dans le Chapitre 2) sont néanmoins données et commentées en Annexe.

## 5.1 Observation préliminaire des surfaces

L'observation des surfaces de ces échantillons par MEB, après cinq mois d'altération, met en évidence des différences entre les échantillons altérés dans l'EUP ou dans une solution d'AO (Figure 5.1).

Pour les échantillons altérés en EUP, on observe nettement des structures en lamelles, qui forment une couche d'altération à la surface du verre. Ces lamelles sont caractéristiques de la présence de phyllosilicates, aussi appelés silicates lamellaires pour leur agencement structural en feuillets bi-dimensionnels, formés d'un enchaînement de tétraèdres de silice et

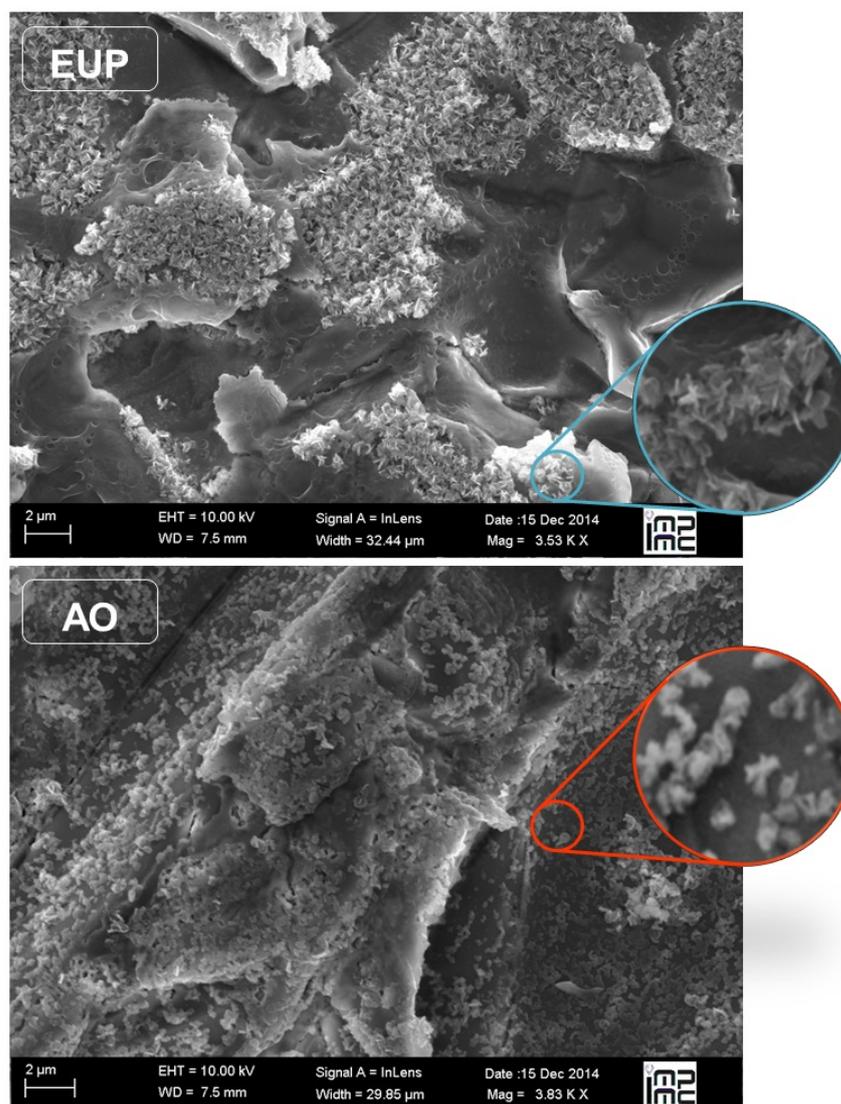


FIGURE 5.1: Images MEB (mode de détection d'électrons secondaires) de la surface d'un verre MORB3 altéré 150 jours à 45°C au contact d'une solution d'EUP et d'AO.

d'octaèdres d'oxydes métalliques.

En présence d'AO, le verre est visiblement altéré, mais les produits d'altération sont différents, même si eux aussi recouvrent complètement la surface. Les analyses en EDS permettent difficilement de se faire une idée de la composition de ces couches d'altération, trop fines pour écranter, lors de l'analyse, le verre qu'elles recouvrent. Pour un échantillon altéré dans l'EUP, la caractérisation de zones franchement altérées a toutefois permis de mettre en évidence un enrichissement en certains éléments du verre, notamment en fer et en aluminium (Figure 5.2).

Le suivi quantitatif des processus d'altération des verres basaltiques implique la connais-

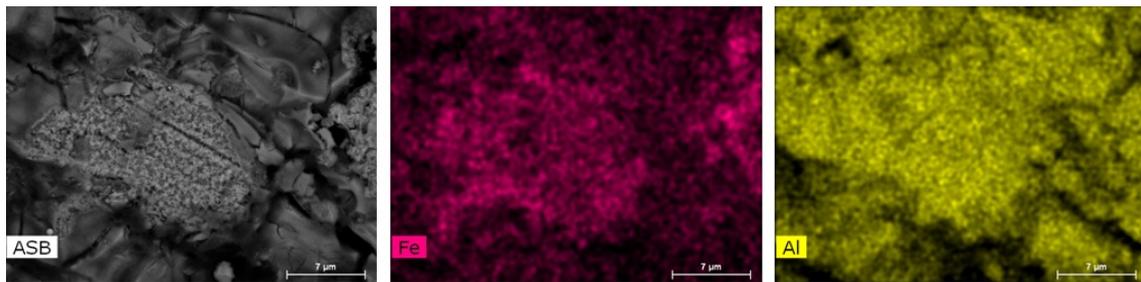


FIGURE 5.2: Images MEB (mode de détection d'électrons rétro-diffusés) de la surface altérée d'un verre MORB3 altéré pendant 150 jours au contact d'une solution d'EUP et cartographies du Fe et de l'Al de cette zone, résultant d'une analyse semi-quantitative en EDS.

sance de l'épaisseur et de la nature de la/des couches formées. Malheureusement, l'observation de sections polies de ces échantillons se révèle être limitée par les faibles épaisseurs et la fragilité des produits secondaires en surface (Figure 5.3).



FIGURE 5.3: Images MEB (mode de détection d'électrons secondaires), de la coupe d'un verre MORB3 altéré 150 jours à 45°C au contact d'une solution d'AO et résultat d'une analyse semi-quantitative en EDS des phases observées.

On constate que la couche d'altération, très fragile, se désagrège au contact des disques de polissage, rayant au passage la résine et surtout empêchant la mesure d'une épaisseur d'altération correcte. Le verre, visiblement fragilisé, se fracture de plus de manière très nette à une dizaine de microns de la surface. Pour le verre altéré dans l'AO, malgré le détachement partiel de la couche d'altération, la caractérisation des phases en présence a été possible. Une analyse semi-quantitative par EDS témoigne de la présence d'un silicate enrichi en aluminium, en fer et en sodium et appauvri en calcium et magnésium par rapport au verre sain. Au vu des observations MEB, on estimera l'épaisseur de cette couche d'altération à 1 ou 2  $\mu\text{m}$ .

## 5.2 Détermination de profils d'altération par LA-ICP-MS

Le couplage des techniques de quantification des compositions d'échantillons solides à un prélèvement par ablation laser est à l'heure actuelle de plus en plus populaire, principalement en raison de la très bonne résolution d'une telle méthode de prélèvement pour l'analyse de zones très localisées (jusqu'à quelques micromètres de diamètre) à la surface d'un solide, mais aussi car elle ne requiert pas de taille d'échantillon spécifique, ni de protocole chimique ou d'action mécanique pour la préparation des matériaux étudiés (donc pas de risque de contamination, ou de pertes de matière) (Russo *et al.*, 2002). Un des atouts-clés de la technique d'analyse par LA-ICP-MS est notamment sa capacité à analyser un large éventail de concentrations, des majeures (dizaines de wt%) aux mineures voire aux traces (ppb, ppt). Son utilisation recoupe des domaines variés :

1/ Dans un contexte environnemental, elle permet d'évaluer le degré de pollution et les caractéristiques chimiques de sols, d'eaux de mer/météoriques, ou même de l'air (analyse d'écorces, de racines, de coquillages, de coraux, de particules en suspension dans l'air recueillies sur des filtres) (Garbe-Schönberg *et al.*, 1997; Sinclair *et al.*, 1998; Chin *et al.*, 1999)

2/ D'un point de vue géologique, l'analyse par LA-ICP-MS est pratiquée sur une variété de matériaux naturels. On l'utilise, en outre, pour la détection d'éléments traces tels que le tungstène, hafnium, strontium, thorium, plomb, uranium, osmium et l'étude de leur distribution isotopique au sein de ces roches montre qu'ils sont des traceurs viables des grands cycles géochimiques terrestres (Hirata *et al.*, 1998; Halliday *et al.*, 1998). La détermination des ratios  $\frac{^{206}\text{Pb}}{^{238}\text{U}}$ ,  $\frac{^{207}\text{Pb}}{^{235}\text{U}}$ ,  $\frac{^{207}\text{Pb}}{^{206}\text{Pb}}$  est par exemple utilisée pour la datation de ces roches (Fryer *et al.*, 1993), tandis que d'autres données isotopiques peuvent être mobilisées pour attester des changements de circulation des océans liés à l'évolution du climat terrestre (Christensen *et al.*, 1997). L'analyse compositionnelle des inclusions dans des minéraux divers et variés peut aussi refléter la composition du fluide environnant avant, pendant et après leur formation (Heinrich *et al.*, 2003).

3/ Plus récemment, cette technique s'est révélée être adaptée à la caractérisation d'objets archéologiques, de par le fait qu'elle ne requiert que très peu de matière, aucune préparation chimique préalable et que les motifs de l'ablation, petits impacts de l'ordre de quelques microns, sont indiscernables à l'œil nu (Gratuze,

1999; Gratuze *et al.*, 2001; Siqin *et al.*, 2013).

4/ Enfin, on lui trouve aussi des applications dans le domaine médical, sa bonne résolution spatiale permettant notamment d'établir des cartographies chimiques des coupes de tissus d'organismes vivants (Becker *et al.*, 2014).

En dépit de la multiplication récente, attestée par la littérature des deux dernières décennies, des travaux utilisant la LA-ICP-MS, peu d'études ont été consacrées à l'exploitation de cette technique comme d'un véritable outil concurrençant les techniques microanalytiques usuelles (Hirata, 1997; Perkins *et al.*, 1997; Gratuze *et al.*, 2001). De plus, seules quelques études ont traité de sa mise à profit pour la détermination de profils de composition des surfaces altérées de matériaux silicatés et notamment de verres (van Elteren *et al.*, 2009, 2013). En conséquence, ce travail méthodologique a été entrepris pour attester de la viabilité de la LA-ICP-MS en tant qu'outil rigoureux pour la caractérisation fine de surfaces faiblement altérées.

### 5.2.1 Optimisation de l'analyse des verres altérés par LA-ICP-MS

Ces analyses ont été réalisées à l'*University College London*, au sein du département *Earth Sciences*, en collaboration avec Martin Rittner. En vue de l'analyse par LA-ICP-MS, les verres préparés ont été dopés au bore (1%), élément qui n'a finalement pas été retenu comme un traceur valide de l'altération. S'il n'a pas joué un rôle dans l'interprétation des résultats, l'incorporation de cet élément a toutefois légèrement diminué les teneurs respectives des autres éléments constitutifs du verre. Sa présence sera donc bien entendu prise en compte dans les calculs et dans les discussions qui seront faites dans la partie traitant de l'analyse des verres par ablation laser.

#### 5.2.1.1 Choix des méthodes d'analyse

Avant analyse, certains paramètres "pratiques" ont été optimisés comme la position de la torche et des lentilles, ou les débits de gaz, afin d'obtenir le signal de la plus forte intensité possible. Ces tests ont été pratiqués sur un standard de verre NIST 610 (compositions données dans le Tableau 6.9 en Annexe).

L'analyse la plus fine, la plus précise et la plus juste possible a été obtenue en jouant avec les principaux paramètres intrinsèques au système de prélèvement par ablation laser, mais aussi avec les méthodes de calibration, pour l'aspect quantitatif des mesures de concentrations.

---

| ABLATION |

---

Le mode d'ablation est un paramètre crucial dans l'établissement d'un tel protocole, car il gouverne la performance analytique (phénomène de fractionnement, justesse et précision de la mesure). On distingue deux stratégies pour le prélèvement de la matière :

1/ l'ablation en mode "**single spot**", qui consiste à tirer sur une zone localisée de l'échantillon pendant un certain temps. Cette stratégie permet de réaliser des profils de composition en profondeur avec une très bonne résolution spatiale due à la taille du spot. Cependant, elle favorise le phénomène de fractionnement élémentaire au moment du tir. Ce dernier est observé lorsque la composition de la matière vaporisée soumise à analyse n'est pas représentative de la composition de l'échantillon original. Ceci peut être dû à l'existence, à proximité du cratère formé, de forts gradients de température provoquant la ségrégation des éléments caractérisés par des fortes ou faibles températures de fusion et d'ébullition. En mode d'ablation *single spot*, pour la détermination des profils de composition en profondeur, la persistance d'un tir sur une zone localisée de l'échantillon peut donc engendrer un tel phénomène et produire un signal instable (Borisov *et al.*, 2000). L'importance des processus de fractionnement élémentaire dépendra alors du matériau soumis à analyse, des caractéristiques du laser, des dimensions du spot, des modes de transport des particules ablatées ou encore de leur distribution de tailles (Russo *et al.*, 2002). Travailler en mode *single spot* exige de plus de s'affranchir des premières secondes d'analyse (Gonzalez *et al.*, 2004). Dans une étude sur la caractérisation des surfaces altérées de verres historiques, Panighello *et al.* (2015) ont utilisé le mode *single spot* pour caractériser des épaisseurs d'altération importantes (une dizaine de micromètres environ). Dans notre cas, étant donnée la finesse des couches d'altération, les premières secondes de tir sont essentielles pour l'analyse de ces surfaces faiblement altérées.

2/ l'ablation en mode "**scanning**". Dans ce mode, le laser tire, de manière discrète, en se déplaçant sur l'échantillon entre chaque tir. Les temps de tir et de déplacement sont extrêmement courts et le motif obtenu, appelé *raster*, est schématisé par la Figure 5.4.

Pour une analyse en profondeur, une fois le premier motif ablaté, le laser tire à nouveau, exactement au même endroit à la surface du matériau et ainsi de suite en fonction de la profondeur souhaitée. Dans notre cas, chaque séquence de tir (constituant un *raster*) a été répétée dix fois. En terme de résolution spatiale, ce

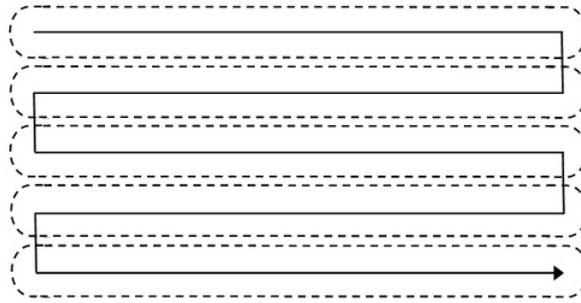


FIGURE 5.4: Représentation schématique du mode d'ablation *scanning*, en raster.

mode d'ablation est bien entendu inférieur au mode *single spot*, un raster se composant, dans le sens de la largeur, d'une succession d'impacts (se chevauchant ou non). Cette stratégie a néanmoins été retenue pour notre protocole au vue des épaisseurs d'altération attendues. Pour une analyse, un blanc de 20 secondes (durant lequel le laser est allumé, mais le signal n'est pas collecté) précède 40 à 90 secondes (temps variant selon la méthode) de tirs sur l'échantillon. Des mouvements de translation horizontaux et verticaux de la cellule sur laquelle repose l'échantillon dessinent progressivement le raster donné en Figure 5.4. Le signal obtenu (nombre de coups en fonction du temps) est donc caractérisé par un plateau de 40 à 90 secondes, dont les intensités sont extraites, moyennées et donnent accès aux concentrations des éléments constituant le verre.

### Éclairement

Ce paramètre correspond à l'énergie délivrée par le laser à une certaine surface et s'exprime en  $\text{J}/\text{cm}^2$ . De manière générale, les plus hautes énergies sont les plus efficaces pour rompre les liaisons et ioniser l'échantillon solide. De plus, le temps de vaporisation d'un matériau étant inversement dépendant de l'énergie du laser, celui-ci diminue significativement à fort éclairement, ce qui peut en conséquence réduire les effets de fractionnement élémentaire, la ségrégation des éléments étant dans ce cas-là moins prononcée (Barreda, 2010). Cependant, travailler à plus faible énergie permet d'améliorer la résolution spatiale et limite aussi la pénétration du faisceau à la surface de l'échantillon, favorisant l'analyse de couches d'altération très fines (Hirata, 1997). Évidemment, l'ablation de plus petites quantités de matière peut réduire par la même occasion la sensibilité de l'appareil aux éléments présents en faibles concentrations dans l'échantillon. Aucun des éléments constitutifs de nos verres n'étant présent en trace, le risque de travailler sous les limites de détection de l'ICP-MS était minime. Pour ces raisons, des énergies faibles, entre 1 et  $3 \text{ J}/\text{cm}^2$ , ont finalement été privilégiées.

### *Diamètre du spot laser*

L'ajustement de la taille du spot permet de définir la résolution spatiale de l'analyse : plus celui-ci est petit (le diamètre minimum se situe entre 5 et 10  $\mu\text{m}$ ), plus la résolution est grande. Toutefois, si la surface destinée à être analysée est irrégulière (comme une surface altérée peut l'être), les concentrations déterminées dans le volume de matériau prélevé sont d'autant plus représentatives de la surface de l'échantillon que les quantités ablatées sont importantes. Il s'agit donc de trouver un compromis, pour obtenir l'analyse la mieux résolue et la plus représentative possible de l'échantillon. Au regard du mode d'ablation choisi (mode *scanning*), un spot de diamètre compris entre 20 et 35  $\mu\text{m}$  selon les méthodes a été choisi.

### *Fréquence du laser*

La fréquence du laser contrôle le taux d'ablation du matériau pour un éclairement donné. Elle influe notamment sur le temps de mesure, mais aussi sur la sensibilité de l'analyse, puisqu'elle est directement reliée à la quantité d'échantillon ionisée et envoyée au plasma : plus la fréquence est élevée, meilleure est la sensibilité. Le choix de la fréquence du laser est aussi important pour éviter les effets indésirables générés par le fractionnement élémentaire. On observe généralement ces effets indésirables pour des fréquences élevées (Gratuzé *et al.*, 2001). Ceci implique, encore une fois, qu'un compromis devra être fait dans le choix de la fréquence du laser, pour conjuguer à la fois justesse et précision de l'analyse. On trouve généralement dans la littérature des valeurs de fréquences utilisées entre 10 et 20 Hz. Des valeurs plus faibles permettraient pourtant une ablation plus douce de la surface du verre, une diminution du nombre de coups, notamment pour nos échantillons concentrés (ne contenant que des majeurs) et l'obtention d'un signal plus long. Une gamme de fréquences entre 7 et 10 Hz a donc été choisie pour des mesures stables et une analyse minutieuse du verre.

### *Déplacement de l'échantillon*

L'utilisation d'un mode d'ablation de type *scanning* nécessite de définir la vitesse de déplacement de l'échantillon sous le spot laser entre chaque impact. Pour une largeur de raster donnée, diminuer cette vitesse peut entraîner le chevauchement de ces points d'impacts, comme montré sur la Figure 5.5.

Diminuer cette vitesse permet ainsi d'augmenter le temps d'une mesure. Toutefois, des études ont montré que de faibles vitesses de déplacement ( $< 10 \mu\text{m/s}$ ) décalaient la dis-

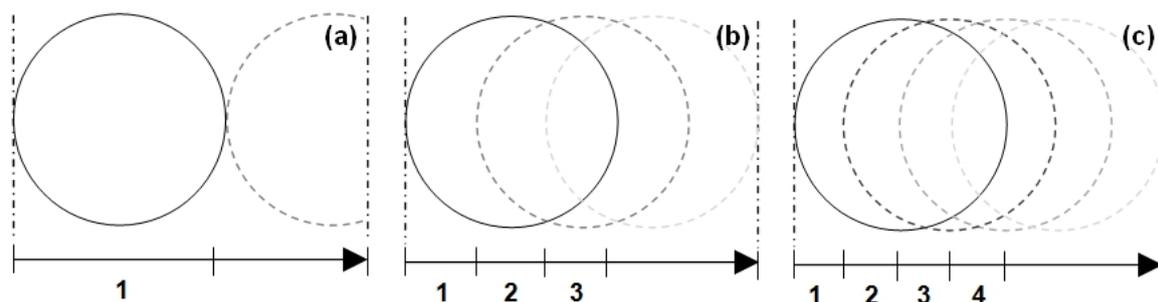


FIGURE 5.5: Impacts du spot laser résultant de l'ablation discrète en mode scanning : (a) avec une vitesse de déplacement évitant les chevauchements des spots laser entre chaque irradiation, (b) en divisant cette vitesse par trois, ou (c) par quatre.

tribution des tailles vers la génération, sous le laser, de plus grosses particules d'aérosol. Ce décalage serait lié à l'accumulation de chaleur à la surface de l'échantillon, générée par les tirs précédents (Barreda, 2010).

Tous ces paramètres ont ainsi été modulés et confrontés lors de divers tests analytiques. Parmi ces tests, trois méthodes ont été retenues pour être présentées dans ce manuscrit. Elles sont résumées dans le Tableau 5.1.

	METHODE 1	METHODE 2	METHODE 3
<b>Éclairement</b>	3 J/cm <sup>2</sup>	1 J/cm <sup>2</sup>	1 J/cm <sup>2</sup>
<b>Taille du spot</b>	20 μm	20 μm	35 μm
<b>Fréquence du laser</b>	10 Hz	7 Hz	8 Hz
<b>Vitesse de déplacement</b>	72 μm/s	72 μm/s	96 μm/s
<b>Durée d'une séquence d'ablation</b>	40 s	45 s	85 s

Tableau 5.1: Paramètres du laser utilisés pour les trois méthodes de prélèvement par ablation.

La méthode 1 est caractérisée par les valeurs d'éclairement et de fréquence du laser les plus élevées et par la plus petite taille de spot. La méthode 2 permet d'ablater des rasters de tailles équivalentes, mais à plus faible éclairement et fréquence, et a été pensé comme une version adoucie de la méthode 1. La méthode 3 est proche de la méthode 2 en termes d'énergie et de fréquence du laser. Toutefois le motif ablaté est plus grand, la taille de spot choisie étant presque doublée et le temps d'ablation plus long. Ceci a été confirmé par l'observation des surfaces ablatées par MEB. Quelques images sont montrées sur la Figure 5.6. Pour compenser, dans ce cas, la quantité de matière plus importante soumise à analyse, les vitesses de déplacement de l'échantillon sous le spot sont plus rapides.

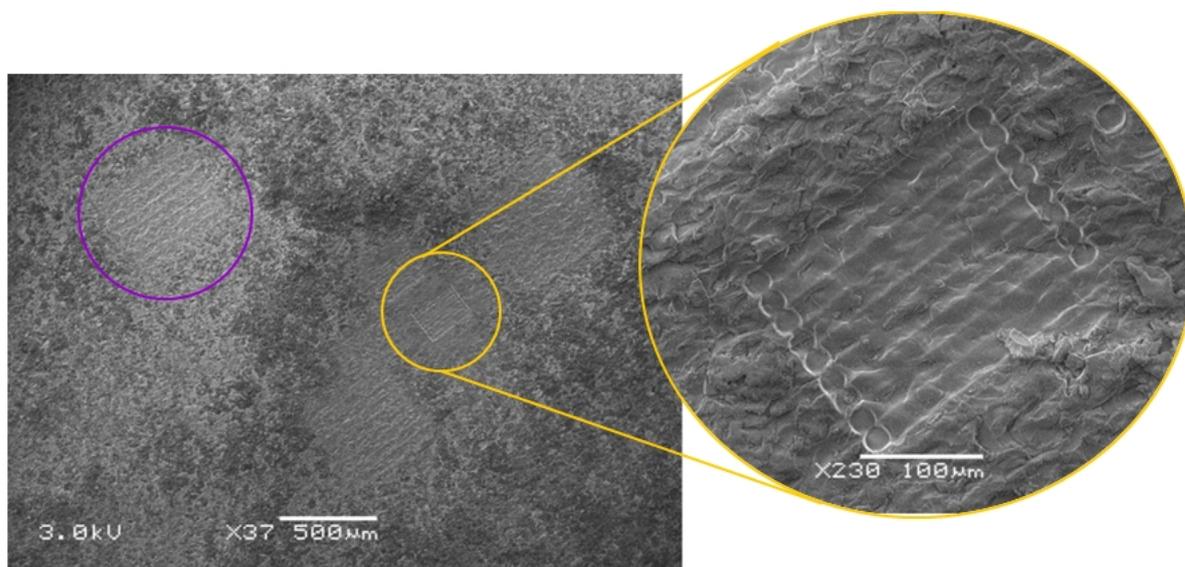


FIGURE 5.6: Images MEB (mode de détection d'électrons rétro-diffusés) de la surface d'un verre MORB3 altéré dans l'EUP, ablatée à divers endroits. Les plus petits rasters (l'un d'entre eux est repéré en jaune) correspondent aux méthodes d'ablation 1 et 2, tandis que les rasters les plus larges (en violet) ont été ablatés selon la méthode 3.

---

| CALIBRATION |

---

La principale limite d'une analyse par ICP-MS est qu'elle peut être gênée par des interférences isobariques et polyatomiques lorsque l'on souhaite doser deux espèces différentes mais dont le rapport  $\frac{\text{masse}}{\text{charge}}$  est trop proche pour être résolu. Pour les éléments d'intérêt, la mesure du fer est particulièrement interférée par l'argon du plasma ou par le calcium ( $^{56}\text{Fe}/^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+ / ^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$ ). Plusieurs recouvrements isotopiques gênent également la mesure du calcium ( $^{40}\text{Ca}/^{40}\text{Ar}^+$ ,  $^{43}\text{Ca}/^{27}\text{Al}^{16}\text{O}$ ,  $^{44}\text{Ca}/^{28}\text{Si}^{16}\text{O}^+$ ) ou du potassium ( $^{38}\text{K}/^{38}\text{Ar}^{1}\text{H}^+$ ). Ces interférences ont été prises en compte dans le choix des espèces à doser.

Deux matériaux de référence (verres NIST 610 et 612), dont les compositions sont données en Annexe dans le Tableau 6.9, ont été testés. NIST 610 a été utilisé comme étalon externe, tandis que NIST 612 a été analysé en tant que contrôle entre chaque échantillon.

L'analyse par LA-ICP-MS nécessite aussi la prise en compte d'au moins un étalon interne, à savoir un élément dont on connaît la teneur dans le matériau que l'on souhaite analyser.  $^{29}\text{Si}$  a été choisi pour son abondance dans les standards NIST comme dans les verres soumis à analyse. Toutefois, il est connu qu'au cours des processus d'altération, la composition du verre en surface évolue, s'appauvrissant et s'enrichissant en certains élé-

ments sous l'effet de la lixiviation et de la précipitation de phases secondaires. Dans le cas où la partie superficielle du verre est une palagonite gel (couche de verre hydratée), sa teneur en silicium peut-être considérée comme très proche de celle du verre sain et le silicium peut être envisagé comme un traceur interne de l'altération. Au contraire, pour un stade plus avancé de l'altération, si la surface est couverte de produits secondaires issus de la précipitation des éléments ayant atteint leur limite de solubilité dans la solution, on se trouve en présence d'une couche superficielle de composition inconnue, pour l'analyse de laquelle on ne peut se baser, sans fausser les résultats, sur une teneur en silicium factice.

Ce problème a déjà été soulevé par plusieurs auteurs, pour l'analyse de matériaux dont les éléments constitutifs étaient connus, mais dont les teneurs restaient à élucider. Afin d'optimiser l'étape de quantification, ces auteurs ont eu recours à des méthodes calculatoires de rectification des concentrations brutes obtenues par calibration externe (NIST 610). En se basant notamment sur le fait que la somme des pourcentages d'oxydes (massiques) des éléments constitutifs d'un matériau silicaté est égale à 100, ces calculs donnent lieu à l'obtention de concentrations plus représentatives de la composition de l'échantillon analysé (Halicz et Günther, 2004; Gagnon *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2008; van Elteren *et al.*, 2009; Panighello *et al.*, 2015). Nous nous sommes, dans ce travail, appuyés en particulier sur la méthode utilisée par Gagnon *et al.* (2008). Pour chaque élément, la concentration non-corrigée  $c_{brute}$  a été convertie en concentration d'oxyde. Pour cela, elle a été divisée par la fraction massique  $\varpi_{oxyde}$  de l'élément dans la formule de l'oxyde correspondant (par exemple l'aluminium dans  $Al_2O_3$ ). La somme des concentrations obtenues a ensuite été normalisée à 100% (*i.e.* 1000000 ppm) et chaque concentration d'oxyde convertie en concentration élémentaire  $c_{corrige}$  sur la base de cette normalisation. La formule complète pour la rectification des concentrations brutes est donnée ci-dessous :

$$c_{corrige} = \left[ \sum \left( \frac{c_{brute}}{\varpi_{oxyde}} / 1000000 \right) \times c_{brute} \right] \times \varpi_{oxyde}$$

Pour les deux verres NIST, un pré-nettoyage par ablation de la zone soumise à analyse a été systématiquement effectué. Ces standards ont ensuite été analysés par application des méthodes 1, 2 ou 3, à l'exception près que seuls trois et non pas dix rasters, ont été à chaque fois ablatés.

### 5.2.1.2 Résultats et discussions

La calibration interne ou l'application de la méthode de normalisation selon Gagnon *et al.* (2008), ainsi que les méthodes d'ablation 1, 2 et 3 ont été testées sur les échantillons de référence (NIST 610 et 612), sur le verre MORB3 non-altéré et sur le même verre altéré pendant cinq mois dans une solution d'EUP ou d'AO. Les résultats de ces tests ont permis de

confronter les trois stratégies d'ablation, en termes de justesse, de précision et de sensibilité analytique.

#### *Choix de la méthode de calibration*

Le verre MORB3 altéré pendant 5 mois dans l'EUP a été soumis à analyse. Sur la Figure 5.7, le nombre de coups par seconde (CPS) relatifs au  $^{29}\text{Si}$  a été reporté en fonction de la profondeur ablatée (rasters 1 à 10). La méthode d'ablation utilisée ici est la méthode 1, c'est-à-dire probablement la moins résolue verticalement.

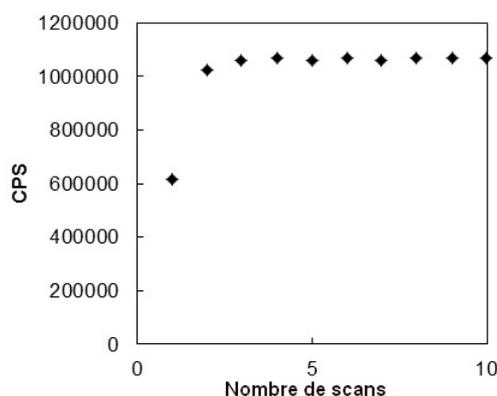


FIGURE 5.7: Nombre de coups par seconde (CPS) enregistrés, en fonction de la profondeur d'ablation (1 pour la surface du verre, 10 pour le verre sain), lors de l'analyse de la teneur en  $^{29}\text{Si}$  de la surface d'un verre MORB3 altéré pendant cinq mois dans l'EUP.

Ces résultats attestent de la présence d'une couche en surface très différente, du moins concernant la teneur en silicium, du reste du verre. Ils témoignent donc *a priori* du caractère problématique d'un étalonnage interne au  $^{29}\text{Si}$ . Sont représentées, dans la Figure 5.8, les concentrations en certains éléments du verre (choisis à titre d'exemple) dans les quatre premiers rasters ablatés, rectifiées en utilisant (1) le  $^{29}\text{Si}$  comme étalon interne ou (2) la méthode de Gagnon *et al.* (2008). Pour plus de clarté, la concentration en chaque élément dans les rasters de verre ablatés a été systématiquement normalisée à sa teneur dans le verre initial non-altéré. Ainsi, une valeur supérieure à 1 (respectivement inférieure) traduira un enrichissement (respectivement un appauvrissement) du verre en l'élément correspondant.

L'application de ces deux méthodes conduit à des résultats significativement différents pour les premiers rasters. Le verre en surface peut parfois apparaître soit enrichi, soit appauvri en un même élément en fonction de la méthode de normalisation utilisée (sodium ou silicium sur la Figure 5.8, mais le même résultat est observé pour le bore ou le potassium). On constate toutefois que plus on pénètre dans le matériau en direction du verre sain, plus ces différences s'amenuisent. Ce résultat confirme que le choix d'un mauvais étalon interne

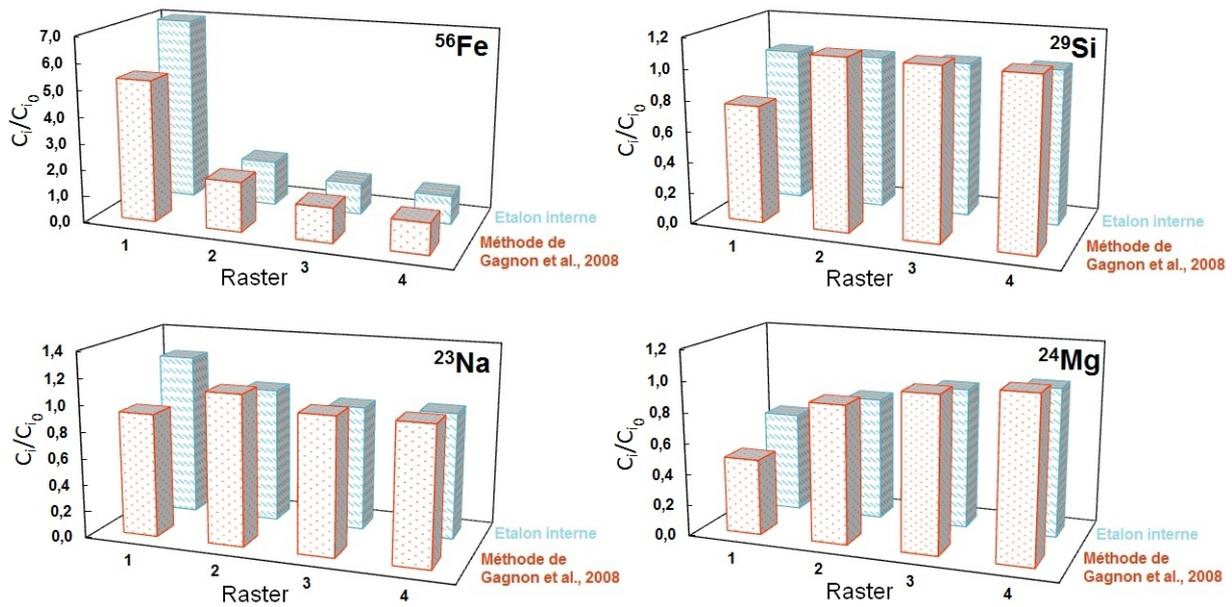


FIGURE 5.8: Concentrations en  $^{56}\text{Fe}$ ,  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{23}\text{Na}$  et  $^{24}\text{Mg}$ , normalisées aux concentrations en ces éléments dans le verre initial et rectifiées par usage d'un étalon interne ( $^{29}\text{Si}$ ) ou par la méthode des oxydes de Gagnon *et al.* (2008).

est risqué, car il peut en contrepartie fausser les valeurs des concentrations de l'ensemble des éléments dosés dans la couche d'altération de composition inconnue. La méthode de normalisation sans étalon interne semble plus juste, puisqu'elle permet d'aboutir, pour la partie non-altérée du verre, à la composition attendue et ne dépend pas, pour les zones de composition inconnue, d'une concentration arbitraire en un élément donné du verre. Au vu de ces résultats et des suggestions trouvées dans la littérature et à défaut de disposer d'un étalon interne pertinent, on appliquera désormais la méthode de normalisation de Gagnon *et al.* (2008) à l'ensemble des scans.

#### *Justesse et précision*

Pour les mesures réalisées sur le verre NIST 612, les erreurs analytiques relatives aux valeurs certifiées des concentrations élémentaires dans ce verre sont données dans le Tableau 5.2.

Ces erreurs sont systématiquement inférieures à 10 % pour les trois méthodes utilisées, ce qui est une valeur acceptable pour des mesures en ablation laser (Pira *et al.*, 2012; Yuan *et al.*, 2012). Précisons tout de même que la méthode de calibration de Gagnon *et al.* (2008) n'était pas pertinente ici. En effet, les verres NIST étant constitués d'un très grand nombre d'éléments traces, la somme des pourcentages massiques des éléments dosés dans ces matériaux ne peut être normalisée à 100 sans générer des erreurs. Pour les mesures réa-

	METHODE 1	METHODE 2	METHODE 3
$^{11}\text{B}$	1,1	3,4	7,4
$^{23}\text{Na}$	2,7	4,3	2,3
$^{24}\text{Mg}$	3,5	0,5	4,2
$^{27}\text{Al}$	1,0	5,1	3,3
$^{29}\text{Si}$	-	-	-
$^{39}\text{K}$	2,9	9,3	5,8
$^{44}\text{Ca}$	0,7	4,9	0,1
$^{47}\text{Ti}$	0,4	4,2	0,8
$^{56}\text{Fe}$	9,7	2,6	8,7

Tableau 5.2: Erreurs relatives (%) aux valeurs certifiées des concentrations dans le verre NIST 612, pour les analyses réalisées sur ce standard par les méthodes d'ablation 1, 2 et 3.

lisées sur le verre NIST 612, un étalonnage interne a donc été privilégié.

Les trois méthodes ont ensuite été testées sur un échantillon MORB3 altéré cinq mois dans une solution d'EUP. Pour chaque scan, les concentrations mesurées ont été moyennées et l'écart-type entre toutes les valeurs de réplicats a été calculé. Les erreurs relatives (RSD), pour chaque raster analysé, sont représentées pour le  $^{56}\text{Fe}$  sur la Figure 5.9.

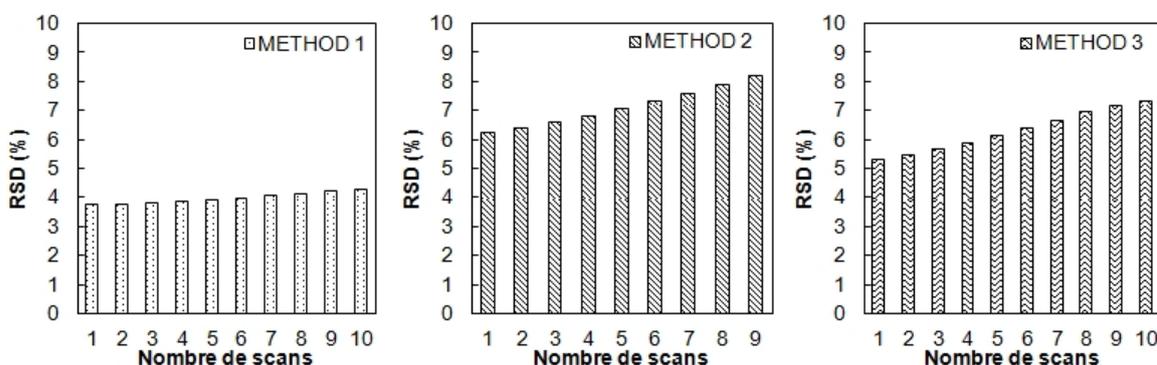


FIGURE 5.9: Erreurs relatives (RSD) pour la quantification des concentrations en  $^{56}\text{Fe}$  dans chaque raster successivement ablaté à la surface du verre, pour chaque méthode d'ablation testée.

De manière générale, les valeurs des RSD sont inférieures à 10%, ce qui atteste de la précision des trois méthodes. On observe une augmentation des RSD avec la pénétration dans le verre. Les RSD les plus faibles et donc témoignant de l'analyse la plus précise, sont obtenues pour la méthode 1.

#### Fractionnement élémentaire

Les phénomènes de fractionnement peuvent être aisément repérés, puisqu'ils correspondent généralement à une évolution de l'intensité du signal détecté au cours d'une me-

sure. On peut calculer un Indice de Fractionnement (IF) pour chaque élément analysé, qui est caractéristique de la stabilité ou de l'instabilité temporelle du signal correspondant. Pour cela, ce signal est divisé en deux parties de durées égales. IF se définit alors comme le ratio entre l'intensité moyenne de la première partie du signal (normalisée à l'intensité du  $^{29}\text{Si}$ ) et l'intensité moyenne de la deuxième partie du signal (également normalisée à l'intensité du  $^{29}\text{Si}$ ). Pour des valeurs de IF avoisinant 1, on conclut généralement que les phénomènes de fractionnement élémentaire sont négligeables.

Pour les trois méthodes et pour tous les scans, les valeurs des IF calculés oscillent globalement entre 0,95 et 1,05 (données non montrées). Des écarts plus importants sont rares, on en relève de manière ponctuelle dans certains scans et pour certains éléments : pour le fer et le titane dans les méthodes 1 ( $IF = 0,7$ ) et 2 ( $IF = 1,3$ ), pour le potassium dans la méthode 3 ( $IF = 1,2$ ). On considèrera donc que les phénomènes de fractionnement sont minimales dans ces expériences.

#### Limites de détection

Les limites de détection (LDs) des éléments analysés ont été calculées pour chaque méthode et dans chaque raster ablaté (1 à 10). Caractéristiques de la sensibilité analytique, elles sont dépendantes de l'élément mesuré, mais également des dimensions de la zone ablatée, de l'allure et de la durée du signal, ainsi que du nombre d'éléments détectés. On note toutefois que pour une même méthode, c'est-à-dire pour un jeu de paramètres (taille du spot, énergie et fréquence du laser...) invariants du premier au dixième raster ablaté, les LDs du premier et des scans suivants diffèrent systématiquement (Tableau 5.3).

	METHODE 1		METHODE 2		METHODE 3	
	<i>Raster 1</i>	<i>Rasters 2-10</i>	<i>Raster 1</i>	<i>Rasters 2-10</i>	<i>Raster 1</i>	<i>Rasters 2-10</i>
$^{11}\text{B}$	0,4	$0,4 \pm 0,04$	1,4	$0,9 \pm 0,04$	0,9	$0,5 \pm 0,02$
$^{23}\text{Na}$	3,4	$3,0 \pm 0,03$	13,6	$8,5 \pm 0,25$	7,2	$4,1 \pm 0,09$
$^{24}\text{Mg}$	0,2	$0,2 \pm 0,02$	1,2	$0,8 \pm 0,05$	0,5	$0,4 \pm 0,04$
$^{27}\text{Al}$	2,4	$2,2 \pm 0,08$	14,4	$9,0 \pm 0,3$	6,7	$4,6 \pm 0,1$
$^{29}\text{Si}$	296,2	$198,3 \pm 3,9$	1222,2	$766,0 \pm 24,0$	427,0	$241,7 \pm 5,07$
$^{39}\text{K}$	2,2	$1,9 \pm 0,03$	7,5	$4,8 \pm 0,1$	3,7	$2,1 \pm 0,06$
$^{44}\text{Ca}$	44,0	$38,7 \pm 0,5$	216,7	$134,4 \pm 4,8$	102,5	$59,9 \pm 0,5$
$^{47}\text{Ti}$	0,8	$0,8 \pm 0,02$	4,1	$2,7 \pm 0,09$	1,2	$1,0 \pm 0,05$
$^{56}\text{Fe}$	6,2	$5,3 \pm 0,08$	24,3	$15,2 \pm 0,5$	9,4	$10,3 \pm 0,2$

Tableau 5.3: Limites de détection (LDs) calculées pour les analyses (en ppb), avec les méthodes 1, 2 et 3 de la surface d'un verre altéré (*Raster 1*) et des couches ablatées suivantes (*Rasters 2-10*). Les erreurs reportées correspondent aux écarts-types entre les valeurs des LDs correspondant à l'analyse des rasters 2 à 10.

Les différences de LDs entre le premier raster et les suivants sont d'autant moins mar-

quées que la méthode d'ablation employée est efficace. En effet, pour la méthode 1, qui combine l'éclairement et la fréquence les plus élevés, les LDs calculées pour le premier scan et les suivants sont proches. La méthode 2, qui utilise les plus faibles énergie et fréquence du laser, est caractérisée par les valeurs de LDs les plus élevées et par une différence marquée entre les scans 1 et 2-10 (LDs presque doublées pour tous les éléments dans le premier scan). Enfin la méthode 3, qui conjugue les faibles éclaircissement et fréquence de la méthode 2 à une taille de laser spot plus importante, est caractérisée par des valeurs de LDs intermédiaires. L'écart entre les LDs calculées pour le premier scan et les suivants est toutefois aussi marqué que pour la méthode 2 (LDs presque doublées pour la plupart des éléments).

Etant donné l'aspect très inégal de la surface d'un verre altéré, la première séquence d'ablation est probablement affectée par ces défauts et irrégularités. On peut donc présumer que le volume ablaté par le premier raster est en conséquence plus faible. Il est donc possible de relier cette augmentation des LDs dans le premier scan à une variation du volume analysé : plus ce volume est faible, plus la sensibilité de la mesure est limitée. Au contraire, au cours des séquences suivantes, pour lesquelles la surface du verre est "conditionnée" par les tirs précédents, le volume soumis à analyse est constant, tout comme les valeurs des LDs. La Figure 5.10 fait le bilan des profils d'ablation attendus, au regard des résultats précédents.

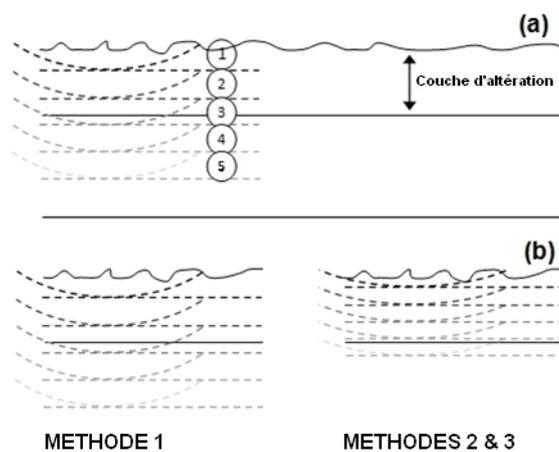


FIGURE 5.10: Représentations schématiques de la surface de verre altérée et des ablations raster après raster, de cette surface. Étant donnée la rugosité de la surface altérée, le volume de matériau ablaté par le premier raster est plus faible que les volumes suivants (a). A partir des valeurs des LDs calculées pour chaque méthode, on peut présumer que les méthodes 2 et 3 permettent une analyse subtile de la surface du verre, tandis que la méthode 1 fait une analyse plus en profondeur (b).

#### *Profils de composition*

Les profils des concentrations des éléments du verre, concentrations normalisées aux concentrations dans le verre avant altération, sont représentés pour les trois méthodes d'abla-

tion dans la Figure 5.11.

Il apparaît clairement que la méthode 1 ne permet pas de nuancer les concentrations dans les parties altérées ou non-altérées du verre MORB3 sur plus de deux scans. Les résultats obtenus attestent simplement de la présence d'une couche en surface enrichie en aluminium, fer et titane par rapport au verre sain. Au contraire, les méthodes 2 et 3, moins agressives, mettent en évidence des variations de la composition du verre, pour tous les éléments, dans les scans 1 à 5. Pour la suite, on favorisera dorénavant la méthode 3. Elle ne diffère, en terme de justesse et de précision, finalement radicalement pas de la méthode 2, mais on privilégiera les valeurs de RSD les plus faibles (Figure 5.9). De plus, les valeurs des LDs suggérant une surface du verre très irrégulière, l'ablation de plus larges rasters est un bon moyen d'améliorer la sensibilité de l'analyse de ces surfaces faiblement altérées.

Etant donnée la non-évolution des concentrations après ablation du raster 6, les profils de composition obtenus grâce à la méthode 3 ont été retracés entre les scans 1 et 6 (Figure 5.12). Les concentrations en fer (5,6) et titane (5,2) dans le scan 1 ont été momentanément écartées pour une meilleure visualisation de l'évolution des compositions, d'un élément à un autre.

En surface du verre, on est donc en présence d'une phase très différente du verre sain, riche en fer et titane, enrichie en aluminium. L'enrichissement en fer et titane est intéressant puisque ce résultat va à l'encontre des études sur l'altération des verres basaltiques faisant l'approximation de l'immobilité du fer et du titane dans la pellicule d'altération pour caractériser l'évolution des autres éléments (Zhou et Fyfe, 1989). Dans ces études, la mobilité des éléments du verre est généralement évaluée vis à vis du titane, que l'on admet immobile au vu de sa très faible solubilité à pH neutre. Nos résultats appuie plutôt l'hypothèse du caractère isovolumique de la palagonite, faite par des auteurs n'observant pas au niveau de la zone altérée ni la compaction, ni l'expansion du volume du verre initial (Jercinovic *et al.*, 1990; Stroncik et Schmincke, 2001). Une telle approximation conduit souvent à l'obtention d'un enrichissement en fer et titane de la palagonite, difficile à expliquer et remettant souvent en cause la théorie du caractère isovolumique du gel. Nos résultats viennent donc finalement consolider cette hypothèse. Enfin, entre les scans 6 et 2, le verre s'appauvrit en calcium et magnésium et en contrepartie s'enrichit légèrement en silicium, sodium, potassium, bore.

Afin d'attester de la reproductibilité de l'analyse, des mesures ont été réalisées à trois endroits différents de la surface du verre MORB3 altéré cinq mois en EUP. Les profils des concentrations élémentaires mesurées sont représentés sur la Figure 5.13 (a, version zoomée

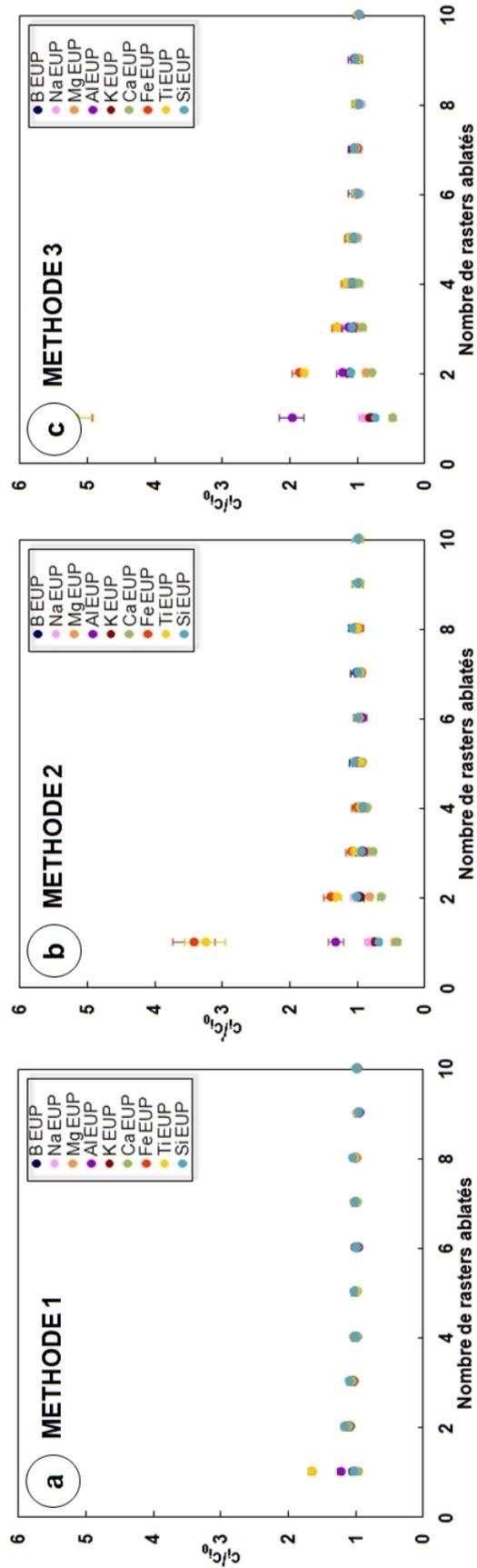


FIGURE 5.11: Concentrations aux concentrations dans le verre avant altération) des éléments B, Na, Mg, Al, K, Ca, Fe, Ti, Si depuis la surface altérée (raster 1) jusqu'au verre frais (rasters 6 à 10), mesurées grâce aux méthodes de prélèvement 1 (a), 2 (b) et 3 (c) et rectifiées par la méthode d'étalonnage de Gagnon *et al.* (2008).

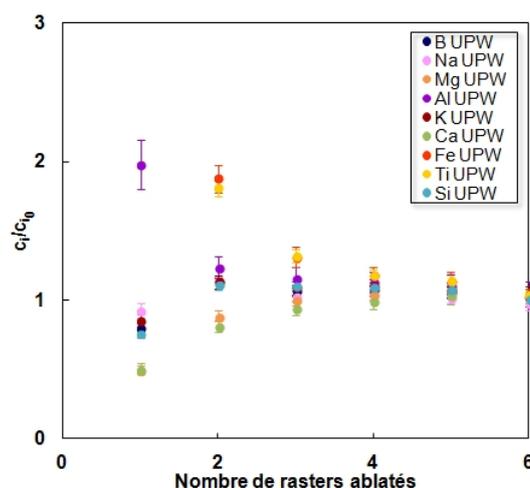


FIGURE 5.12: Concentrations (normalisées aux concentrations dans le verre avant altération) des éléments B, Na, Mg, Al, K, Ca, Fe, Ti, Si depuis la surface altérée (raster 1) jusqu'au verre frais (raster 6), mesurées grâce à la méthode de prélèvement 3 et rectifiées par la méthode de Gagnon *et al.* (2008).

en b). En parallèle, trois analyses d'un verre MORB3 altéré en présence d'AO ont également été réalisées et les résultats sont représentés sur la Figure 5.13 (c, version zoomée en d).

Les résultats donnent lieu, pour une même condition d'altération, à l'observation d'enrichissements/appauvrissements en éléments du verre équivalents d'une mesure à une autre. Les erreurs les plus importantes sont obtenues pour les scans 1 et 2, probablement en raison des variations d'épaisseur de la couche superficielle du verre d'une zone d'impact à une autre. En revanche, ces concentrations varient de manière significative des expériences en eau pure aux expériences en présence d'AO. Pour ces dernières, l'enrichissement plus marqué en fer, titane et aluminium dans le premier raster ablaté témoigne probablement d'une épaisseur d'altération plus importante dans ces conditions, ce qui est en accord avec les conclusions tirées des chapitres précédents et selon lesquelles la présence de ligands accélère significativement la dissolution du verre MORB3. Dans le Chapitre 3, on a montré que la présence d'AO et plus généralement de sidérophores perturbait à court terme les processus de dissolution des verres basaltiques établis dans l'eau pure (cinétiques mais aussi stoechiométrie). Ces perturbations impliquent visiblement la formation de phases d'altération différentes : si le verre s'appauvrit également en calcium et en magnésium entre les rasters 6 (verre sain) et 1 (surface altérée), on note cette fois un enrichissement significatif en sodium, potassium, silicium et bore. L'enrichissement en silicium observé pourrait traduire l'existence d'une couche de verre hydratée en surface plus importante qu'en solution d'eau ultrapure. En effet, la présence de ligands en solution tels que l'acide oxalique permet d'augmenter la solubilité de certains éléments normalement insolubles au pH de nos expériences mais ici piégés dans les complexes formés avec ces molécules organiques, retardant ainsi la

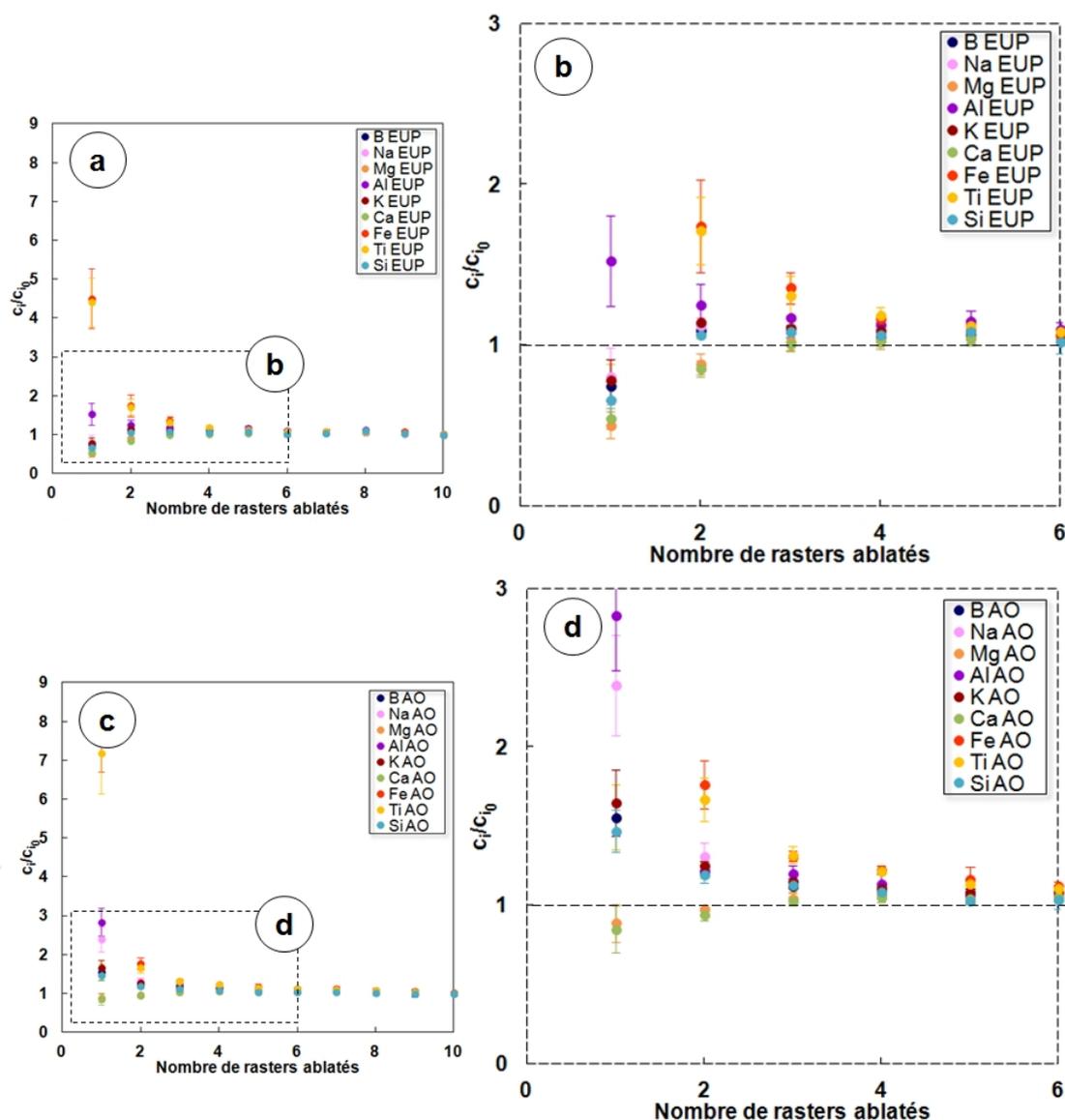


FIGURE 5.13: Concentrations (normalisées aux concentrations dans le verre avant altération) des éléments B, Na, Mg, Al, K, Ca, Fe, Ti, Si depuis la surface altérée (raster 1) jusqu'au verre frais (rasters 6 à 10), pour un verre MORB3 soumis à cinq mois d'altération dans une solution d'EUP (a et b) ou d'AO (c et d).

précipitation de phases secondaires d'altération argileuses typiques des expériences en eau ultrapure. Une autre explication à l'enrichissement en silicium observé est que la dissolution sélective du Fe(III) et de l'aluminium résultant des réactions de complexation avec les sidérophores, en catalysant l'hydrolyse du réseau vitreux, peut aussi favoriser les mécanismes de dissolution/précipitation et la formation d'une couche riche en silice plus consistante et détectable lors des analyses par LA-ICP-MS.

### *Profondeurs ablatées*

Afin d'évaluer la profondeur des profils d'altération établis, un échantillon non-altéré, préalablement poli, a été soumis à analyse par LA-ICP-MS. Des mesures de rugosité ont alors été pratiquées sur cette échantillon, à l'aide d'un rugosimètre *Nikon* (objectif x10, ouverture numérique 0,30) disponible au *Laboratoire de Recherche des Monuments Historiques*. Le rugosimètre utilisé est composé d'un système d'acquisition *SurPhase* et d'un logiciel de traitement *GetPhase*, édités par l'entreprise *PhaseView*. L'acquisition a été réalisée en mode *Roughness*. Quelques images (dimensions en  $xy$  665 x 532  $\mu\text{m}$ ) et profils en  $z$  (résolution 0,07  $\mu\text{m}$ ) reconstruits sont donnés dans la Figure 5.14.

Ces mesures mettent en évidence des rasters très peu profonds. Les deux premiers et derniers sillons ablatés apparaissent systématiquement moins profonds (profondeur estimée entre 1 et 2  $\mu\text{m}$ ) que les lignes définissant le centre du raster (profondeur au moins égale à 3  $\mu\text{m}$ ). On observe aussi un certain relief (jusqu'à +1,3  $\mu\text{m}$ ) entre les sillons ablatés, témoignant probablement d'un dépôt formé lors des processus d'ablation successifs.

Ces résultats nous permettent finalement d'affiner l'estimation faites de l'épaisseur de la couche d'altération en surface du verre. Un raster étant constitué de dix scans successifs, creusant progressivement la surface du verre, et l'analyse permettant de distinguer une composition, en surface du verre, différente de celle du verre sain sur cinq scans environ, on peut envisager que le verre est altéré sur une épaisseur au moins inférieure à 1,5  $\mu\text{m}$ .

## **5.2.2 Couplage aux analyses liquides**

### **5.2.2.1 Composition des solutions altérantes**

Les concentrations des solutions récupérées après un, deux, trois, quatre et cinq mois d'expériences d'altération sont données en Annexe dans le Tableau 6.10. Les pertes de masse normalisées (NLs) en fonction du temps sont représentées sur la Figure 5.15.

De manière générale, on constate que la dissolution du verre est plus rapide en présence d'AO, les NLs du silicium à cinq mois d'altération étant multipliées par quatre par rapport aux expériences en EUP. Le magnésium et le fer ne sont pas détectés, ce qui suggère leur précipitation sous forme de produits secondaires. Les profils de dissolution de l'aluminium témoignent aussi d'une saturation probable de la solution en cet élément (concentrations constantes en EUP, décrochement important en présence d'AO). Le calcium est massivement relâché du verre entre un et cinq mois d'altération. Enfin, les NLs du silicium augmentent

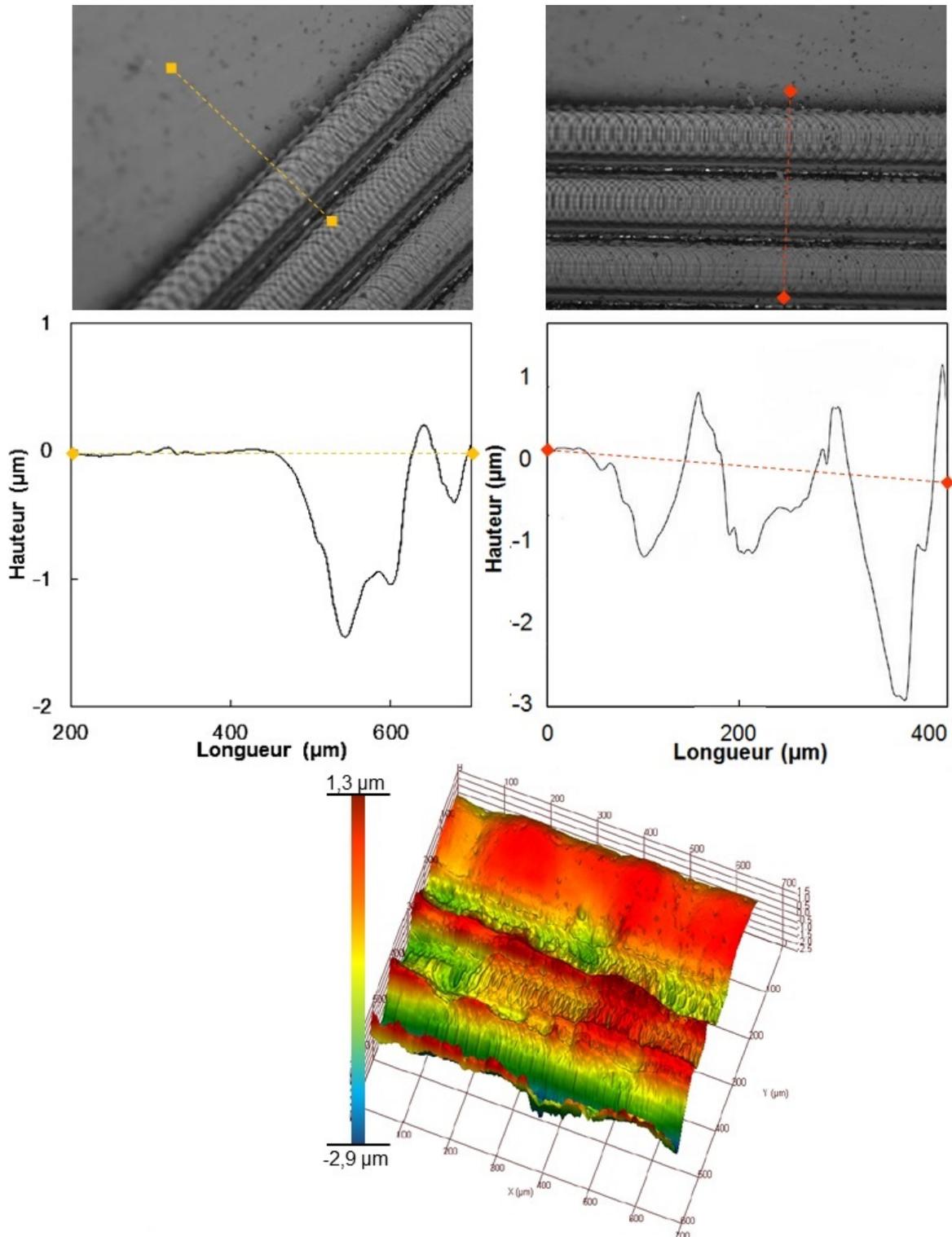


FIGURE 5.14: Reconstructions en trois et/ou deux dimensions de la rugosité de surface d'un verre non-altéré poli, soumis à ablation laser par la méthode 3 de prélèvement mise au point dans ce chapitre. Les segments en pointillés matérialisent les axes selon lesquels la reconstruction en deux dimensions a été effectuée.

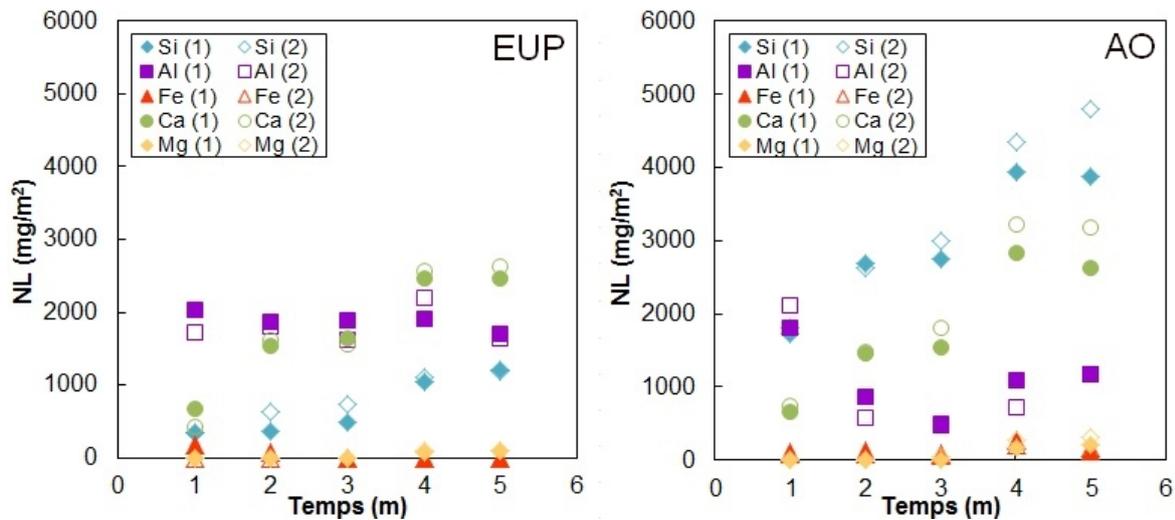


FIGURE 5.15: Pertes de masse normalisées (NLs) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg d'un verre MORB3 au contact d'une solution d'EUP ou d'AO pendant cinq mois.

constamment entre un et cinq mois d'expérience.

Les épaisseurs d'altération  $e$  ont été calculées à partir de la chimie de la solution, d'après la relation :

$$e = \frac{NL_{Si}}{\rho}$$

où  $\rho$  est la masse volumique d'un verre basaltique soit  $2,7 \text{ g/cm}^3$  (Verney-Carron *et al.*, 2011). Les valeurs de ces épaisseurs d'altération sont données dans le Tableau 5.4.

	EUP	AO
1 mois	$0,13 \pm 0,01$	$0,65 \pm 0,02$
2 mois	$0,19 \pm 0,07$	$0,98 \pm 0,01$
3 mois	$0,23 \pm 0,07$	$1,06 \pm 0,06$
4 mois	$0,40 \pm 0,02$	$1,53 \pm 0,11$
5 mois	$0,44 \pm 0,01$	$1,61 \pm 0,24$

Tableau 5.4: Épaisseurs d'altération (en  $\mu\text{m}$ ) calculées à partir de la composition en Si des solutions d'EUP ou d'AO au contact du verre MORB3, après un, deux, trois, quatre et cinq mois d'altération.

On insistera sur le fait que ces épaisseurs sont factices, puisqu'elles représentent finalement le volume de verre dissout. Ce calcul rapide ne tient donc pas compte des possibles réprécipitations de produits secondaires à la surface du verre. Elles sont toutefois un bon moyen d'estimer l'épaisseur de la couche formée. On remarquera d'ailleurs la bonne corrélation entre ces valeurs et les épaisseurs constatées en MEB (§5.1).

### 5.2.2.2 Simulation

CHESS est un code de spéciation chimique, mis au point par l'École Nationale Supérieure des Mines de Paris (van der Lee et de Windt, 2002) et utilisé pour la modélisation des systèmes aqueux complexes. Il permet de prévoir, dans de tels systèmes, la spéciation des éléments chimiques et leur distribution entre différentes formes aqueuses, différents états d'oxydo-réduction et différentes phases minérales, organiques, colloïdales...

Avant tout calcul de spéciation, la comparaison du pH calculé par CHESS, au regard de la composition chimique de la solution et du pH mesuré dans les solutions d'altération, est un bon moyen d'attester de la cohérence des analyses effectuées. Pour calculer ces valeurs théoriques, on prend soin de faire intervenir toutes les espèces présentes en solution (éléments du verre relâchés, espèces tamponnant le pH, éventuels ligands organiques), la température à laquelle la mesure pH a été effectuée et on suppose une balance ionique entre cations et ions  $\text{OH}^-$ . La simulation par CHESS témoigne finalement d'une bonne corrélation avec les pH mesurés dans ces solutions altérantes, avec des écarts aux valeurs théoriques compris entre 0 et 5% et un pH avoisinant 7,5.

La seconde utilisation de CHESS dans ce travail a été le calcul, toujours à partir de la chimie de nos solutions, des indices de saturation (IS) vis-à-vis des produits secondaires attendus lors des processus d'altération des verres basaltiques (argiles, zéolithes, phyllosilicates...). Ces indices se calculent d'après par la formule :

$$IS = \log \frac{Q}{K}$$

où  $Q$  est le produit des activités ioniques et  $K$  la constante de solubilité de la phase. Si  $IS$  vaut 0, la solution est en équilibre avec la phase minérale en question. Si  $IS > 0$  ( $Q > K$ ), la solution est sursaturée vis à vis de cette phase. Si  $IS < 0$  ( $Q < K$ ), la solution est sous-saturée. Pour l'obtention de ces indices, on interdit lors de la simulation toute possibilité de précipitation des éléments analysés sous forme de phases minérales (absentes des solutions altérantes analysées puisque celles-ci sont acidifiées). La base de donnée de CHESS référencant un très grand nombre d'espèces, il est nécessaire de faire une sélection parmi les nombreuses phases minérales proposées. Certaines d'entre elles, se formant notamment dans des conditions extrêmes (très hautes ou très faibles températures), sont par exemple à écarter.

Il est aussi parfois nécessaire d'introduire une espèce non référencée dans la base de données. Les couples acido-basique  $\text{C}_2\text{O}_4\text{H}_2 / \text{HC}_2\text{O}_4^-$  ( $\text{pK}_a = 1,2$  à  $25^\circ\text{C}$ ) et  $\text{HC}_2\text{O}_4^- / \text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  ( $\text{pK}_a = 4,3$  à  $25^\circ\text{C}$ ) ont par exemple été ajoutés pour tenir compte de la présence d'AO dans nos systèmes d'altération. De la même façon, un oxalate de calcium monohydraté (la *wh*-

*wellite* de formule  $\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4)\text{H}_2\text{O}$  a été ajouté parmi les phases minérales de la base de données pour simuler la précipitation potentielle d'une phase d'oxalate, attendue d'après les observations en MEB des surfaces altérées à 25°C (cf. Figure 6.9 en Annexe). La littérature nous donne un produit de solubilité de la whewellite compris entre  $1,30 \times 10^{-9}$  et  $2,32 \times 10^{-9}$  M (Leavens, 1968; Liu *et al.*, 2006; Hernanz *et al.*, 2007) (très insoluble). On a choisi de travailler ici avec  $Q = 2,32 \times 10^{-9}$  M. Les IS relatifs à quelques phases minérales ont été représentés à partir des compositions des solutions après un, deux, trois, quatre et cinq mois d'altération à 45°C.

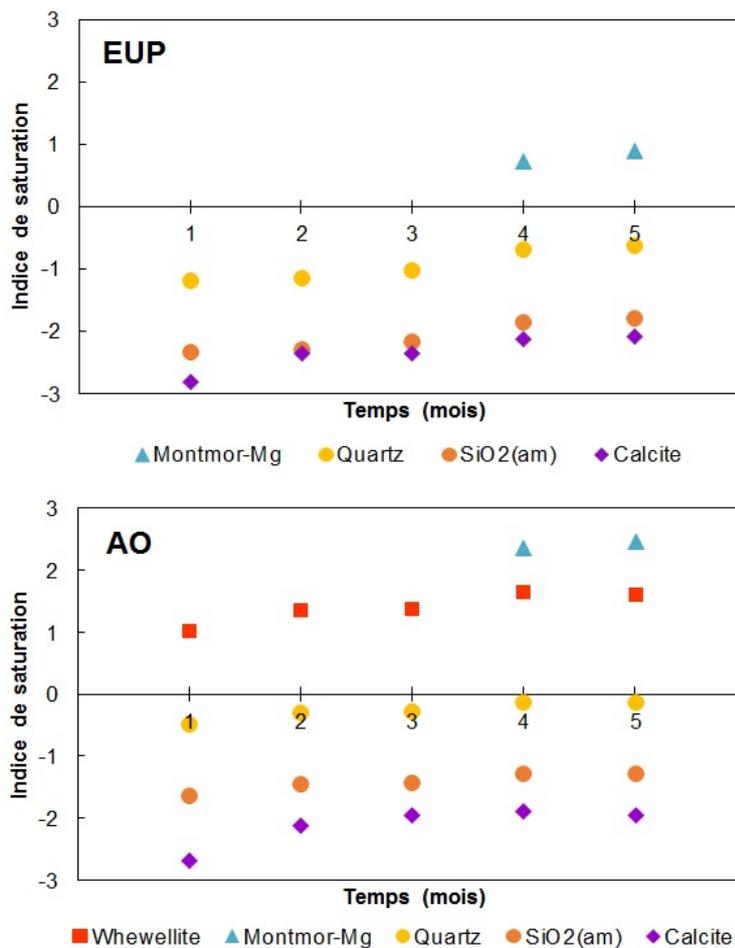


FIGURE 5.16: Indices de saturation vis à vis d'une smectite (montmorillonite magnésienne), de quartz, de silice amorphe, de calcite et de whewellite calculés à partir de la chimie des solutions d'altération dans l'EUP et l'AO après un, deux, trois, quatre et cinq mois à 45°C.

En EUP, la solution est visiblement rapidement à l'équilibre (dès 1 mois) avec une smectite magnésienne, la montmorillonite  $((\text{Na}, \text{Ca})_{0,3}(\text{Al}, \text{Mg})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2, n\text{H}_2\text{O})$ . Elle est de plus sous-saturée vis-à-vis de la silice amorphe et du quartz ( $\text{SiO}_2$ ), ce qui explique le relâchement persistant du silicium en solution, même après cinq mois. La solution est notamment largement sous-saturée vis-à-vis de la calcite.

En présence d'AO, la solution est, de un à trois mois, à l'équilibre avec la montmorillonite. Elle demeure sous-saturée par rapport à la calcite et à la silice amorphe mais est cette fois-ci, en fin d'expérience, à l'équilibre avec le quartz. Elle est de plus largement sursaturée vis-à-vis de la whewellite.

Ces calculs recourent plutôt bien les analyses par LA-ICP-MS, puisqu'ils témoignent *a priori* d'une dissolution plus prononcée du verre en présence d'AO (le silicium dissout est à l'équilibre avec le quartz dans ces solutions) et de la présence d'un phyllosilicate en surface. La présence de whewellite suggère la précipitation de phases d'oxalate, ce qui modifie probablement la chimie en surface du verre, comme attesté par les analyses par LA-ICP-MS. Étant donnée l'absence de fer dans les solutions d'altération entre un et cinq mois d'altération, il n'est pas possible de calculer d'indice de saturation par rapport à des phases minérales/oxydes à base de fer. On peut toutefois supposer que cet élément précipite sous forme d'oxydes/hydroxydes et/ou qu'il est un élément constitutif des phyllosilicates en présence. Le titane n'est quant à lui pas mesuré en solution. Les analyses LA-ICP-MS révèlent que la présence de titane à la surface du verre est fortement corrélée à celle du fer, on admettra donc que ces deux éléments précipitent au sein des mêmes phases secondaires. Si la simulation atteste de la formation d'une phase magnésienne, la prise en compte du fer dans nos systèmes laisse plutôt à penser qu'on se trouve en présence d'une phase argileuse majoritairement constituée de fer, aluminium, magnésium et silicium dont la composition pourrait évoluer au cours du temps. Au vu des résultats LA-ICP-MS, celle-ci serait plutôt, à terme, enrichie en fer et aluminium par rapport au verre sain et appauvrie en magnésium et silicium.

Si le couplage entre les analyses du solide et des liquides fonctionne de façon générale plutôt bien, on s'étonnera tout de même qu'aucun enrichissement en calcium ne soit observé à la surface du verre au contact de la solution d'AO, étant donnée la sursaturation de la solution par rapport à la whewellite. On pourra supposer que les phases d'oxalates formées à la surface du verre sont trop faiblement présentes et/ou l'analyse par LA-ICP-MS pas assez résolue verticalement pour les distinguer du phyllosilicate formé. On peut aussi s'interroger sur la pertinence d'une normalisation des teneurs en éléments du verre par la méthode des oxydes de Gagnon *et al.* (2008) dans le cas d'un verre altéré dans l'AO, puisque la normalisation à la somme des oxydes des éléments du verre ne tient pas compte des phases d'oxalates (et donc carbonatées) probablement formées, ce qui peut fausser l'analyse de la couche superficielle du verre.

### 5.3 Conclusions

On conclura que l'approche développée pour la caractérisation des surfaces altérées de nos verres par LA-ICP-MS donne des résultats sont très encourageants. Ce protocole est d'autant plus intéressant qu'il permet de s'affranchir des contraintes liées à la préparation d'échantillons. La préparation de sections polies pour une observation en MEB d'échantillons présentant une couche d'altération fine (de 1 à 2  $\mu\text{m}$ ) génère par exemple un décollement des parties altérées les plus fines et, dans le pire des cas, provoque à proximité de la surface la fracturation du verre fragilisé par la lixiviation. Ces conséquences malheureuses du travail de préparation des échantillons sont autant d'obstacles à la caractérisation des produits secondaires et à l'estimation des épaisseurs d'altération et donc au couplage avec les données cinétiques obtenues à partir des tests de dissolution. La LA-ICP-MS présente donc d'excellents avantages dans le sens où elle permet une analyse très résolue et immédiate d'échantillons fragiles et/ou précieux et génère des cratères d'ablation quasi-indiscernables à l'œil nu. Toutefois, elle nécessite un travail d'optimisation conséquent en amont (en particulier pour le choix des méthodes de calibration, paramètres du laser, estimation du volume ablaté). De plus, pour des couches d'altération de compositions inconnues, la méthode de normalisation des concentrations peut générer des erreurs, comme on a pu le voir pour le verre MORB3 altéré dans l'AO. La stratégie à adopter pour la quantification des concentrations mériterait donc d'être optimisée, en se penchant notamment sur des méthodes de normalisation similaires, mais faisant intervenir plusieurs étalons externes (Liu *et al.*, 2008; van Elteren *et al.*, 2009). Cette technique est néanmoins idéale pour l'analyse d'échantillons issus d'expériences d'altération comme celles pratiquées sur nos verres basaltiques, puisque le couplage à la chimie des solutions altérantes et à la simulation fonctionne bien et permet de caractériser la phase silicatée inconnue formée à la surface du verre et, par des mesures de rugosimétrie des zones ablatées, d'estimer l'épaisseur de cette couche d'altération.

## Chapitre 6

# Synthèse des résultats et conclusions

Un facteur important contrôlant la disponibilité du fer dans les océans est la solubilité des roches porteuses de cet élément. Cette solubilité est en outre influencée par le pH, les conditions aérobie/anaérobie et la concentration en molécules complexants le fer. Ce travail de thèse a finalement démontré que ces paramètres pouvaient être modifiés par la présence d'une souche bactérienne hétérotrophe ferri-réductrice et productrice de sidérophores. Pour faire le bilan de cette action bactérienne, on mettra en avant, dans cette dernière partie, trois aspects majeurs de ce travail :

{ 1 } Un aspect méthodologique, en faisant l'évaluation de la pertinence des expériences menées vis-à-vis des conditions d'altération des verres basaltiques océaniques.

{ 2 } La traduction, d'un point de vue cinétique, de l'affinité particulière de *P. aeruginosa* pour le fer : influence du redox des verres impliqués et des mécanismes déclenchés. Un élargissement de ces résultats au contexte océanique sera discuté en détails.

{ 3 } Les conséquences *secondaires* de cette affinité privilégiée pour le fer : rôle de l'aluminium et des complexes  $Al^{3+}$ -pyoverdine.

On conclura enfin sur les perspectives scientifiques de ce travail.

## 6.1 Retour sur les stratégies expérimentales

Ce travail entend être une approche purement mécanistique des processus de bioaltération des verres basaltiques, sans toutefois occulter le contexte de l'altération des verres basaltiques naturels, s'opérant principalement en milieu océanique et donc au contact de diverses souches bactériennes marines. Avec du recul, le parti pris, dès les premiers instants de cette thèse, de décomposer les systèmes naturels en situations expérimentales simples et de s'attarder sur la réalisation d'expériences abiotiques avant de faire intervenir le vivant a finalement été validé, puisqu'ayant permis :

1/ d'aboutir, à certains stades expérimentaux, à des résultats ensuite remobilisés lors de l'interprétation de résultats d'expériences réalisées à des stades plus avancés. Ce fut notamment le cas pour les expériences en eau pure et en présence de divers sidérophores (Chapitre 3). Ces dernières nous ont donné la possibilité de mettre précisément en évidence l'action de ligands complexant le fer, notamment de la desferrioxamine-B, sur les réactions de dissolution. Ces résultats se sont avérés absolument nécessaires à la compréhension des systèmes verre/milieu de culture/pyoverdine et notamment à la distinction des réactions de complexation des sidérophores avec le fer et l'aluminium. Grâce à ces expériences en eau pure, des analogies entre les sidérophores desferrioxamine-B et pyoverdine ont également pu être mises en lumière. Il est même parfois apparu nécessaire, afin de préciser un résultat, de se recentrer sur des systèmes plus simples (*cf.* les expériences en solution de pyoverdine en fin de Chapitre 4).

2/ de compléter, par nos données sur les cinétiques de dissolution des verres basaltiques en présence de divers ligands, une littérature regorgeant déjà d'un nombre important de données sur les vitesses de dissolution (la plupart du temps loin de l'équilibre) de phases minérales silicatés/oxydes, notamment en présence d'acide oxalique et de desferrioxamine-B, mais traitant rarement des verres aluminosilicatés.

3/ d'explorer de nouvelles pistes expérimentales, en introduisant par exemple dans la littérature des données sur l'impact d'un sidérophore spécifique du Fe(II) (la 2,2'-bipyridyle) sur la dissolution des verres basaltiques. Étant donné l'implication du fer dans les réactions auxquelles participent les sidérophores, mais aussi l'abondance du fer sous sa forme réduite dans les roches de la croûte océanique (péridotites, gabbros, basaltes, verres basaltiques), il était intéressant de mesurer l'effet d'une extraction préférentielle du Fe(II) sur la dissolution du

verre.

Notons que depuis au moins deux décennies, la littérature s'enrichit en études discutant la légitimité voire l'utilité d'une détermination expérimentale des vitesses de dissolution des minéraux. Daval *et al.* (2013) soulèvent notamment que les valeurs des vitesses de dissolution *in situ* sont systématiquement très en dessous des vitesses déterminées expérimentalement, jetant le doute sur la représentativité des systèmes en laboratoire et sur la justesse des modèles thermodynamiques permettant de déduire les cinétiques de dissolution à long terme. A titre d'exemple, dans une étude sur la dissolution de plagioclases frais et initialement altérés, White et Brantley (2003) observent que plusieurs milliers d'années seraient nécessaires pour aboutir, expérimentalement, aux cinétiques de dissolution caractérisant les systèmes naturels. Maher *et al.* (2004) attribuent ces différences à l'âge des roches en question, âge conditionnant en outre leur surface réactive. Notons que le choix d'une valeur de surface réactive représentant de manière adéquate la surface d'un échantillon se dissolvant au contact d'un fluide est un problème inhérent aux études d'altération. En raison de la porosité des verres volcaniques naturels, la surface spécifique de tels échantillons est souvent, pour une granulométrie commune, supérieure de plusieurs ordres de grandeur à celle des verres modèles (Gislason et Oelkers, 2003). En conséquence, les réactions de dissolution des roches en systèmes naturels seraient proches de l'équilibre thermodynamique alors que des conditions très largement sous-saturées caractérisent les systèmes expérimentaux.

Des données très récemment publiées permettent toutefois, dans le cas des verres basaltiques, d'établir des passerelles avec les systèmes naturels. Parruzot *et al.* (2015) ont en effet déterminé les vitesses résiduelles d'altération des verres basaltiques et si ces expériences à long terme ont été réalisées à 30 et 90°C, l'extrapolation des vitesses à 5°C (température plus représentative des fonds océaniques), est cohérente avec les valeurs des vitesses d'altération en milieux naturels (Chapitre 1, Figure 1.10). Cette extrapolation a été réalisée en mettant à profit la dépendance en loi d'Arrhenius entre vitesse initiale et température (*cf.* Chapitre 1, §1.2.3.1). L'énergie d'activation de la réaction d'hydrolyse a été choisie d'après les valeurs de Techer *et al.* (2001b) (72,4 kJ/mol pour une eau de mer à pH 8) et de Verney-Carron *et al.* (2011) (76,5 kJ/mol en eau pure). Nous avons donc finalement sélectionné une valeur intermédiaire (74,5 kJ/mol). Le Tableau 6.1 récapitule finalement les vitesses d'altération des verres basaltiques extrapolées à 5°C à partir de quelques données de la littérature et des vitesses de relâchement du silicium déterminées dans le cadre de ce travail, en eau pure (Chapitre 3, Tableau 3.4) et dans un milieu de culture salin (Chapitre 4, Tableau 4.4).

La confrontation des résultats de nos expériences abiotiques avec les vitesses calcu-

	$(\text{g}/\text{m}^2/\text{j})$	$v_0$ $(\mu\text{m}/10^3 \text{ ans})$	$(\text{g}/\text{m}^2/\text{j})$	$v_r$ $(\mu\text{m}/10^3 \text{ ans})$
Guy et Schott (1989)	$5,3 \times 10^{-4}$	68,9	-	-
Gislason et Oelkers (2003)	$5,0 \times 10^{-4}$	65,0	-	-
Verney-Carron <i>et al.</i> (2011)	$7,9 \times 10^{-5}$	10,2	-	-
Morin <i>et al.</i> (2015)	$3,7 \times 10^{-4}$	48,0	-	-
MORB3 {EUP}	$6,1 \times 10^{-5}$	7,9	-	-
MORB3 {MM9}	$3,2 \times 10^{-4}$	41,3	-	-
MORB2 {EUP}	$9,8 \times 10^{-5}$	12,6	-	-
MORB2 {MM9}	$2,9 \times 10^{-4}$	37,4	-	-
Parruzot (2014)	-	-	$2,2 \times 10^{-6}$	0,28 ( $\Delta \approx 50 \%$ )

Tableau 6.1: Vitesses initiales de dissolution ( $v_0$ ), extrapolées pour une température de 5 °C à partir des données de la littérature et des vitesses calculées dans ce travail, et vitesse résiduelle ( $v_r$ ) expérimentalement déterminée par Parruzot *et al.* (2015).

lées par Guy et Schott (1989), Gislason et Oelkers (2003), Verney-Carron *et al.* (2011) et Morin *et al.* (2015) confirme que ces derniers sont en cohérence avec la littérature. Les vitesses calculées sont comprises entre  $6,1 \times 10^{-5}$  et  $5,3 \times 10^{-4} \text{ g}/\text{m}^2/\text{j}$ . De plus, la bonne corrélation entre vitesses résiduelles expérimentales et apparentes (estimées à partir d'échantillons naturels) nous encourage à penser que nos systèmes (sans l'introduction artificielle de sidérophores, ni d'une souche bactérienne) seraient, à long terme, cinétiquement représentatifs des systèmes naturels et qu'il est possible d'extrapoler une vitesse d'hydrolyse jusqu'à  $10^5$  ans (c'est-à-dire avant la cimentation des verres par les processus de zéolitisation) (Chapitre 1, Figure 1.10).

Évidemment, en présence de la souche *P. aeruginosa*, nos "reconstitutions expérimentales" demeurent des reproductions simplifiées des interactions verres basaltiques/eau altérante/ microorganismes s'opérant à basse température à proximité des dorsales océaniques, limitées notamment par la non-porosité de nos échantillons, par l'utilisation d'un milieu de culture simple et la mise en action d'une souche bactérienne unique. Pour cette raison, les données obtenues dans ce travail n'entendent pas être parfaitement transposables aux systèmes naturels, mais plutôt permettre de cibler les impacts cinétiques de la présence de bactéries hétérotrophes, ferri-réductrices et productrices de sidérophores sur la dissolution des verres basaltiques et de discuter ces impacts à long terme. La nécessité de réaliser des tests de dissolution au laboratoire, notamment en présence de souches bactériennes, a d'ailleurs été soulignée par Henri (2015) dans son travail de thèse. Pauline Henri a en effet fait l'étude de l'altération *in situ* d'échantillons de verres MORB3, MORB2 et de verres basaltiques naturels le long de la dorsale Média-Atlantique, sur plusieurs sites actifs du champ hydrothermal de Lucky Strike (*altération hydrothermale*) et sur un site hors-axe situé à l'Est de la dorsale (*altération à basses températures*). Ayant mis en évidence, dans ce travail, la per-

sistance de la classe *Zetaproteobacteria* parmi les communautés microbiennes détectées à la surface des verres et notamment la participation de ces bactéries à l'altération en contexte non-hydrothermal, Henri (2015) suggère une approche culturelle *in vitro*, afin de définir précisément les cinétiques de dissolution en présence de souches pures isolées et caractérisées et de quantifier l'implication de ces bactéries dans les processus d'altération. Une telle approche pourrait permettre de quantifier l'impact des *Zetaproteobacteria* sur la mobilisation du fer contenu dans la croûte océanique. Il apparaît donc que les études en milieu naturel convergent vers la nécessité de travailler au laboratoire avec des systèmes similaires aux nôtres. Toutefois, des auteurs tels que Stockmann *et al.* (2012), Wolff-Boenisch *et al.* (2011) ou Bray *et al.* (2015) observent, dans des études expérimentales faisant intervenir des sidérophores ou des souches productrices de sidérophores, peu ou pas d'effet bactérien sur la dissolution.

Le principal enjeu serait donc finalement de conclure quant à la transposition de nos résultats en milieu naturel et d'estimer quel serait l'impact, à court et long terme, de la présence bactérienne sur la dissolution.

## 6.2 Bilan des mécanismes de bioaltération dégagés

Les bactéries du genre *Pseudomonas* pratiquent la *réduction dissimilative du Fe(III)*, qui est un processus métabolique commun à un ensemble de microorganismes (pour les bactéries on citera les genres *Shewanella* ou *Geobacter*), consistant à utiliser le Fe(III) comme accepteur final d'électrons. Dans le cas des *Pseudomonas*, cette réduction se fait de façon *lithotrophe* (en oxydant en contrepartie l' $H_2$ ).

Ce travail a permis de mettre en évidence le potentiel nutritionnel d'un verre basaltique pour la souche ferri-réductrice *P. aeruginosa*. L'intérêt manifesté par la souche pour nos échantillons basaltiques s'est exprimé sous la forme de diverses interactions, résumées dans la Figure 6.1. On considérera, dans chaque cas, deux populations distinctes : une planctonique (suspension bactérienne) et une sessile (communauté en biofilms). Dans ce travail, les biofilms n'ayant pas été étudiés de manière isolée, on s'est finalement plutôt attaché à définir les mécanismes annexes sans toutefois occulter leur implication dans les processus d'altération.

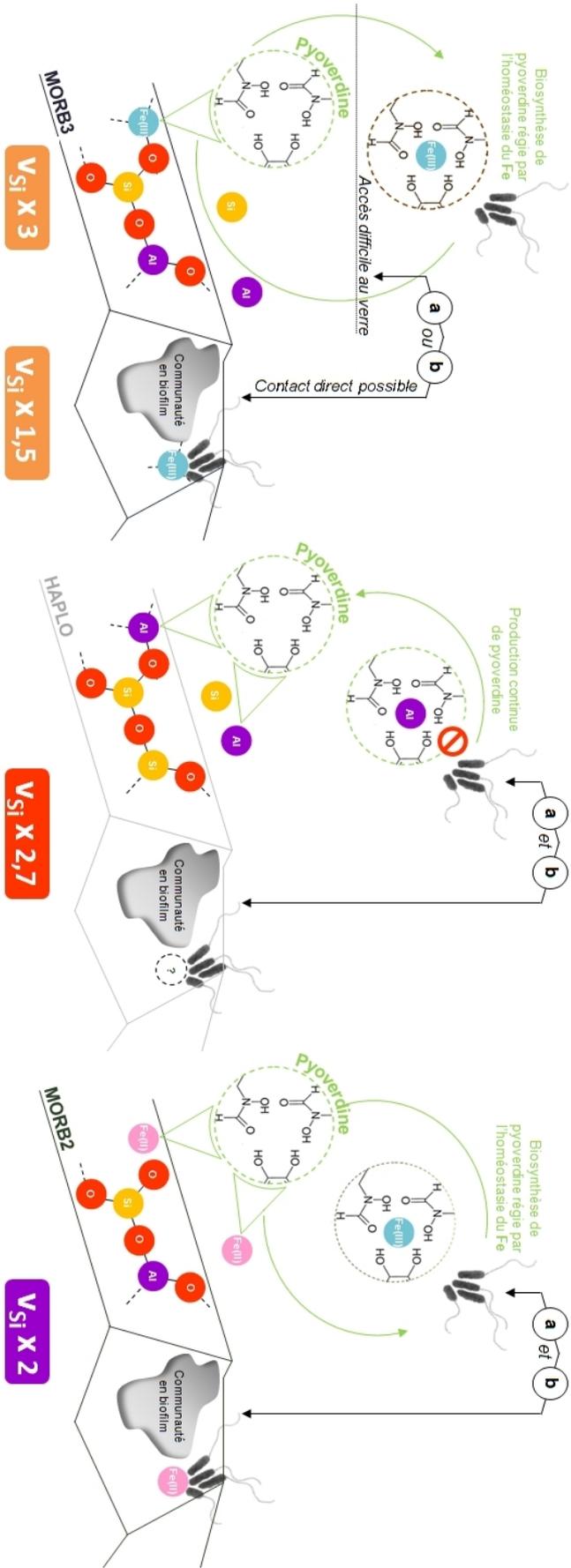


FIGURE 6.1: Bilan des interactions entre la souche *P. aeruginosa* et les verres MORB3, HAPLO et MORB2 (dans cet ordre sur la figure), mettant en jeu les éléments silicium, aluminium, Fe(III) et Fe(II). Les processus découlant d'interactions *indirectes* (a) ou *directes* (b) sont détaillés. Une représentation simplifiée du réseau vitreux est également rappelée pour chaque composition étudiée. L'impact sur les vitesses de dissolution des verres établies dans un milieu stérile ( $V_{Si}$ ) est indiqué sous chaque schéma.

### 6.2.1 Verres porteurs de fer

Nous avons expérimentalement démontré que :

▷ dans un milieu carencé en fer, le seul apport en fer sous la forme d'un verre basaltique suffit à stimuler la croissance bactérienne (la concentration bactérienne à six jours est multipliée par trois par rapport aux expériences de contrôle sans verre).

▷ le fer structural dans ces verres est utilisé comme accepteur final d'électron par *P. aeruginosa*, que le verre soit initialement oxydé ou réduit, et l'effet de la mobilisation du fer sur la croissance bactérienne est équivalent d'une composition à une autre. Les mécanismes impliqués sont néanmoins différents, comme montré par la Figure 6.1.

**Pour le verre MORB3**, l'assimilation de la fraction de Fe(III) soluble (complexé aux phosphates présents dans le milieu de culture) relâché de manière abiotique ne suffit pas à combler les carences bactériennes. Lorsque la surface du verre est aisément accessible à la souche, un contact direct verre/bactéries suffit à satisfaire ses besoins en Fe(III). Au contraire, lorsqu'un contact fer/bactéries n'est pas aisé (situation matérialisée par les expériences à membranes de dialyse), une production même limitée de pyoverdine permet la mobilisation quasi-instantanée (en moins de 24 heures dans nos expériences) du fer structural et favorise la réduction dissimilatrice de cet élément. La production de pyoverdine est ainsi stoppée dès que superflue (*homéostasie du fer*).

**Pour le verre MORB2**, l'existence de fer structural sous un état réduit à la surface du verre ou dans les premiers temps de son relâchement abiotique en solution encourage les cellules à synthétiser la pyoverdine. La présence de pyoverdine en solution favorise immédiatement la réduction dissimilatrice du fer et la croissance bactérienne, *via* la complexation (a) du Fe oxydé au contact de la solution ou (b) du Fe(II) et sa conversion en Fe(III) comme suggéré par Xiao et Kisaalita (1998). La production de pyoverdine est également stoppée dès que les conditions d'*homéostasie du fer* sont atteintes.

▷ la mobilisation du fer structural par une souche ferri-réductrice productrice de sidérophores influe, *via* ces interactions, de manière significative sur les cinétiques de dissolution des verres basaltiques. Les concentrations en silice dissoute, attestant de la dissolution du réseau silicaté, mais aussi en éléments formateurs du verre (aluminium, Fe(III)) et en certains éléments modificateurs du verre (Fe(II) et occasionnellement calcium, magnésium),

ainsi que le calcul des vitesses initiales de relâchement de ces éléments et des indices de stœchiométrie (*RRR*) sont autant de données ayant permis de retracer les schémas de l'altération des verres. L'impact de l'action bactérienne sur les cinétiques de dissolution varie toutefois en fonction du type d'échantillon.

**Pour un verre MORB3**, en l'absence de sidérophore, on prète à la légère accélération de la dissolution du verre ( $\times 1,5$  par rapport aux expériences témoin) (1) l'extraction préférentielle de l'élément formateur de réseau Fe(III) *via* une interaction directe verre/bactérie en surface, (2) la polarisation des liaisons covalentes du réseau induite par l'adsorption des cellules bactériennes à la surface du verre, (3) l'action des biofilms. Mêmes conjugués, ces effets n'influent donc pas de manière drastique sur les cinétiques de dissolution. Ils modifient toutefois la spéciation du Fe(III) en solution par rapport aux expériences de contrôle, puisque ce dernier est totalement incorporé dans les cellules. Au contraire, en présence de sidérophores, même à de faibles concentrations ( $20 \mu\text{mol/L}$ ), le verre MORB3 se dissout trois fois plus rapidement qu'en expériences stériles. Si elle n'a pu être déterminé pour la pyoverdine, on admet qu'il existe une concentration-seuil en sidérophore (liée à une capacité-seuil de la surface du verre à accueillir les molécules de sidérophores) à partir de laquelle la vitesse de dissolution n'augmente plus. L'adsorption des molécules de sidérophores sur les sites Fe(III) à la surface, la complexation du Fe(III) et le détachement des complexes formés favorise la rupture des liaisons covalentes entre formateurs de réseau et atomes d'oxygène et le détachement partiel de tétraèdres de silice, favorisant la réaction de dissolution du verre. Si l'accélération de la dissolution par rapport aux tests de contrôle est franche en régime de vitesse initiale, on notera que la production de pyoverdine est pourtant stoppée dès l'atteinte d'une phase stationnaire de croissance bactérienne.

**Pour un verre MORB2**, on assiste à la dissolution sélective du Fe(II) provoquée par son extraction préférentielle du réseau silicaté *via* des réactions de complexation avec les sidérophores. La faible production de pyoverdine et le relâchement préférentiel d'un cation métallique moins impliqué dans la structure du verre sont autant de raisons d'observer un effet moins impressionnant de l'action bactérienne sur les vitesses de dissolution du verre ( $\times 2$  par rapport aux expériences témoins).

La proximité d'une souche bactérienne ferri-reductrice et d'une source de fer (oxydé ou réduit) sous la forme d'un verre basaltique stimule donc la création d'environnements localisés à l'interface entre le verre et la solution, au sein desquels se produisent un grand

nombre d'échanges entre la surface réactive du verre (fer structural) et les bactéries en phase de croissance exponentielle. Nous avons montré, à faible progrès de réaction, que ces interactions avaient un impact significatif sur la dissolution des trois verres étudiés. Décomposons simplement la vitesse initiale de dissolution d'un verre basaltique en présence de la souche *P. aeruginosa*  $v_0^{Pa}$  :

$$v_0^{Pa} = v_0 + v^{Pa}$$

où  $v_0$  est la vitesse de dissolution en milieu stérile et  $v^{Pa}$  représente la contribution bactérienne aux mécanismes d'hydrolyse du verre. Il est possible, pour chaque verre, d'évaluer le terme  $v^{Pa}$  et d'en déduire le flux de silicium  $\Phi_{Si}$  résultant de l'accélération de la dissolution induite par la présence de la souche par rapport aux expériences abiotiques. Ces données sont fournies dans le Tableau 6.2.

	$v^{Pa}$ (g/m <sup>2</sup> /j)	$\Phi_{Si}$ (mol/m <sup>2</sup> /s)	% <i>Si dissout</i> résultant des processus bactériens
MORB3	$1,4 \times 10^{-3}$	$5,8 \times 10^{-9}$	35
MORB2	$2,4 \times 10^{-3}$	$9,9 \times 10^{-9}$	50
HAPLO	$4,2 \times 10^{-3}$	$1,7 \times 10^{-8}$	62

Tableau 6.2: Evaluation de la contribution de la souche *P. aeruginosa* sur la dissolution du silicium et sur les vitesses d'hydrolyse des verres MORB3, MORB2 et HAPLO.

Prenons l'exemple du verre MORB2, qui est finalement l'échantillon représentant au mieux les verres basaltiques naturels : dans nos expériences, 50% du silicium dissout relâché provient d'une interaction préférentielle entre la souche et/ou ses métabolites et la surface du verre. De plus, en admettant que le fer structural relâché de manière abiotique dans les expériences stériles est entièrement assimilé par les bactéries en phase de croissance, celles-ci ont donc, après six jours, au moins piégé  $2 \times 10^{-6}$  mol de fer soit au moins 0,2% (mol.) du fer initialement présent dans le verre.

Dans l'océan ouvert, les apports en fer sont également faits sous la forme de roches ou de minéraux et la faible concentration en fer dissout joue ainsi fortement sur l'activité biologique. Par exemple, 30% des eaux de surface sont caractérisées par de fortes teneurs en certains macronutriments (nitrates, phosphates) mais par de faibles concentration en fer (<0,2 nmol/kg) qui limitent le développement de la vie (Boyd *et al.*, 2007). La solubilité d'un hydroxyde de fer dans une eau de mer, à pH 8 et à 25°C, est typiquement de 0,01 nM (Liu et Millera, 2002). La présence de fer à des concentrations supérieures à la solubilité inorganique du fer est admise comme étant liée, dans plus de 99% des cas, à la présence de fer sous une forme complexée (Gledhill et Buck, 2012). Il est difficile d'identifier les ligands impliqués dans ces réactions de complexation. Toutefois, des techniques comme la spectrométrie de masse, couplée à des techniques de séparation de type HPLC (*High Performance*

*Liquide Chromatography*) (Velasquez *et al.*, 2011) ou FFF (*Field Flow Fractionation*) (Baalousha *et al.*, 2011), ou encore des techniques de spéciation par voltammétrie (CLE-ACVS pour *Competitive Ligand Exchange-Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry*) (Laglera *et al.*, 2011) ont permis de détecter des ligands de faibles masses moléculaires mais dont les constantes de complexation avec le fer sont très élevées (*sidérophores, acides organiques*) en surface, et des molécules plus imposantes mais plus faiblement complexantes (*notamment les exopolymères*) plus en profondeur (Hunter et Boyd, 2007). On remarque aussi que les concentrations en ligands (*en excès*) sont les plus importantes dans les zones les plus appauvries en fer (Buck et Bruland, 2007). La détermination des constantes de complexation de ces ligands présents en eaux de mer indiquent que la plupart d'entre eux ont des affinités pour le fer très similaires à celles de molécules organiques connues et synthétisées par des microorganismes, suggérant une origine bactérienne très présente (Macrellis *et al.*, 2001). Une limite à l'identification précise des sidérophores marins est notamment le fait que des quantités importantes de sidérophores isolés sont nécessaires pour une caractérisation structurale complète. En raison des faibles concentrations en sidérophores dans l'océan, les seuls sidérophores caractérisables sont finalement ceux produits par des bactéries cultivables en laboratoire, ce qui représente une fraction seulement des sidérophores existant en milieu océanique. La majorité des sidérophores caractérisés sont porteurs de groupements hydroxamates. On attribue la non-détection de sidérophores porteurs de groupements catéchols non pas à leur absence en milieu marin, mais à des limites intrinsèques aux techniques d'analyse utilisées (Gledhill et Buck, 2012). Les techniques d'identification utilisant la spectrométrie de masse sont néanmoins très prometteuses, notamment en raison de leur très forte sensibilité (de l'ordre du pmol - nmol). Celles-ci ont en particulier été employées pour la détection de sidérophores dans les océans Antarctique et Atlantique. Ces études montrent que, dans les zones étudiées, les ferrioxamines sont ubiquitaires à des concentrations de l'ordre de la vingtaine de picomoles et que les complexes qu'elles forment avec le fer représentent entre 0,5 et 5% du fer total dissout (Mwji *et al.*, 2008). Quelques structures chimiques de ferrioxamines sont données dans la Figure 6.2. On note de fortes similarités, en terme de structure et notamment de groupements complexants (nombre et nature), avec la desferrioxamine-B utilisée dans nos expériences.

Si, pour l'instant, on ne trouve pas dans la littérature d'études ayant cherché à quantifier les concentrations en sidérophores en particulier au niveau des gisements basaltiques en coussins, il est admis que les sidérophores sont présents dans des zones où les concentrations en carbone organique sont suffisamment importantes pour soutenir une activité bactérienne significative mais où les concentrations en fer dissout sont faibles (Gledhill et Buck, 2012). La perméabilité des laves en coussins (circulation d'une eau interstitielle enrichie en éléments lixiviés) fait de ces agencements basaltiques des aquifères propices au

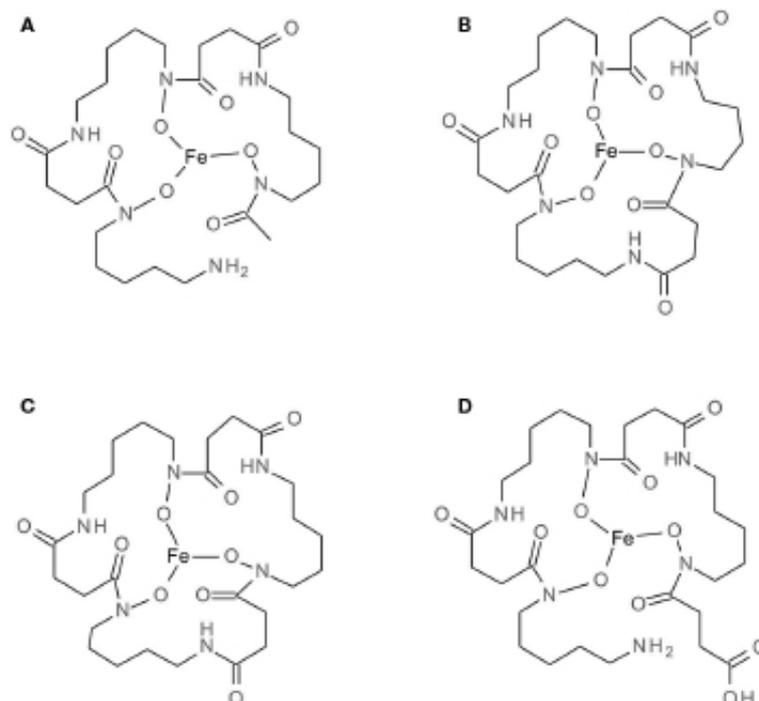


FIGURE 6.2: Sidérophores naturels identifiés dans l'eau de mer ou dans des cultures d'eau de mer incubées au laboratoire : (A) Ferrioxamine B, (B) Ferrioxamine D2, (C) Ferrioxamine E, (D) Ferrioxamine G (d'après Gledhill et Buck (2012)).

développement d'une vie bactérienne et la littérature atteste d'ailleurs d'une activité biologique importante dans ces zones, équivalente voire supérieure à celle des fonds océaniques (Santelli *et al.*, 2008), avec notamment une consommation de carbone estimée à 48 g/an (Bach et Edwards, 2003) et une densité bactérienne estimée entre  $10^6$  et  $10^9$  cellules/g de verre basaltique (Santelli *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2014). Dans nos systèmes, le dénombrement des Unités Formant Colonies nous permet d'aboutir à une concentration de bactéries en suspension dans le milieu de culture de  $10^{12,0} \pm 10^{2,5}$  /g de verre basaltique après six jours d'expérience. Ce nombre ne tient pas compte des bactéries fixées à la surface des grains. Soulignons toutefois que, dans nos expériences d'altération et en particulier pour le verre MORB2, la fixation des cellules en surface des échantillons était minime et que la présence ou l'absence de membranes de dialyse ne modifiait pas les cinétiques de dissolution. Ceci mettait en évidence, pour le verre MORB2, la primauté d'une action *indirecte* (production de ligands, augmentation locale du pH). Malgré tout, la contribution des microorganismes aux processus de dissolution des verres basaltiques dans nos expériences est très probablement surestimée. Celle-ci étant prépondérante dans nos systèmes, il est néanmoins légitime de considérer qu'elle n'est pas négligeable en milieu naturel.

Un certain nombre d'auteurs se sont récemment efforcés d'identifier les souches bacté-

riennes en subsurface des verres basaltiques océaniques, le plus souvent en extrayant l'ADN génomique des échantillons prélevés dans ces aquifères et en amplifiant notamment les régions correspondant au gène codant pour l'ARNr 16S par la technique de la *réaction en chaîne de la polymérase* (Thorseth *et al.*, 2001; Lysnes *et al.*, 2003; Santelli *et al.*, 2008; Henri, 2015). Ces échantillons ont été prélevés à divers endroits du globe (dorsale Médio-Atlantique, dorsale Arctique, sud de l'Océan Indien, est de l'Océan Pacifique, Hawaï...) et les analyses phylogénétiques se recoupent entre elles et révèlent plusieurs informations intéressantes, notamment que :

1/ les populations microbiennes dans les habitats basaltiques diffèrent de celles trouvées dans l'eau de mer et dans les sédiments océaniques (Thorseth *et al.*, 2001).

2/ les verres basaltiques pourraient constituer une source d'énergie pour des microorganismes *chimolithohétérotrophes* et *chimolithoautotrophes*. Parmi les bactéries, les groupes phylogénétiques principalement recensés sont les *Actinobacteria*, les  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varepsilon$  *Proteobacteria*, les *Bacteroidetes*, *Chloroflexis*, *Firmicutes* et *Planctomycetes* (Thorseth *et al.*, 2001; Santelli *et al.*, 2009; Mason *et al.*, 2009; Orcutt *et al.*, 2011; Henri, 2015). On note en particulier la dominance des  $\gamma$  *Proteobacteria* (Lysnes *et al.*, 2004). Dans une étude sur l'altération de basaltes marins de la dorsale Juan de Fuca (océan Pacifique), l'inoculation, dans un milieu de culture simple, d'un prélèvement des cellules en subsurface de ces roches conduit à l'obtention d'une culture pure d'une souche marine du phylum  $\gamma$  *Proteobacteria*. Selon Thorseth *et al.* (2001), parmi les  $\gamma$  *Proteobacteria*, les communautés recensées sont proches des genres *Vibrio*, *Halomonas* et *Pseudomonas*. De plus, la majorité des bactéries répertoriées pratiquant la réduction dissimilatrice du fer sont membres des classes  $\Delta$  et  $\gamma$  *Proteobacteria* (Nielsen *et al.*, 2002). Lysnes *et al.* (2003) présentent d'ailleurs les souches ferri-réductrices comme les groupes physiologiques clés peuplant les habitats basaltiques.

Il faut évidemment garder en tête que les bactéries cultivables au laboratoire peuvent ne représenter qu'une faible proportion des espèces dans les écosystèmes naturels et ne pas nécessairement avoir une fonction *in situ*. Toutefois, le couplage de ces données à nos résultats encourage fortement à prendre en compte les mécanismes impliquant des bactéries ferri-réductrices et notamment l'action des sidérophores dans les réactions de dissolution des verres basaltiques. La prise en compte des sidérophores est d'autant plus légitime que le choix de notre milieu de culture a probablement minimisé la biosynthèse de ces molécules complexantes. En effet, les résultats de expériences de contrôle ont révélé que les concentrations en fer dissout dans nos systèmes étaient bien au dessus des concentra-

tions maximales mesurées dans les océans ( $< 1,38$  nmol/kg en profondeur d'après Johnson *et al.* (1997)), en raison, notamment, des réactions de complexation s'opérant entre les sels de phosphates initialement présents dans le milieu et le fer structural (Pokrovsky *et al.*, 2009a,b). Ainsi on peut s'attendre, dans ces aquifères, à une production de sidérophores supérieure à  $1,8 \times 10^{-18}$  mol/cellule/j (observée dans nos expériences de dissolution du verre MORB2).

A plus long terme, on peut envisager que l'accélération de la dissolution du verre et notamment le départ plus rapide des éléments formateurs favorise les mécanismes de dissolution/précipitation évoqués dans le Chapitre 1 (§1.2.1.1) et la formation d'une couche de silice amorphe/palagonite gel à l'interface surface/solution. Benzerara *et al.* (2004, 2005), par des observations en Microscopie Electronique à Transmission à haute résolution, font d'ailleurs état de la présence d'une pellicule de silice amorphe à la surface de pyroxènes bioaltérés. L'hydrolyse se poursuit tandis que se forme cette couche poreuse, n'empêchant pas, mais ralentissant le transport de l'eau et les échanges entre solution et éléments structuraux du verre. On note par exemple la chute des coefficients de diffusion des espèces alcalines de deux ordres de grandeurs dans la pellicule d'altération (*cf.* Chapitre 1, §1.2.3.1). Rappelons les travaux d'Oulkadi *et al.* (2014a) sur la dissolution de phyllosilicates piégées dans un gel de silice poreux interdisant l'accès aux bactéries mais autorisant le passage des sidérophores : ces auteurs démontrent que la diffusion des ligands organiques dans ce gel est suffisante pour qu'ils accèdent aux phyllosilicates qui représentent un intérêt nutritif pour les microorganismes. Dans nos systèmes, la formation de la palagonite-gel pourrait donc ne pas être incompatible avec la poursuite des mécanismes de dissolution gouvernés par la complexation et la libération du fer ou de l'aluminium structuraux. Le piégeage du fer, de l'aluminium ou du magnésium dans les complexes formés avec les ligands organiques ou dans les organismes cellulaires peut également inhiber/ralentir la formation des argiles typiquement observées lors de la dissolution abiotique des verres basaltiques. Dans nos expériences abiotiques en présence de sidérophores, on n'observait d'ailleurs pas, après 105 jours, le phyllosilicate formé en surface d'un verre immergé dans une solution d'eau ultrapure (*cf.* Figures 6.8 et 6.10 en Annexe). Parmi les résultats présentés dans le Chapitre 5, l'enrichissement en silicium observé dans plusieurs rasters ablatés à la surface du verre MORB3 altéré en présence d'acide oxalique (autre ligand complexant le fer) est également en faveur d'une couche de silice amorphe/gel d'altération/verre hydraté plus consistante dans ces expériences. Plutôt que d'affirmer de manière tranchée que les bactéries inhibent à terme la dissolution des verres basaltiques, on préférera envisager que les répercussions, à plus fort progrès de réaction, de l'action de *P. aeruginosa* sur la dissolution sont plus nuancées et se traduisent par :

▷ la formation accélérée d'une couche passivante (1) stimulant la production de sidérophores

puisqu'empêchant toute interaction directe verre/bactérie et (2) freinant la réaction d'hydrolyse initiale mais n'empêchant pas l'interaction avec ces sidérophores.

▷ le retardement de la précipitation de certaines phases secondaires, auxquelles on prête un ralentissement de la dissolution en conditions abiotiques.

Le rôle des biofilms, tantôt considérés comme inhibiteurs ou accélérateurs de dissolution (cf. Chapitre 1, §1.2.3.3), est quant à lui encore une fois difficile à évaluer dans cette étude. Toutefois, nos résultats ne témoignent pas d'un effet négatif du biofilm sur les cinétiques de dissolution.

### 6.2.2 Verres sans fer

Dans ce travail nous avons aussi démontré que :

▷ l'affinité particulière des sidérophores pour l'aluminium pouvait, de manière plus ou moins franche, accélérer la dissolution des verres basaltiques ( $\times 1,6$  pour la DFA,  $\times 12$  pour la pyoverdine), par des mécanismes équivalents à ceux établis pour les verres porteurs de Fe(III), mais faisant intervenir l'aluminium structural. On soupçonne la pyoverdine, dont la valeur de la constante de complexation avec l'aluminium est à ce jour inconnue, de former des complexes extrêmement stables avec cet élément, tant elle s'est avérée efficace à solubiliser l'aluminium constitutif du verre, ainsi qu'à extraire le Fe(III) dans les expériences en eau pure.

▷ la présence d'une souche ferri-reductrice telle que *P. aeruginosa* influait de manière considérable sur la dissolution d'un verre aluminosilicaté sans fer. On attribue cette influence à la production continue de pyoverdine dans ces systèmes vierges de toute source de fer, production encouragée par la formation de nouveaux complexes  $Al^{3+}$ -pyoverdine. Le mécanisme est résumé sur la Figure 6.1. Un des résultats les plus inédits de ce travail est donc finalement qu'une souche ferri-réductrice produisant des sidérophores favorise de manière plus significative l'altération de roches non-porteuses de fer.

▷ la suprématie du fer, quel que soit son redox, dans les réactions de complexation avec les sidérophores. En effet, les constantes de complexation des sidérophores (dans ce travail la desferrioxamine-B et la pyoverdine) révèlent que ces molécules complexent les cations métalliques constitutifs des verres basaltiques dans cet ordre préférentiel : Fe(III) > Al  $\gg$  Fe(II)  $\gg$  Mg > Ca. On s'attendrait donc à ce que, lors de la dissolution du verre MORB2, les sidérophores complexent plus favorablement l'aluminium. Pourtant, les résultats des expé-

riences de dissolution en présence de desferrioxamine-B montrent que, dans ces conditions, le relâchement de l'aluminium est équivalent à celui observé dans les expériences en eau pure, sans ligands. De la même façon, lorsque la souche est au contact du verre MORB2, la faible production de pyoverdine et l'évolution des spectres d'absorption du milieu de culture attestent de la formation de complexes avec le fer. C'est finalement uniquement en présence d'un acide organique, l'acide oxalique, que le relâchement préférentiel de l'aluminium depuis des verres porteurs ou non de fer, est perçu comme le moteur de la dissolution.

### 6.3 Perspectives

Ce travail a permis de mettre expérimentalement en évidence l'action des sidérophores sur les processus d'altération des verres basaltiques, par la mise au point de protocoles de synthèse et de mise en forme de verres modèles et par l'imagination d'un plan d'expériences normalisées, ciblant étape par étape divers aspects des réactions de dissolution engagées. Ce travail a néanmoins, au gré des expériences, soulevé des questions restées sans réponse. Nous nous proposons donc de conclure en suggérant les pistes que nous estimons nécessaires d'explorer par la suite.

---

#### | Cibler l'action des sidérophores |

---

Nous aurions pu obtenir des informations complémentaires et notamment mesurer l'impact d'autres potentiels exsudats cellulaires sur la dissolution en réalisant des expériences de bioaltération dans des conditions identiques, mais impliquant des souches mutantes de *P. aeruginosa*. La souche PAO6382, notamment, est une souche déficiente dans la production de pyoverdine. Elle est néanmoins capable de produire la pyochéline, un sidérophore *secondaire* de *P. aeruginosa*, généralement synthétisé en plus faible quantité et dont l'affinité avec le fer est moindre ( $K_f = 10^{18}$ ). La souche PAO6383 est quant à elle déficiente dans la production des deux sidérophores de *P. aeruginosa*.

D'autres part, préparer un verre sans aluminium et soumettre cet échantillon aux mêmes expériences d'altération permettrait de préciser l'interaction  $Al^{3+}$ -sidérophore ou  $Al^{3+}$ -acide organique et son impact global sur la dissolution d'un verre basaltique.

Coupler les résultats de ces expériences sans sidérophore à ceux des expériences avec/sans

dialyse et intégrer les données pour un verre sans aluminium permettrait finalement de distinguer plus précisément les impacts (1) des sidérophores, (2) d'une interaction directe entre le verre et la bactérie, (3) d'autres potentiels exsudats bactériens relargués en solution.

---

### | **Le rôle des biofilms** |

---

Le rôle des biofilms dans l'altération des roches silicatées demeure peu documenté (Maurice *et al.*, 2001; Perdrial *et al.*, 2009). On ne doit pourtant pas minimiser son influence sur les cinétiques de dissolution, ni négliger qu'une partie des éléments lixiviés peut rester piégée dans la matrice d'exopolymères, tout aussi bien que ces derniers peuvent dissimuler une production locale de sidérophores. La quantification du biofilm formé en présence des verres MORB3, MORB2 ou HAPLO pourrait être faite par coloration au cristal violet : les grains de poudres enrobés de biofilm seraient séparés de la suspension bactérienne et rincés, mis au contact d'une solution de cristal violet, puis à nouveau rincé. Le cristal violet retenu par le biofilm serait alors élué par de l'éthanol et la quantité de cristal violet élué (que l'on évaluerait par une mesure d'absorbance à 570 nm) serait caractéristique de la quantité de biofilm en présence. Il serait également intéressant d'évaluer la concentration en pyoverdine dans les biofilms, en extrayant ce sidérophore, comme fait par Ferret (2012) à l'aide d'une solution de Tris-HCl, puis en estimant sa concentration *via* une mesure d'absorbance par spectrophotométrie UV-Visible. Une observation des grains enrobés de biofilms par microscopie à épifluorescence pourrait également permettre de détecter la présence de pyoverdine. Enfin, les observations en MEB pourraient être couplée à une reconstruction en trois dimensions, par microscopie confocale, des biofilms formés à la surface des verres.

---

### | **Bioaltération à long terme** |

---

Un travail complémentaire à celui réalisé au cours de cette thèse pourrait être l'étude des processus de bioaltération à plus long terme. Des expériences de dissolution en présence de *P. aeruginosa* avec un renouvellement périodique du milieu de culture serait à mettre en place, afin de maintenir les bactéries dans une phase exponentielle de croissance et de favoriser les interactions avec le verre. Cette étude est essentielle pour attester de la formation d'une couche de silice amorphe et pour identifier les produits secondaires formés au cours du temps.

---

**| Caractériser l'altération |**

---

Cette thèse laisse derrière elle une impressionnante banque d'échantillons de compositions différentes, altérées à court terme et moyen-terme, dans diverses solutions altérantes, à diverses températures et en présence ou non de microorganismes. Etant donné la quantité d'échantillons récoltés, l'altération peu marquée en surface de la plupart d'entre eux et le temps qui nous était imparti, nous avons fait le choix de cibler seulement quelques uns de ces échantillons et de mobiliser nos efforts pour le développement d'un nouveau protocole de caractérisation par LA-ICP-MS. Ce travail méthodologique mérite d'ailleurs d'être poursuivi, en se concentrant notamment sur l'optimisation de la calibration :

{ 1 } *externe*, en privilégiant des matrices vitreuses dont les compositions (et notamment les teneurs en silicium) seraient plus proches de celles de nos échantillons. La synthèse de nos propres standards, couplé à une analyse précise à la microsonde électronique est à réfléchir.

{ 2 } *interne*, en se concentrant sur les techniques de normalisation évoquées dans le Chapitre 5, ne nécessitant pas le choix arbitraire d'un étalon interne. Dans une étude sur l'analyse de verres historiques, van Elteren *et al.* (2009) proposent une méthode de normalisation solide, dont l'astuce est de choisir un élément interne parmi les composés majeurs du verre (le silicium dans cette étude), de lui attribuer une valeur de concentration factice, qu'un algorithme fait ensuite varier jusqu'à ce que le cumul des concentrations de tous les éléments analysés atteigne 100%. La mise au point d'un tel algorithme nécessite, dans l'idéal, une dizaine d'échantillons de références différant notamment de par leur teneur en l'élément choisi comme étalon interne. Ceci constitue donc une excellente piste pour la préparation d'échantillons vitreux de référence et pour affiner/corriger la méthode présentée dans ce manuscrit.

Enfin, il serait très intéressant de profiter de la grande quantité d'échantillons à disposition et de déployer des techniques très résolues plus adaptées à la caractérisation d'une altération peu prononcée, pour distinguer notamment l'effet de la présence de sidérophores sur les propriétés physico-chimiques de la couche d'altération formée. L'effet des sidérophores et d'autres ligands sur la dissolution des matériaux silicatés fait en effet, à ce jour, l'objet d'études majoritairement cinétiques et rares sont celles caractérisant les substrats altérés (Kalinowski *et al.*, 1999; Buss *et al.*, 2007). Sur la base de la chimie des solutions altérantes, le calcul des épaisseurs d'altération attendues pour les échantillons les plus faiblement al-

térés donne des valeurs extrêmement faibles, de plusieurs dizaines à plusieurs centaines de nanomètres (Tableau 6.3 en Annexe). Pour une analyse à une telle échelle, nous pensons à la Spectrométrie photoélectronique X (XPS), qui peut donner accès à la composition chimique de la surface du matériau analysé sur une profondeur de 10 nm environ ou à la Spectroscopie de rétrodiffusion de Rutherford (RBS) qui nécessiterait la préparation de couches minces. La Spectrométrie de Masse à Ionisation Secondaire (SIMS) est aussi appropriée à nos échantillons pour sa très forte sensibilité (jusqu'à 1 nm) et notamment car elle permet, du fait de la pulvérisation de la surface de l'échantillon, la reconstitution de profils en profondeur. Enfin, pour les échantillons montrant une altération plus marquée (au contact des solutions pour des temps s'échelonnant entre un à cinq mois et à diverses températures), des observations supplémentaires par Microscopie Électronique en Transmission (échantillons sous forme de poudre ou préparés avec une sonde ionique focalisée), couplées à des analyses en dispersion d'énergie des rayons X permettrait de visualiser et d'identifier les produits secondaires.

Enfin, pour optimiser le couplage entre résultats de l'analyse de la chimie des solutions d'altération et celle de la surface des verres, il serait intéressant d'utiliser un code de simulation tel que CHESS pour calculer les indices de saturation des solutions aqueuses et rechercher les phases susceptibles de s'être formées au cours du temps.



Ces trois années de thèse prennent donc fin sur de belles perspectives, mais aussi sur la certitude que l'exploration des processus de bioaltération au laboratoire est parfaitement complémentaire, voire nécessaire à la compréhension des réactions contrôlant les processus d'altération en contexte océanique, en particulier depuis qu'il est possible d'extrapoler des valeurs de vitesses d'altération des verres basaltique à long terme en adéquation avec les observations en milieu naturel. Alors qu'a récemment été souligné l'implication des souches ferro-oxydantes dans les processus d'altération de ces verres à basses températures, cette étude démontre l'influence notable d'une souche ferri-réductrice sur les mécanismes/cinétiques de dissolution. Ces résultats mettent donc en évidence le potentiel nutritif conféré par le fer aux verres basaltiques s'altérant dans l'océan à basses températures, ainsi que le rôle central de cet élément, oxydé comme réduit, dans ces processus d'altération aux multiples enjeux.

# Annexe

## CARACTÉRISATION DES VERRES : COMPLEMENTS

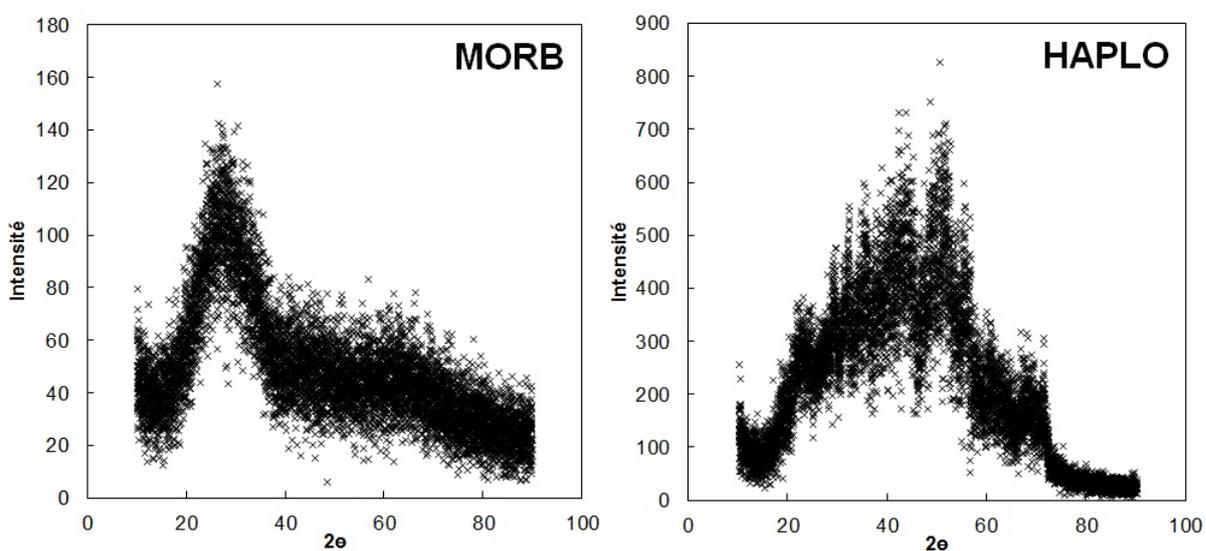


FIGURE 6.3: Diffractogrammes enregistrés pour les verres MORB3 et HAPLO sous forme de poudres entre  $10$  et  $90^\circ$  ( $2\theta$ ), avec un pas de  $0,01^\circ$  et 11 secondes par pas.

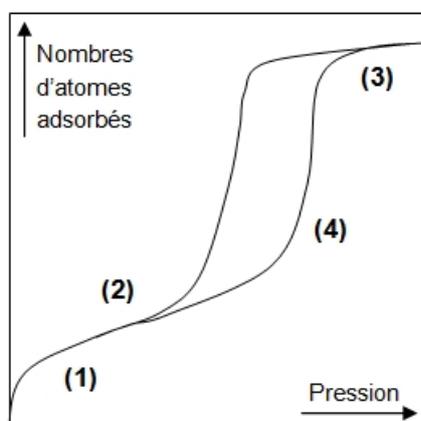


FIGURE 6.4: Représentation schématique d'une isotherme.



## PLANCHES MEB

## | 25 jours d'altération à 25°C [ MONOLITHES MORB3 ] |

Des expériences de près d'un mois impliquant les verres sous forme de monolithes dans des solutions d'eau ultrapure (EUP) et d'acide oxalique (AO) ont donné lieu aux premières observations en MEB. Les échantillons ont dans un premier temps été simplement cassés en deux et inclinés sur le porte-échantillon, afin de visualiser leur tranche et d'attester de la présence d'une couche d'altération en surface (Figure 6.5).

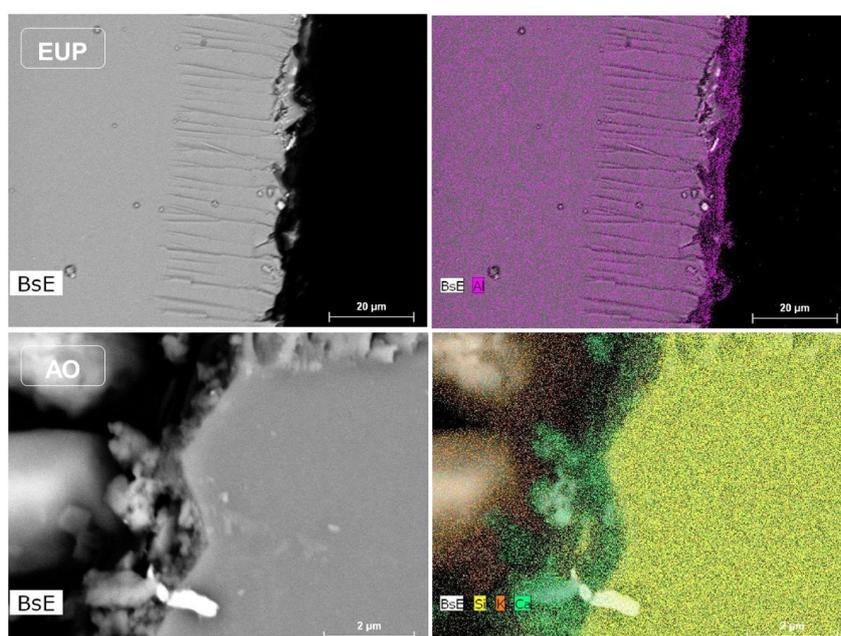


FIGURE 6.5: Images MEB (mode de détection d'électrons rétro-diffusés) et résultats d'analyse semi-quantitative en EDS de la surface de verres MORB3 altérés 25 jours à 25°C au contact de solutions d'EUP et d'AO.

A première vue, les analyses EDS attestent de la présence d'une phase secondaire riche en Al et en Si (Si non représenté sur la Figure) après 25 jours d'altération dans l'EUP. En présence d'AO, la surface du verre est visiblement recouverte d'un dépôt très calcique. Il est toutefois impossible d'estimer les épaisseurs des couches formées.

## | Sept jours d'altération à 25°C [ POUDRES MORB3 ] |

En surface des verres altérés à court terme (7 jours) à 25°C, l'altération n'est pas décelable en MEB (Figure 6.6). Les épaisseurs d'altérations attendues à si faible progrès de réaction, pour les expériences en solution d'EUP, d'AO, des desferrioxamine-B (DFA) et de 2,2'-bipyridyle (BPI) sont données dans le Tableau 6.3.

Épaisseur	
EUP	35
OA	146
DFA	123
BPI	66

Tableau 6.3: Épaisseurs de la couche d'altération (angströms) à la surface d'un verre MORB3 estimées d'après la chimie de la solution après sept jours d'expérience en solutions d'EUP, d'AO de DFA et de BPI à 25°C.

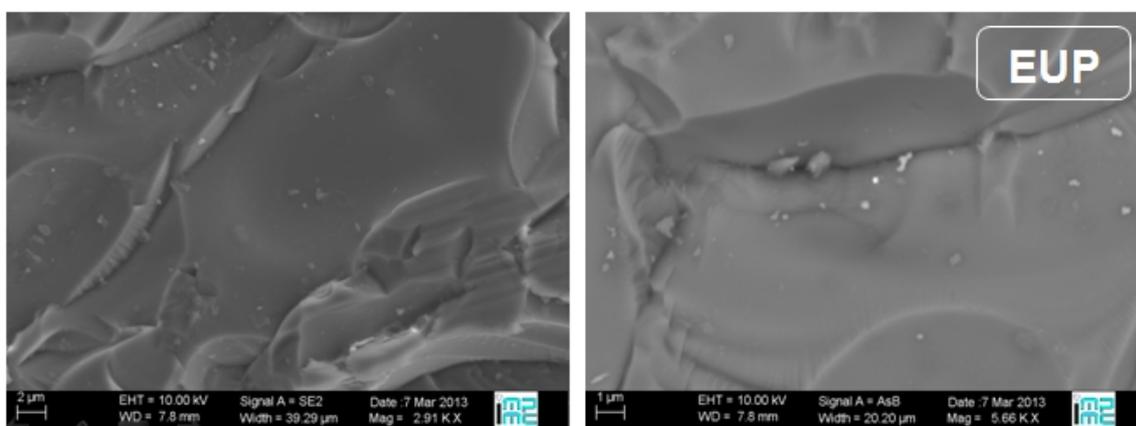


FIGURE 6.6: Images MEB (mode de détection d'électrons rétro-diffusés) de la surface d'un verre MORB3 altéré sept jours à 25°C au contact d'une solution d'EUP.

### | Trois jours d'altération à 90°C [ POUDRES MORB3 ] |

Une altération à court terme et à 90°C modifie de manière significative l'aspect de la surface du verre.

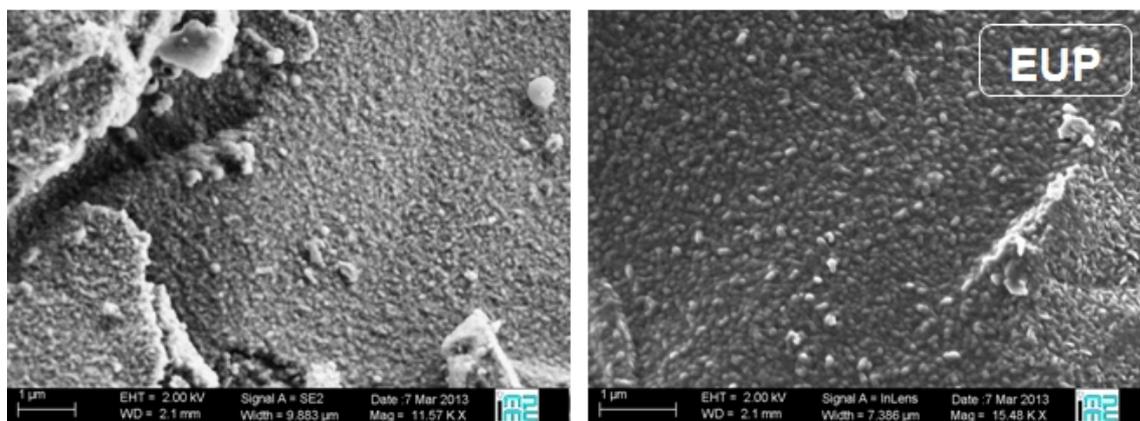


FIGURE 6.7: Images MEB (mode de détection d'électrons rétro-diffusés) de la surface d'un verre MORB3 altéré trois jours à 90°C au contact d'une solution d'EUP.

## | 105 jours d'altération à 25°C [ POUDRES MORB3 ] |

Les surfaces altérées des verres MORB3 immergés trois mois et demi dans diverses solutions d'EUP et de ligands organiques ont été observées par MEB et quelques images sont présentées sur les Figures 6.8 (EUP), 6.9 (AO), 6.10 (DFA) et 6.11 (BPI).

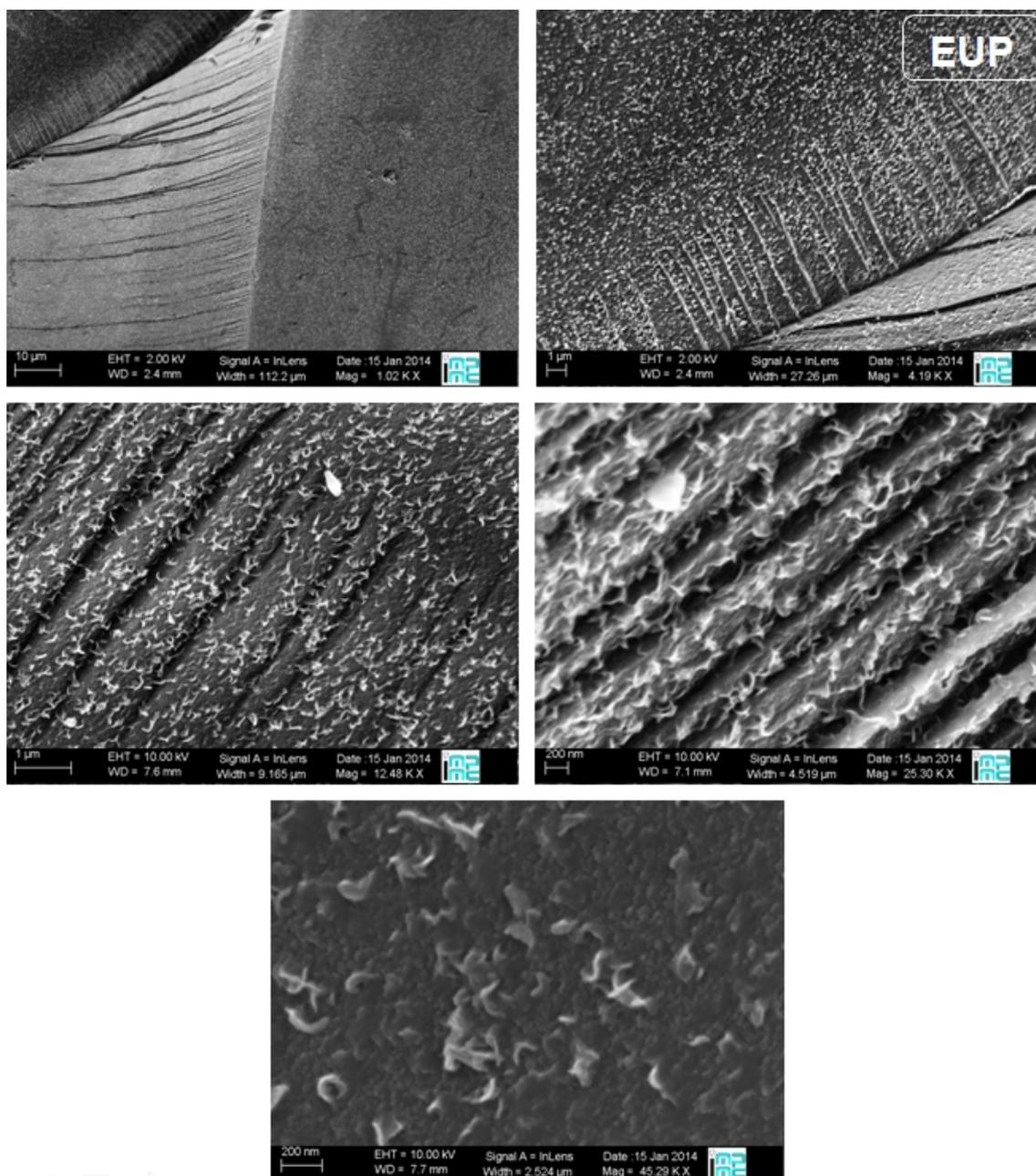


FIGURE 6.8: Images MEB (mode *in-lens* de détection d'électrons secondaires) de la surface d'un verre MORB3 altéré 105 jours à 25°C au contact d'une solution d'EUP.

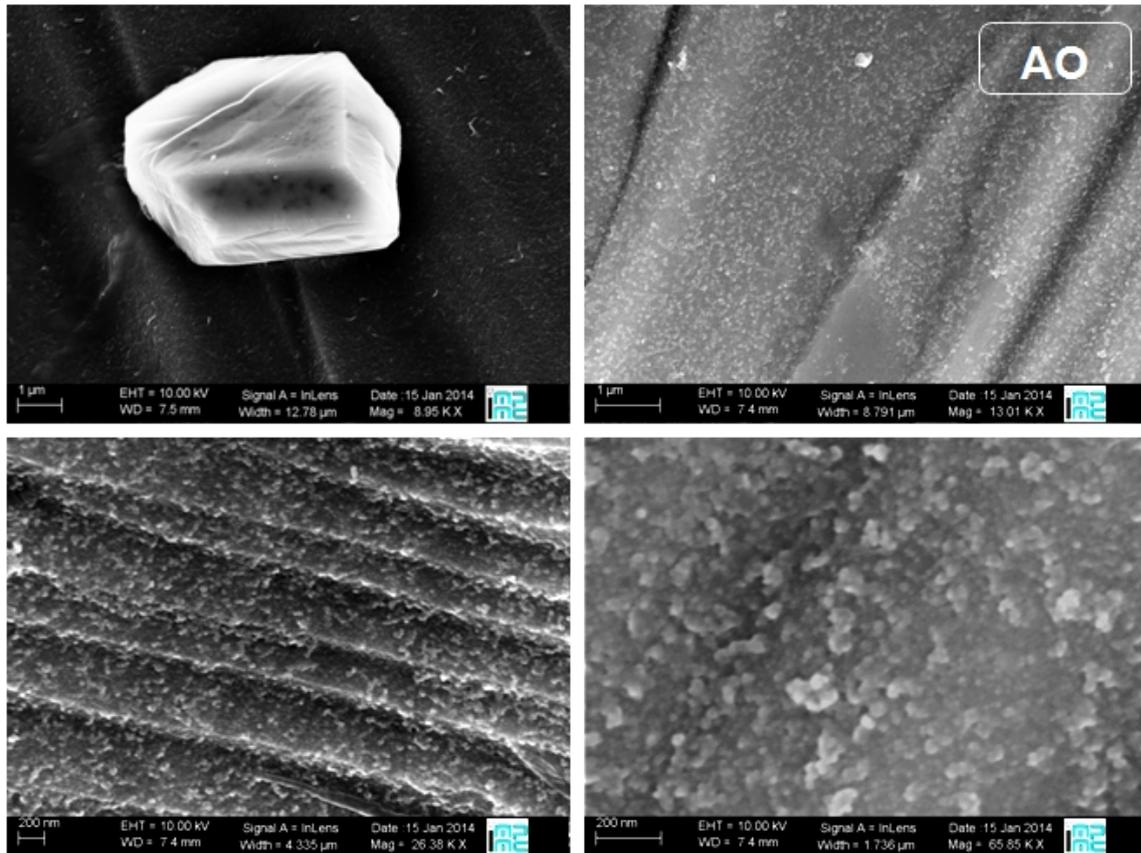


FIGURE 6.9: Images MEB (mode *in-lens* de détection d'électrons secondaires) de la surface d'un verre MORB3 altéré 105 jours à 25°C au contact d'une solution d'AO.

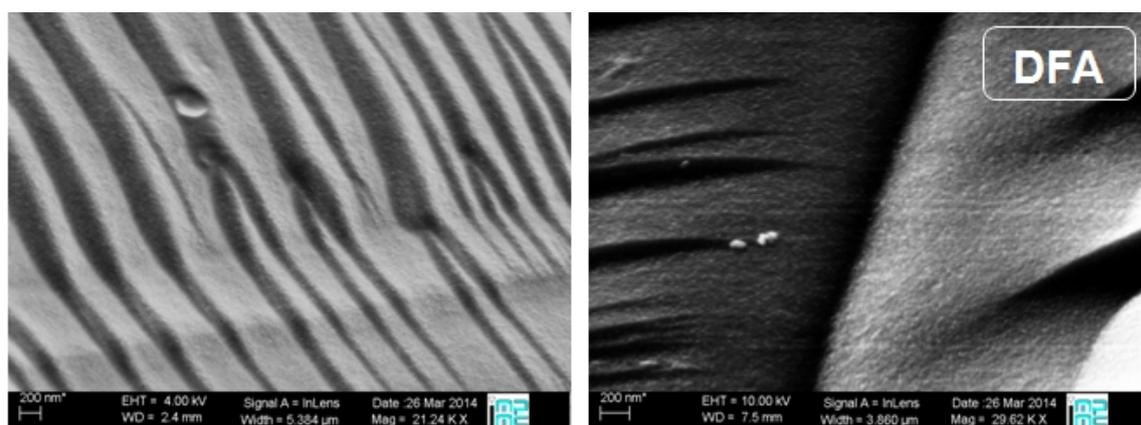


FIGURE 6.10: Images MEB (mode *in-lens* de détection d'électrons secondaires) de la surface d'un verre MORB3 altéré 105 jours à 25°C au contact d'une solution de DFA.

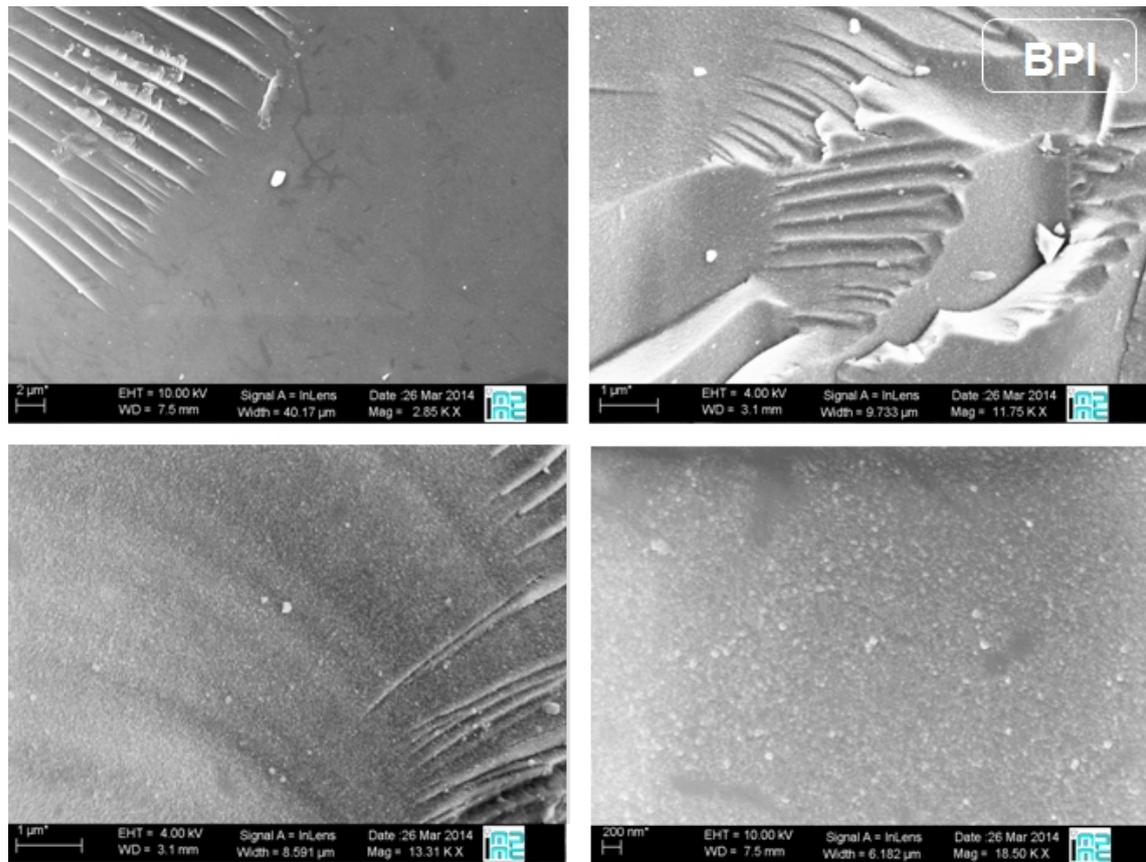


FIGURE 6.11: Images MEB (mode *in-lens* de détection d'électrons secondaires) de la surface d'un verre MORB3 altéré 105 jours à 25°C au contact d'une solution de BPI.

On observe des textures d'altération différente d'une condition expérimentale à une autre. On distinguera en particulier l'aspect de la surface après 105 jours d'altération dans l'EUP, celle-ci étant constellée de plaquettes caractéristiques d'un phyllosilicate, de la texture plus granuleuse de la surface des verres soumis aux expériences de dissolution en présence de sidérophores.

— DISSOLUTION EN PRÉSENCE/ABSENCE DE LIGANDS : COMPLÉMENTS —

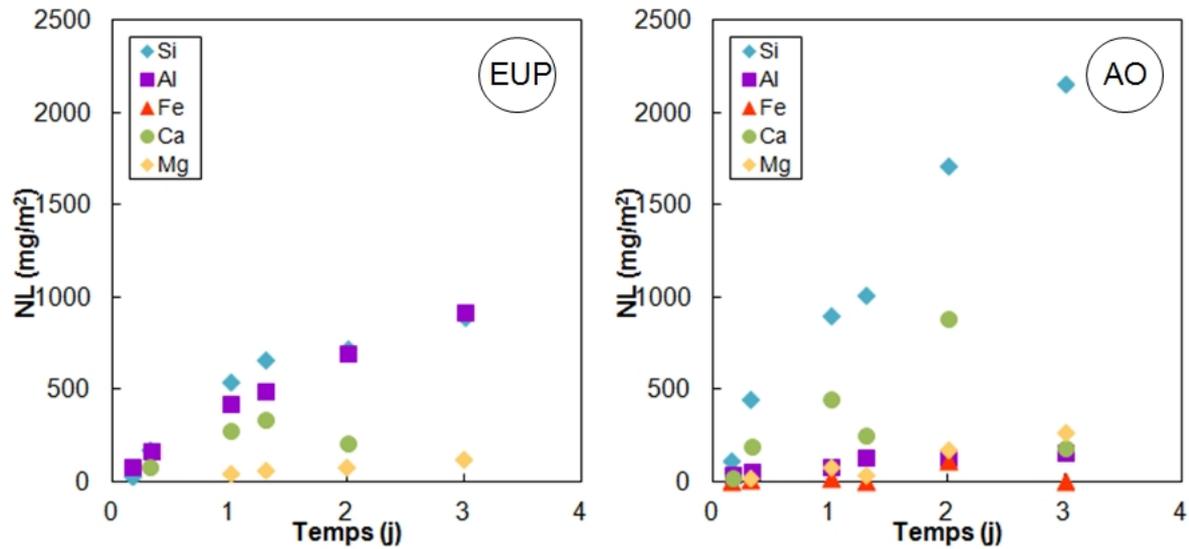


FIGURE 6.12: Profils de dissolution ( $NL_s$  en fonction du temps) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg en EUP et dans une solution d'AO, à court terme et à 90°C.

	$v_0$	$v_{Al}$
EUP	288	292
EUP <sup>(a)</sup>	750	-
EUP <sup>(b)</sup>	80	-
EUP <sup>(c)</sup>	520	-
AO	703	42

Tableau 6.4: Vitesses initiales de dissolution ( $g/m^2/j$ ) du verre MORB3, vitesses de relâchement de l'Al à 90°C, en solution d'EUP et d'AO et comparaison avec les données de Daux *et al.* (1997)<sup>(a)</sup>, Gislason et Oelkers (2003)<sup>(b)</sup> et Morin *et al.* (2015)<sup>(c)</sup>.

	t	Si		Al		Fe	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
OA 0,24 mM	8H	95,3±1,2	53,3±1,2	54,3±1,0	44,4±0,3	8,9±3,0	0,5±3,0
	1J	141,5±1,7	105,7±1,7	66,2±1,0	49,8±0,3	10,0±3,0	1,0±3,0
	2J	188,0±1,7	257,0±2,0	81,6±1,0	62,9±1,0	8,5±3,0	3,1±3,0
	3J	229,8±2,0	173,0±1,7	80,1±1,0	72,6±1,0	9,0±3,0	n.d.
	4J	-	246,9±2,0	-	89,8±1,0	-	0,6±3,0
	7J	386,6±2,0	377,0±2,0	108,7±1,6	124,7±1,6	7,6±3,0	n.d.
OA 1 mM	8H	103,9±1,7	50,1±1,2	54,7±1,0	56,6±1,0	4,4±3,0	13,2±3,0
	1J	143,3±1,7	239,5±2,0	54,1±1,0	81,3±1,0	10,8±3,0	10,6±3,0
	2J	177,6±1,7	153,2±1,7	60,7±1,0	47,6±0,3	10,2±3,0	2,4±3,0
	3J	221,6±2,0	195,9±1,7	77,6±1,0	73,9±1,0	10,6±3,0	4,0±3,0
	4J	-	249,1±2,0	-	73,1±1,0	-	1,3±3,0
	7J	371,4±2,0	381,8±2,0	115,2±1,6	99,7±1,0	11,6±3,0	2,9±3,0
OA 10 mM	8H	106,3±1,7	100,0±1,7	64,6±1,0	53,9±1,0	35,0±3,0	30,5±3,0
	1J	147,2±1,7	178,9±1,7	71,0±1,0	43,0±0,3	41,8±3,0	40,6±3,0
	2J	204,1±2,0	236,4±2,0	75,4±1,0	48,7±0,3	47,2±3,0	46,2±3,0
	3J	275,6±2,0	275,6±2,0	77,0±1,0	55,9±1,0	52,7±0,9	52,1±0,9
	4J	-	333,2±2,0	-	63,1±1,0	-	59,0±0,9
	7J	384,2±2,0	469,7±2,0	102,6±1,6	95,2±1,0	47,2±3,0	58,1±0,9

Tableau 6.5: Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments relâchés du verre MORB3 dans plusieurs solutions plus ou moins diluées d'AO, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes reportées correspondent aux erreurs analytiques.

	t	Si		Al		Fe	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
DFA 0,024 mM	8H	96,7±1,2	34,6±2,6	83,6±1,0	50,9±1,0	26,2±3,0	21,9±3,0
	1J	157,6±1,7	106,1±1,7	69,3±1,0	69,3±1,0	36,3±3,0	36,3±3,0
	2J	262,1±2,0	232,2±2,0	63,5±1,0	74,9±1,0	49,1±3,0	53,2±0,9
	3J	374,3±2,0	393,3±2,0	111,4±1,6	90,8±1,0	64,0±0,9	76,6±0,9
	4J	-	378,0±2,0	-	103,1±0,9	-	90,0±0,9
	7J	735,3±2,8	821,1±2,8	150,3±1,6	149,8±0,9	116,5±0,9	142,7±0,9
DFA 0,24 mM	8H	44,2±2,6	100,4±1,7	44,3±0,3	74,8±1,0	25,6±3,0	34,2±3,0
	1J	147,0±1,7	168,7±1,7	63,8±1,0	67,3±1,0	45,6±3,0	50,6±0,9
	2J	289,1±2,0	259,6±2,0	84,5±1,0	83,4±1,0	73,0±0,9	69,6±0,9
	3J	409,7±2,0	383,0±2,0	104,4±1,6	111,9±1,6	94,0±0,9	87,4±0,9
	4J	513,7±2,8	-	118,9±1,6	-	112,1±0,9	-
	7J	881,4±2,8	798,7±2,8	184,9±1,6	160,8±1,6	167,9±0,9	156,3±0,9
DFA 1 mM	8H	133,1±1,7	55,4±1,2	75,0±1,0	45,7±0,3	42,1±3,0	28,1±3,0
	1J	181,3±2,0	165,1±1,7	62,9±1,0	65,9±1,0	47,5±3,0	45,7±3,0
	2J	277,8±2,0	222,2±2,0	99,3±1,0	81,6±1,0	63,9±0,9	65,5±0,9
	3J	368,8±2,0	280,8±2,0	89,5±1,0	95,9±1,0	77,6±0,9	85,3±0,9
	4J	-	400,4±2,0	-	116,8±1,6	-	92,8±0,9
	7J	756,9±2,8	808,1±2,8	157,5±1,5	183,8±1,6	137,0±0,9	140,1±0,9

Tableau 6.6: Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments relâchés du verre MORB3 dans plusieurs solutions plus ou moins diluées de DFA, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes reportées correspondent aux erreurs analytiques.

	t	Si		Al		Fe	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
MORB3	8H	36,0±2,6	20,0±2,6	21,1±0,3	22,8±0,3	12,6±3,0	16,3±3,0
	1J	117,3±1,7	80,6±1,2	80,9±1,0	62,5±0,3	35,2±3,0	37,4±3,0
	2J	281,0±2,0	302,4±2,0	82,2±1,0	108,7±1,6	58,7±0,9	75,3±0,9
	3J	448,6±2,0	525,1±2,8	127,2±1,6	144,1±1,6	86,4±0,9	126,3±0,9
	4J	615,2±2,8	687,4±2,8	157,7±1,6	176,5±1,6	110,7±0,9	140,9±0,9
	7J	1208,3±2,8	1347,7±2,8	240,7±3,7	290,3±3,7	188,4±0,9	247,5±0,9
HAPLO	8H	20,0±2,6	20,0±2,6	35,4±0,3	42,1±0,3	-	-
	1J	101,0±1,7	74,0±1,2	65,5±1,0	66,2±0,3	-	-
	2J	349,2±2,0	281,4±2,0	126,9±1,6	116,5±1,6	-	-
	3J	603,3±2,8	554,4±2,8	177,2±1,6	175,9±1,6	-	-
	4J	830,4±2,8	784,1±2,8	246,6±3,7	236,4±3,7	-	-
	7J	1525,8±2,8	1582,7±2,8	393,6±3,7	415,2±3,7	-	-

Tableau 6.7: Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments relâchés des verres MORB3 et HAPLO dans une solution de pyoverdine à 0,062 mM, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale. Les incertitudes reportées correspondent aux erreurs analytiques.

	Si	Al	Fe
MORB3	8,5±0,9	4,3±0,6	3,5±0,7
HAPLO	10,0±0,4	6,3±0,1	-

Tableau 6.8: Vitesses initiales de dissolution ( $\text{mg/m}^2/\text{j}$ ) des éléments Si, Al et Fe, relâchés depuis les verres MORB3 et HAPLO dans une solution de pyoverdine à 0,062 mM. Les erreurs reportées correspondent aux écarts-types calculés entre les deux séries de duplicats.

	NIST 610	NIST 612
Si	336639	336639
Al	10588	10588
Fe	458	51
Ca	85775	85775
Mg	418	-
Na	103871	103871
Ti	437	50
K	461	64
B	351	32
Ag	254	22
Sb	-	35
As	-	37
Ba	-	39
Cd	-	30
Ce	-	39
Cr	-	35
Co	390	36
Cu	444	38
Dy	-	35
Er	-	39
Eu	-	36
Gd	-	39
La	-	36
Li	-	40
Au	25	-
Mn	485	38
Ne	-	36
Ni	459	39
Sm	-	39
Sr	516	78
Th	457	38
Pb	426	39
Rb	425	31
Se	-	16
Tl	62	16
U	462	38
Yb	-	42
Zn	433	-

Tableau 6.9: Composition (en mg/kg) des verres standards NIST 610 et NIST 612 utilisés pour la calibration des analyses par LA-ICP-MS. Ces échantillons de référence se présentent sous la forme de pastilles de 3 mm d'épaisseur et de 12 mm de diamètre. L'erreur maximale sur les concentrations annoncée est de 2 %.

	t	Si		Al		Fe		Ca		Mg	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
EUP	1M	394,2	407,9	873,2	742,0	79,6	n.d.	278,2	176,4	n.d.	n.d.
	2M	438,6	747,0	800,2	777,7	30,7	n.d.	635,8	662,3	n.d.	n.d.
	3M	576,4	875,5	807,8	699,4	n.d.	n.d.	673,7	639,6	n.d.	n.d.
	4M	1222,1	1304,0	820,8	944,9	n.d.	n.d.	1014,8	1050,4	20,6	23,7
	5M	1418,5	1391,7	728,4	705,4	n.d.	n.d.	1008,1	1079,3	22,1	25,0
AO	1M	2028,0	2125,9	773,5	908,5	51,8	38,8	267,9	301,7	n.d.	n.d.
	2M	3155,1	3093,7	374,4	246,8	56,5	44,5	598,2	604,8	n.d.	n.d.
	3M	3226,0	3513,5	202,1	215,9	31,3	40,7	634,9	739,3	n.d.	11,3
	4M	4625,6	5111,0	465,8	309,2	121,8	93,2	1158,8	1322,9	41,9	68,1
	5M	4556,8	5640,1	506,7	509,1	59,4	74,4	1077,7	1303,7	50,4	77,1

Tableau 6.10: Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) des éléments Si, Al, Fe, Ca et Mg relâchés en solution d'EUP et d'AO depuis le verre MORB3, en fonction du temps d'altération. Les annotations (1) et (2) font référence aux deux séries de duplicats réalisées pour chaque condition expérimentale.

# Bibliographie

- ABDELOUAS, A. (1996). Etude de l'altération de verres rhyolitiques au contact de saumures naturelles (Bolivie) - Application à l'étude du comportement à long-terme du verre nucléaire R7T7. Thèse de doctorat, Institut für Nukleare Entsorgungstechnik.
- ABDELOUAS, A., CROVISIER, J. et LUTZE, W. (1993). Hydrotalcite formation by alteration of R7T7 nuclear waste glass in a salt solution at 190°C. *Comptes-Rendus de l'académie des Sciences*, 317:1067–1072.
- AHMED, E. et HOLMSTRÖM, S. (2014). The effect of soil horizon and mineral type on the distribution of siderophores in soil. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 131:184–195.
- AKAFIA, M., HARRINGTON, J., BARGAR, J. et DUCKWORTH, O. (2014). Metal oxyhydroxide dissolution as promoted by structurally diverse siderophores and oxalate. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 141:258–269.
- ALBRECHT-GARY, A., BLANC, S., RACHEL, N., OCAKTAN, A., MOHAMED, A. et ABDALLAH, A. (1994). Bacterial iron transport : Coordination properties of pyoverdin PaA, a peptidic siderophore of *Pseudomonas aeruginosa*. *Inorganic Chemistry*, 33:6391–6402.
- ALLEN, C., GOODING, J., JERCINOVIC, M. et KEIL, K. (1981). Altered basaltic glass : A terrestrial analog to the soil of Mars. *Icarus*, 45:347–369.
- ALT, J., LAVERNE, C., VANKO, D., TARTAROTTI, P., TEAGLE, D., BACH, W. et WILKENS, R. (1996). Hydrothermal alteration of a section of upper oceanic crust in the easter equatorial Pacific : A synthesis of results from Site 504 (DSDP legs 69, 70, and 83, and ODP Legs 111, 137, 140, and 148). *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*, 148:417–434.
- ALT, J. et MATA, P. (2000). On the role microbes in the alteration of submarine basaltic glass : a TEM study. *Earth and Planetary Science Letters*, 181:301–313.
- AMIOTTE-SUCHET, P. et PROBST, J. (1993). Modelling of atmospheric CO<sub>2</sub> consumption by chemical weathering of rocks : application to the Garonne, Congo and Amazon basins. *Chemical Geology*, 107:205–210.

- AMS, A., MAURICE, P., HERSMAN, L. et FORSYTHE, J. (2002). Siderophore production by an aerobic *Pseudomonas mendocina* bacterium in the presence of kaolinite. *Chemical Geology*, 188:161–170.
- ANOVITZ, L., COLE, D. et RICIPUTI, L. (2009). Low-temperature isotopic exchange in obsidian : implications for diffusive mechanisms. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 73:3795–3806.
- AOUAD, G., CROVISIER, J., GEOFFROY, V., MEYER, J. et STILLE, P. (2006). Microbially-mediated glass dissolution and sorption of metals by *Pseudomonas aeruginosa* cells and biofilm. *Journal of Hazardous Materials*, 136:889–895.
- ARCENEUAUX, J., DAVIS, W., DOWNER, D., HAYDON, A. et BYERS, B. (1973). Fate of labeled hydroxamates during iron transport from hydroxamate-iron chelates. *Journal of Bacteriology*, 115:919–927.
- ATASSI, H. (1989). Evaluation de la résistance à la corrosion en solution aqueuse de quelques verres silicatés. Thèse de doctorat, Université de Strasbourg.
- BAALOUSHA, M., STOLPE, B. et LEAD, J. (2011). Flow field-flow fractionation for the analysis and characterization of natural colloids and manufactured nanoparticles in environmental systems : A critical review. *Journal of Chromatography A*, 1218:4078–4103.
- BACH, W. et EDWARDS, K. (2003). Iron and sulfide oxidation within the basaltic ocean crust : Implications for chemolithoautotrophic microbial biomass production. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67:3871–3887.
- BANERJEE, N. et MUEHLENBACHS, K. (2003). Tuff life : Bioalteration in volcanoclastic rocks from the Ontong Java Plateau. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 4:1037–1059.
- BARREDA, F. (2010). Etude expérimentale et modélisation des potentialités de la technique LIBS (ablation laser couplée à la spectroscopie) pour l'analyse directe des solides. Thèse de doctorat, Université de Lyon 1.
- BECKER, J., MATUSCH, A. et WU, B. (2014). Bioimaging mass spectrometry of trace elements : Recent advance and applications of LA-ICP-MS. *Analytica Chimica Acta*, 835:1–18.
- BENNETT, P. (1991). Quartz dissolution in organic-rich aqueous systems. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 55:1781–1797.
- BENNETT, P., MELCER, M., SIEGEL, D. et HASSETT, J. (1988). The dissolution of quartz in dilute aqueous solutions of organic acids at 25°C. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 52:1521–1530.

- BENNETT, P., ROGERS, J. et CHOU, W. (2001). Silicates, silicate weathering, and microbial ecology. *Geomicrobiology Journal*, 18:3–19.
- BENZERARA, K., BARAKAT, M., MENGUY, N., GUYOT, F., LUCA, G., AUDRAIN, C. et HEULIN, T. (2004). Experimental colonization and alteration of orthopyroxene by the pleomorphic bacteria *Ramlibacter tatuinensias*. *Geomicrobiology*, 21:341–349.
- BENZERARA, K., MENGUY, N., BANERJEE, N., TYLISZCZAK, T., BROWN JR, G. et GUYOT, F. (2007). Alteration of submarine basaltic glass from the Ontong Java Plateau : a STXM and TEM study. *Earth and Planetary Science Letters*, 260:187–200.
- BENZERARA, K., MENGUY, N., GUYOT, F., VANNI, C. et GILLET, P. (2005). TEM study of a silicate-carbonate microbe interace prepared by focused ion beam milling. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69:1413–1422.
- BENZERARA, K., MIOT, J., MORIN, G., ONA-NGUEMA, G., SKOURI-PANET, F. et FÉRARD, C. (2011). Significance, mechanisms and environmental implications of microbial biomineralization. *Comptes-Rendus Géosciences*, 343:160–167.
- BERGER, G., CLAPAROLS, C., GUY, C. et DAUX, V. (1994). Dissolution rate of a basalt glass in silica-rich solutions : Implications for long-term alteration. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58:4875–4886.
- BERNER, R. et CALDEIRA, K. (1997). The need for mass balance and feedback in the geochemical carbon cycle. *Geology*, 25:955–956.
- BERNER, R., LASAGA, A. et GARRELS, R. (1983). The carbonate silicate geochemical cycle and its effect on atmospheric carbon dioxide over the past 100 million years. *American Journal of Science*, 284:641–683.
- BERTRAND, S. (2009). Les sidérophores de *Scedosporium apiospermum* : Identification, synthèse et applications. Thèse de doctorat, Université d'Angers.
- BEZOS, A. et HUMLER, E. (2005). The Fe<sup>3+</sup>/sigmafe ratios of MORB glasses and their implications for mantle melting. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69:711–725.
- BLUTH, G. et KUMP, L. (1994). Lithologic and climatologic controls of river chemistry. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58:2341–2359.
- BOKSAY, Z., BOUQUET, G. et DOBOS, S. (1967). Diffusion processes in the surface layer of glass. *Physics and Chemistry of Glasses*, 8:140–144.
- BORISOV, O., MAO, X. et RUSSO, R. (2000). Effects of crater development on fractionation and signal intensity during Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part B*, 55:1693–1704.

- BOUTONNAT, F. (1986). Contribution à l'étude expérimentale de l'interaction verre basaltique-eau de mer à 50°C et 90°C, influence du rapport eau/roche et de la concentration en Mg et Ca. Thèse de doctorat, Université d'Orléans.
- BOYD, P., JICKELLS, T., LAW, C., BLAIN, S., BOYLE, E., BUESSELER, K., COALE, K., CULLEN, J., DE BAAR, H., FOLLOWS, M., HARVEY, M., LANCELOT, C., LEVASSEUR, M., OWENS, N., POLLARD, R., RIVKIN, R., SARMIENTO, J., SCHOEMANN, V., SMETACEK, V., TAKEDA, S., TSUDA, A., TURNER, S. et WATSON, A. (2007). Mesoscale iron enrichment experiments 1993-2005 : Synthesis and future directions. *Science*, 315:612–617.
- BRADY, P. et GISLASON, S. (1997). Seafloor weathering controls on atmospheric CO<sub>2</sub> and global climate. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61:965–973.
- BRANDEL, J., HUMBERT, N., ELHABIRI, M., SCHALK, I., MISLIN, G. et ALBRECHT-GARY, A. (2012). Pyochelin, a siderophore of *Pseudomonas aeruginosa* : Physicochemical characterization of the iron(III), copper(III) and zinc(III) complexes. *Dalton Trans.*, 41:2820–2834.
- BRANTLEY, S., LIERMANN, L., GUYNN, R., ANBAR, A., ICOPINI, G. et BARLING, J. (2004). Fe isotopic fractionation during mineral dissolution with and without bacteria. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68:3189–3204.
- BRAUD, A., GEOFFROY, V., HOEGY, F., MISLIN, G. et SCHALK, I. (2010). The siderophores pyoverdine and pyochelin are involved in *Pseudomonas aeruginosa* resistance against metals : Another biological function of these two siderophores. *Environmental Microbiology Report*, 2:419–425.
- BRAUD, A., HOEGY, F., JEZEQUEL, K., LEBEAU, T. et SCHALK, I. (2009). New insights into the metals specificity of the *Pseudomonas aeruginosa* pyoverdine-iron uptake pathway. *Environmental Microbiology*, 11:1079–1091.
- BRAUN, V. et KILLMANN, H. (1999). Bacterial solutions to the iron supply problem. *Trends in Biochemical Sciences*, 24:104–109.
- BRAY, A., OELKERS, E., BONNEVILLE, S., WOLFF-BOENISCH, D., POTTS, N., FONESH, G. et BENNING, L. (2015). The effect of pH, grain size, and organic ligands on biotite weathering rates. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 164:127–145.
- BREHM, U., GORBUSHINA, A. et MOTTERSHEAD, D. (2005). The role of microorganisms and biofilms in the breakdown and dissolution of quartz and glass. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 219:117–129.
- BRUNAUER, S., EMMETT, P. et TELLER, E. (1938). Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60:309–319.

- BUCK, K. et BRULAND, K. (2007). The physico-chemical speciation of dissolved iron in the Bering Sea, Alaska. *Limnology and Oceanography*, 52:1800–1808.
- BUNKER, B. (1994). Molecular mechanisms for corrosion of silica and silicate glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 179:300–308.
- BUSS, H., LÖTTGE, A. et BRANTLEY, S. (2007). Etch pit formation on iron silicate surfaces during siderophore-promoted dissolution. *Chemical Geology*, 240:326–342.
- BYERS, C. et JERCINOVIC, M. (1987). *A study of natural glass analogues as applied to alteration of nuclear waste glass*. Argonne National Laboratory (Ed.).
- CAILLETEAU, C., ANGELI, F., DEVREUX, F., GIN, S., JESTIN, J., JOLLIVET, P. et SPALLA, O. (2008). Insight into silicate-glass corrosion mechanisms. *Natural Materials*, 7:978–983.
- CALDEIRA, K. (1995). Long-term control of atmospheric carbon-dioxide - low-temperature sea-floor alteration or terrestrial silicate-rock weathering. *American Journal of Science*, 295: 1077–1114.
- CAMA, J. et GANOR, J. (2006). The effects of organic acids on the dissolution of silicate minerals : A case study of oxalate catalysis of kaolinite dissolution. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70:2191–2209.
- CAPONE, S., DE ROBERTIS, A., DE STEFANO, C. et R, S. (1885). Thermodynamics of formation of magnesium, calcium, strontium and barium complexes with 2,2'-bipyridyl and 1,10-phenanthroline, at different ionic strengths in aqueous solution. *Talanta*, 32:675–677.
- CERVINI-SILVA, J., KEARNS, J. et BANFIELD, J. (2012). Steady-state dissolution kinetics of mineral ferric phosphate in the presence of desferrioxamine-B and oxalate ligands at pH=4-6 and T=24°C. *Chemical Geology*, 320:1–8.
- CHAVE, T., FRUGIER, P., AYRAL, A. et GIN, S. (2007). Solid state diffusion during nuclear glass residual alteration in solution. *Journal of Nuclear Materials*, 362:466–473.
- CHEAH, S., KRAEMER, S., CERVINI-SILVA, J. et SPOSITO, G. (2003). Steady-state dissolution kinetics of goethite in the presence of desferrioxamine-B and oxalate ligands : implications for the microbial acquisition of iron. *Chemical Geology*, 198:63–75.
- CHEN, S., WU, Z. et PENG, X. (2014). Experimental study on weathering of seafloor volcanic glass by bacteria (*Pseudomonas fluorescens*) - Implications for the contribution of bacteria to the water-rock reaction at the Mid-Oceanic Ridge setting. *Journal of Asian Earth Science*, 90:15–25.
- CHEN, Y., JURKEVITCH, E., BAR-NESS, E. et HADAR, Y. (1994). Stability constants of pseudo-bactin complexes with transition metals. *Soil Science Society of America Journal*, 58:390–396.

- CHIN, C., WANG, C. et JENG, S. (1999). Multi-element analysis of airborne particulate matter collected on PTFE-membrane filters by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 14:663–668.
- CHRISTENSEN, J., HALLIDAY, J., GODFREY, L., HEIN, J. et REA, D. (1997). Climate dynamics and the lead isotopic records in Pacific ferromanganese crusts. *Science*, 277:913–918.
- CHRISTIE, D., CARMICHAEL, I. et LANGMUIR, C. (1986). Oxidation states of mid-ocean ridge basalt glasses. *Earth and Planetary Science Letters*, 79:397–411.
- COCOZZA, C. et ERCOLANI, G. (1997). Produzione di siderofori e caratteristiche associate in *Pseudomonadi fluorescenti* rizosferiche e non rizosferiche. *Annali di microbiol. Enzimol.*, 47:17–28.
- COCOZZA, C., TSAO, C., CHEAH, S., KRAEMER, S., RAYMOND, K., MIANO, T. et SPOSITO, G. (2002). Temperature dependence of goethite dissolution promoted by trihydroxamate siderophores. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 66:431–438.
- COLUCCIA, S., CHIORINO, A., GUGLIELMINOTTI, E. et MORTERRA, C. (1978). Adsorption of 2,2'-bipyridyl on magnesium oxide and calcium oxide. *Journal of Chemical Society*, 75:2188–2198.
- CONDIE, K., ALLEN, P. et NARAYAN, B. (1982). Geochemistry of the Archean low-to high-grade transition zone, southern India. *Contributions to Mineralogy and Petrology*, 81:157–167.
- CORNELIS, P., MATTHIJS, S. et VAN OEFFELEN, L. (2009). Iron uptake regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Biometals*, 22:15–22.
- COWAN, R. et EWING, R. (1989). Freshwater alteration of basaltic glass, Hanauma Bay, Oahu, Hawaii : A natural analogue for the alteration of borosilicate glass in fresh water. *Materials Research Society Symposium Proceedings*, 127:49–56.
- CROVISIER, J. (1989). Dissolution des verres basaltiques dans l'eau de mer et dans l'eau douce. Essai de modélisation. Thèse de doctorat, Université Louis-Pasteur de Strasbourg.
- CROVISIER, J., ADVOCAT, T. et DUSSOSSOY (2003). Nature and role of natural alteration gels formed on the surface of ancient volcanic glasses, natural analogs of waste containment glasses. *Journal of Nuclear Materials*, 321:91–109.
- CROVISIER, J., ATASSI, H., DAUX, V. et EBERHART, J. (1990). Hydrolyse d'un verre basaltique théolitique à 60°C. Dissolution sélective puis congruente par élévation du pH. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 294:941–946.

- CROVISIER, J., FRITZ, B., GRAMBOW, B. et EBERHART, J. (1985). Dissolution of basaltic glass in seawater : Experiments and thermodynamic modelling. *Materials Research Society*, 50: 273–280.
- CROVISIER, J., HONNOREZ, J. et EBERHART, J. (1987). Dissolution of basaltic glass in seawater : Mechanism and rate. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 51:2977–2990.
- CRUNDWELL, F. (2003). How do bacteria interact with minerals ? *Hydrometallurgy*, 71:75–81.
- CURTI, E., CROVISIER, J., MORVAN, G. et KARPOFF, A. (2006). Long-term corrosion of two nuclear waste reference glasses (MW and SON68) : A kinetic and mineral alteration study. *Applied Geochemistry*, 21:1152–1168.
- DAOU, N. (2009). Identification de nouveaux facteurs hôtes-dépendants chez *Bacillus cereus*. Caractérisation moléculaire et fonctionnelle d'Ilsa, une protéine de surface essentielle pour l'acquisition du fer au cours de l'infection. Mémoire de D.E.A., Université Saint Joseph de Beyrouth.
- DAUX, V., CROVISIER, J., HEMOND, C. et PETIT, J. (1994). Geochemical evolution of basaltic rocks subjected to weathering : Fate of the major elements, rare earth elements, and thorium. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58:4941–4954.
- DAUX, V., GUY, C., ADVOCAT, T., CROVISIER, J. et STILLE, P. (1997). Kinetic aspects of basaltic glass dissolution at 90°C : Role of aqueous silicon and aluminium. *Chemical Geology*, 142:109–126.
- DAVAL, D., HELLMANN, R., SALDI, G., WIRTH, R. et KNAUSS, K. (2013). Linking nm-scale measurements of silicate surface reactivity to macroscopic dissolution rate laws : New insights based on diopside. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 107:121–134.
- DAVAL, D., SISSMAN, O., MENGUY, N., SALDI, G., F, G., MARTINEZ, I., CORVISIER, J., GARCIA, B., MACHOUK, I., KNAUSS, K. et HELLMANN, R. (2011). Influence of amorphous silica layer formation on the dissolution rate of olivine at 90°C and elevated pCO<sub>2</sub>. *Chemical Geology*, 284:193–209.
- DAVAL, D., TESTEMALE, D., RECHAM, N., TARASCON, J., SIEBERT, J., MARTINEZ, I. et GUYOT, F. (2010). Fayalite (Fe<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub>) dissolution kinetics determined by X-ray absorption spectroscopy. *Chemical Geology*, 275:161–175.
- DE BARDI, M., WIESINGER, R. et SCHREINER, M. (2013). Leaching studies of potash-lime-silica glass with medieval composition by IRRAS. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 360:57–63.

- DECLERCQ, J., DIEDRICH, T., PERROT, M., OELKERS, E. et GISLASON, S. (2013). Experimental determination of rhyolitic glass dissolution rates at 40-200°C and 2<pH<10.1. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 100:251–263.
- del OLMO, A., CAMELO, C. et SANJOSE, C. (2003). Fluorescent complex of pyoverdine with aluminium. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 97:384–387.
- DESSERT, C., DUPRÉ, B., GAILLARDET, J., FRANÇOIS, L. et ALLÈGRE, C. (2003). Basalt weathering laws and the impact of basalt weathering on the global carbon cycle. *Chemical Geology*, 202:257–273.
- DONOGHUE, E., TROLL, V., HARRIS, C., O'HALLORAN, A., WALTER, R. et PEREZ TORRADO, F. (2008). Low-temperature hydrothermal alteration of intra-caldera tuffs, Miocene Tejada caldera, Gran Canaria, Canary islands. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 176: 551–564.
- DOREMUS, R. (1975). Interdiffusion of hydrogen and alkali ions in a glass surface. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 19:137–144.
- DREVER, J. et STILLINGS, L. (1997). The role of organic acids in mineral weathering. *Colloids and Surfaces*, 120:167–181.
- DUFF, R., WEBLEY, D. et SCOTT, R. (1962). Solubilization of minerals and related materials by 2-ketogluconic acid-producing bacteria. *Soil Science*, 95:105–114.
- EDMOND, J., MEASURES, C., MCDUFF, R., CHAN, L., COLLIER, R., GRANT, B., GORDON, L. et CORLISS, J. (1979). Ridge crust hydrothermal activity and the balances of the major and minor elements in the ocean - Galapagos data. *Earth and Planetary Science Letters*, 46:1–18.
- EHRlich, H. (2006). *Geomicrobiology : relative roles of bacteria and fungi as geomicrobial agents*, volume 95, pages 1–28. Cambridge University Press.
- FARALDO-GOMEZ, J. et SANSOM, M. (2003). Acquisition of siderophores in gram-negative bacteria. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4:105–116.
- FARKAS, E., ENYEDY, E. et CSOKA, H. (1999). A comparison between the chelating properties of some dihydroxamic acids, desferrioxamine-B and acetohydroxamic acid. *Polyhedron*, 18:2391–2398.
- FERRAND, J. (2014). Le phénomène de brunissement des vitraux médiévaux : critères d'identification et nature de la phase d'altération. Thèse de doctorat, Université Paris-Est Marne-La-Vallée.

- FERREIRO, E. et BUSSETTI, S. (2007). Thermodynamic parameters of adsorption of 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridyl on hematite, kaolinite and montmorillonites. *Colloids Surfaces*, 301:117–128.
- FERREIRO, E., BUSSETTI, S. et HELMY, A. (1983). Sorption of 2,2'-bipyridine on clays and oxides. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk*, 146:369–378.
- FERRET, C. (2012). Rôle des *Pseudomonas fluorescents* dans la biodisponibilité des métaux contaminant les minéraux du sol : application à la phytoremédiation. Thèse de doctorat, Université de Strasbourg.
- FERRET, C., STERCKMAN, T., CORNU, J., GANGLOFF, S., SCHALK, I. et GEOFFROY, V. (2014). Siderophore-promoted dissolution of smectite by fluorescent *Pseudomonas*. *Environmental Microbiology Reports*, 6:459–467.
- FILLOUX, A. et VALLET, I. (2003). Biofilm : positioning and organisation of bacterial communities. *Medecine Sciences*, 19:77–83.
- FISK, M., GIOVANNONI, S. et THORSETH, I. (1998). Alteration of oceanic volcanic glass : Textural evidence of microbial activity. *Science*, 281:978–979.
- FLAATHEN, T., GISLASON, S. et OELKERS, E. (2010). The effect of aqueous sulphate on basaltic glass dissolution rate. *Chemical Geology*, 8:345–354.
- FLEMMING, H. et WINGENDER, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8:623–633.
- FOLSCHWEILLER, N., GALLAY, J., VINCENT, M., ABDALLAH, M., PATTUS, F. et SCHALK, I. (2002). The interaction between pyoverdine and its outer membrane receptor in *Pseudomonas aeruginosa* leads to different conformers : A time-resolved fluorescence study. *Biochemistry*, 41:14591–14601.
- FOURNIER, M., GIN, S. et FRUGIER, P. (2014). Resumption of nuclear glass alteration : State of the art. *Journal of Nuclear Materials*, 448:348–363.
- FOX, T. et COMERFORD, N. (1990). Low molecular-weight organic acids in selected forest soils of the southeastern USA. *Soil Science Society*, 54:1139–1144.
- FRANKLIN, S., HAJASH, A., DEWERS, T. et TIEH, T. (1994). The role of carboxylic acids in albite and quartz dissolution : An experimental study under diagenetic conditions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 57:4259–4279.
- FRANZON, H., ZERENBERG, R. et SCHIFFMAN, P. (2008). Chemical transport in geothermal systems in Iceland : Evidence from hydrothermal alteration. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 173:217–229.

- FRUGIER, P., GIN, S., LARTIGUE, J. et DELOULE, E. (2006). SON 68 glass dissolution kinetics at high reaction progress : Mechanisms accounting for the residual alteration rate. *Materials Research Society Symposia Proceedings*, 932:305–312.
- FRYER, B., SIMON, E. et LONGERICH, H. (1993). The application of laser ablation microprobe-inductively coupled plasma spectrometry (LAM-ICP-MS) to in-situ (U)Pb geochronology. *Chemical Geology*, 109:1–8.
- FURNES, H., MUEHLENBACHS, K., TORSVIK, T., THORSETH, I. et TUMYR, O. (2001a). Microbial fractionation of carbon isotopes in altered basaltic glass from the Atlantic Ocean, Lau Basin and Costa Rica Rift. *Chemical Geology*, 173:313–330.
- FURNES, H. et STAUDIGEL, H. (1999). Biological mediation in ocean crust alteration : How deep is the deep biosphere? *Earth and Planetary Sciences Letters*, 166:97–103.
- FURNES, H., STAUDIGEL, H., THORSETH, I., TORSVIK, T., MUEHLENBACHS, K. et TUMYR, O. (2001b). Bioalteration of basaltic glass in the oceanic crust. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 2:97–103.
- FURRER, G. et STUMM, W. (1986). The coordination chemistry of weathering : I. Dissolution kinetics of  $\text{Al}_2\text{O}_3$  and  $\text{BeO}$ . *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 50:1847–1860.
- GAGNON, J., FRYER, B., SAMSON, I. et WILLIAMS-JONES, A. (2008). Quantitative analysis of silicate certified reference materials by LA-ICP-MS with and without an internal standard. *Analytical Atomic Spectrometry*, 23:1529–1537.
- GAILLARDET, J., DUPRÉ, B., LOUVAT, P. et ALLÈGRE, C. (1999). Global silicate weathering and  $\text{CO}_2$  consumption rates deduced from the chemistry of large rivers. *Chemical Geology*, 159:3–30.
- GALECZKA, I., WOLFF-BOENISCH, D., OELKERS, E. et GISLASON, S. (2014). An experimental study of basaltic glass- $\text{H}_2\text{O}$ - $\text{CO}_2$  interaction at 22 and 50°C : Implications for subsurface storage of  $\text{CO}_2$ . *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 126:123–145.
- GALLIEN, J., GOUGET, B., CARROT, F., ORIAL, F. et BRUNET, A. (2001). Alteration of glasses by micro-organisms. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, 181:610–615.
- GARBE-SCHÖNBERG, C., REIMANN, C. et PAVLOV, V. (1997). Laser ablation ICP-MS analyses of tree-ring profiles in pine and birch from N Norway and NW Russia - a reliable record of the pollution history of the area? *Environmental Geology*, 32:9–16.
- GEISLER, T., NAGEL, T., KILBURN, M., JANßEN, A., ICENHOWER, J., FONSECA, R., GRANGE, M. et NEMCHIN, A. (2015). The mechanism of borosilicate glass corrosion revisited. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 158:112–129.

- GENESTE, G., BOUYER, F. et GIN, S. (2006). Hydrogen-sodium interdiffusion in borosilicate glasses investigated from first principles. *Journal of Non-Crystalline Materials*, 352:3147–3152.
- GENTAZ, L. (2011). Simulation et modélisation de l'altération des verres de composition médiévale dans l'atmosphère urbaine. Thèse de doctorat, Université Paris-Est.
- GIN, S., ABDELOUAS, A., CRISCENTI, L., EBERT, W., FERRAND, K., GEISLER, T., HARRISON, M., INAGAKI, Y., MITSUI, S., MUELLER, K., MARRA, J., PANTANO, C., PIERCE, E., RYAN, J., SCHOFIEL, J., STEEFEL, C. et VIENNA, J. (2014). An international initiative on long-term behavior of high-level nuclear waste glass. *Materials Today*, 16:243–248.
- GIN, S., BEAUDOUX, X., ANGELI, F., JÉGOU, C. et GODON, N. (2012). Effect of composition on the short-term and long-term dissolution rates of ten borosilicate glasses of increasing complexity from 3 to 30 oxides. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 358:2559–2570.
- GIN, S., FRUGIER, P., JOLLIVET, P., FRUGUIER, F. et CURTI, E. (2013). New insight into the residual rate of borosilicate glasses : effect of S/V and glass composition. *International Journal of Applied Glass Science*, 4:371–382.
- GIN, S., JOLLIVET, P., FOURNIER, M., ANGELI, F., FRUGIER, P. et CHAPENTIER, T. (2015). Origin and consequences of silicate glass passivation by surface layers. *Nature Communications*, 6:6360.
- GISLASON, S., ARNORSSON, S. et ARMANNSSON, H. (1986). Chemical weathering of basalt in southwest Iceland : effects of runoff, age of rocks and vegetative glacial cover. *American Journal of Science*, 296:837–907.
- GISLASON, S. et EUGSTER, H. (1987a). Meteoric water-basalt interactions. I : A laboratory. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 51:2827–2840.
- GISLASON, S. et EUGSTER, H. (1987b). Meteoric water-basalt interactions. II : A field study in n.e. iceland. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 51:2841–2855.
- GISLASON, S. et OELKERS, E. (2003). Mechanism, rates and consequences of basaltic glass dissolution : II. An experimental study of the dissolution rates of basaltic glass as a function of pH and temperature. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67:3817–3832.
- GISLASON, S., OELKERS, E., EIRIKSDOTTIR, E., KARDJILOV, M., GISLADOTTIR, G., SIGFUSSON, G., SNORRASON, A., ELEFSEN, S., HARDARDOTTIR, J., TORSSANDER, P. et OSKARSSON, N. (2009). Direct evidence of the feedback between climate and weathering. *Earth and Planetary Science Letters*, 277:213–222.

- GISLASON, S., VELEN, D. et LIVI, K. (1992). Characterization and interpretation of alteration products. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 57:1459–1471.
- GLEDHILL, M. et BUCK, K. (2012). Direct evidence of the feedback between climate and weathering. *Frontiers in Microbiology*, 3:69.
- GODON, N., THOMASSIN, J. et TOURAY, J. (1988). Experimental alteration of R7T7 nuclear-model glass in solutions with different salinities (90°C, 1 bar). implications for the selection of geological repositories. *Journal of Materials Science*, 23:126–134.
- GONZALEZ, J., FERNANDEZ, A., MAO, X. et RUSSO, R. (2004). Scanning vs. single spot laser ablation ( $\lambda = 213$  nm) inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, 59:369–374.
- GORBUSHINA, A. (2006). Life on the rocks. *Environmental Microbiology*, 9:1613–1631.
- GRAMBOW, B., JERCINOVIC, M. et BYERS, C. (1985). *Scientific basis for nuclear waste management*, chapitre Weathered basalt glass : A natural analogue for the effects of reaction progress on nuclear waste glass alteration. L.O. Werme (Ed.).
- GRASES, F., GENESTAR, C. et MILLAN, A. (1989). The influence of some metallic ions and their complexes on the kinetics of crystal growth of calcium oxalate. *Journal of Crystal Growth*, 94:5007–5012.
- GRATUZE, B. (1999). Obsidian characterization by laser-ablation ICP-MS and its application to prehistoric trade in the Mediterranean and the near East : sources and distribution of obsidian within the Aegean and Anatolia. *Journal of Archaeological Science*, 26:869–881.
- GRATUZE, B., BLET-LEMARQUAND, M. et BARRANTON, J. (2001). Mass spectrometry with laser sampling : a new tool to characterize archaeological materials. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 247:645–656.
- GREENWALD, J., ZEDER-LUTZ, G., HAGEGE, A., CELIA, H. et PATTUS, F. (2008). The metal dependance of pyoverdine interactions with its outer membrane receptor FpvA. *Journal of Bacteriology*, 190:6548–5558.
- GUILLOT, B. et SATOR, N. (2007). A computer simulation study of natural silicate melts. Part I : Low pressure properties. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71:1249–1265.
- GUNNARSON, I. et ANNORSSON, S. (2000). Amorphous silica solubility and the thermodynamic properties of  $\text{H}_4\text{SiO}_4$  in the range 0°C to 350°C at  $P_{\text{sat}}$ . *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64:2295–2307.
- GUY, C. et SCHOTT, J. (1989). Multisite surface reaction versus transport control during the hydrolysis of a complex oxide. *Chemical Geology*, 78:181–204.

- GUYOT, F., DAVAL, D., DUPRAZ, S., MARTINEZ, I., MENEZ, B. et SISSMANN, O. (2011). CO<sub>2</sub> geological storage : The environmental mineralogy perspective. *Comptes Rendus Geoscience*, 343:246–259.
- HALICZ, L. et GÜNTHER, D. (2004). Quantitative analysis of silicates using LA-ICP-MS with liquid calibration. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 19:1539–1545.
- HALLIDAY, A., LEE, D., CHRISTENSEN, J., REHKAMPER, M., YI, W., LUO, X., HALL, C., BALLENTINE, C., PETTKE, T. et STIRLING, C. (1998). Applications of multiple collector ICP-MS to cosmochemistry, geochemistry and paleoceanography. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62:919–940.
- HART, S. et STAUDIGEL, H. (1982). The control of alkalis and uranium in sea-water by ocean crust alteration. *Earth and Planetary Science Letters*, 58:202–212.
- HAUSRATH, E., NEAMAN, A. et BRANTLEY, S. (2009). Elemental release rates from dissolving basalt and granite with and without organic ligands. *American Journal of Science*, 309:633–660.
- HAY, R. et IJIMA, A. (1968). Petrology of palagonite tuffs of Koko craters, Oahu, Hawaii. *Contributions to Mineralogy and Petrology*, 17:141–154.
- HEINRICH, C., PETTKE, T., HALTER, W., AIGNER-TORRES, M., AUDETAT, A., GÄIJNTHNER, D., HATTENDORF, B., GUILLONG, M. et HORN, I. (2003). Quantitative multi-element analysis of minerals, fluid and melt inclusions by laser-ablation inductively-coupled-plasma mass-spectrometry. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67:3473–3497.
- HELDAL, M., NORLAND, S. et TUMYR, O. (1985). X-ray microanalytic method for measurement of dry matter and elemental content of individual bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 50:1251–1257.
- HELLMANN, R., COTTE, S., CADEL, E., MALLADI, S., KARLSSON, L., LOZANO-PEREZ, S., CABIÉ, M. et SEYEUX, A. (2015). Nanometre-scale evidence for interfacial dissolution-reprecipitation control of silicate glass corrosion. *Nature Materials*, 14:307–311.
- HENRI, P. (2015). Etude de l'altération précoce des verres basaltiques par les microorganismes en contexte hydrothermal océanique : Exemple du site de Lucky Strike (dorsale médio-Atlantique, 37 N). Thèse de doctorat, Institut de Physique du Globe de Paris.
- HERNANZ, A., GAVIRA-VALLEJO, J. et RUIZ-LOPEZ, J. (2007). Calcium oxalates and prehistoric paintings. the usefulness of these biomaterials. *Journal of optoelectronics and advanced materials*, 9:512–521.

- HERNLEM, B., VANE, L. et SAYLES, G. (1996). Stability constants for complexes of the siderophore desferrioxamine-B with selected heavy metal cations. *Inorganica Chimica Acta*, 244:179–184.
- HERRERA, A. et COCKELL, C. (2008). Bacterial colonization and weathering of terrestrial obsidian in Iceland. *Geomicrobiology Journal*, 25:25–37.
- HERSMAN, L., HUANG, A., MAURICE, P. et FORSYTHE, J. (2000). Siderophore production and iron reduction by *Pseudomonas mendocina* in response to iron deprivation. *Geomicrobiology*, 17:1–13.
- HERSMAN, L., LLOYD, T. et SPOSITO, G. (1995). Siderophore-promoted dissolution of hematite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 16:3327–3330.
- HERSMAN, L., MAURICE, P. et SPOSITO, G. (1996). Iron acquisition from hydrous Fe(III)-oxides by an aerobic *Pseudomonas* sp. *Chemical Geology*, 132:25–31.
- HIRATA, T. (1997). Soft ablation technique for laser ablation-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12:1337–1342.
- HIRATA, T., HATTORI, M. et TANAKA, T. (1998). In-situ osmium isotope ratio analyses of iridosmines by laser ablation-multiple collector-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Geomicrobiology*, 144:269–280.
- HOFMANN, A. (1988). Chemical differentiation of the Earth : The relationship between mantle, continental crust, and oceanic crust. *Earth and Planetary Science Letters*, 90:297–314.
- HOFTE, M., BUYSSENS, S., KOEDAM, N. et CORNELIS, P. (1993). Zinc affects siderophore-mediated high affinity iron uptake systems in the rhizosphere *Pseudomonas aeruginosa* 7nsk2. *Biometals*, 6:85–91.
- HOLDREN, G. et SPEYER, P. (1985). Reaction rate-surface area relationships during the early stages of weathering. Initial observations. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 49:675–681.
- HOLMEN, B. et CASEY, W. (1996). Hydroxamate ligands , surface chemistry, and the mechanism of ligand-promoted dissolution of goethite [-FeOOH(s)]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60:4403–4416.
- HONNOREZ, J. (2003). Hydrothermal alteration vs. ocean-floor metamorphism. A comparison between two case histories : the TAG hydrothermal mound (Mid-Atlantic Ridge) vs. DSDP/ODP Hole 504B (Equatorial East Pacific). *Comptes-Rendus Geoscience*, 335:781–824.
- HU, X. et BOYER, G. (1996). Siderophore-mediated aluminum uptake by *Bacillus megaterium* ATCC 19213. *Applied and Environmental Microbiology*, 62:4044–4048.

- HUANG, W. et KELLER, W. (1972). Organic acids as agents of chemical weathering of silicate minerals. *Nature*, 239:149–151.
- HUGUENOT, D. (2010). Mise au point d'un procédé associant bioaugmentation et phytoextraction pour le traitement de sédiments viticoles riches en cuivre. Mise au point au laboratoire et application en microcosmes. Thèse de doctorat, Université de Haute-Alsace.
- HUH, Y., CHAN, L., ZHANG, L. et EDMOND, J. (1998). Lithium and its isotopes in major world rivers : Implications for weathering and the oceanic budget. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62:2039–2051.
- HUNTER, A., KEMPTON, P. et GREENWOOD, P. (1999). Low-temperature fluid-rock interaction - an isotopic and mineralogical perspective of upper crustal evolution, eastern flank of the Juan de Fuca Ridge JdFR , ODP Leg 168. *Chemical Geology*, 155:3–28.
- HUNTER, K. et BOYD, P. (2007). Iron-binding ligands and their role in the ocean biogeochemistry of iron. *Environmental Chemistry*, 4:221–232.
- HUTCHENS, E. (2009). Microbial selectivity on mineral surfaces : Possible implications for weathering processes. *Fungal Biology Reviews*, 23:115–121.
- HUTCHENS, E., VALSAMI-JONES, E., HAROUIYA, N., CHAIRAT, C., OELKERS, E. et MCEL-DONEY, S. (2006). An experimental investigation of the effect of *Bacillus megaterium* on apatite dissolution. *Geomicrobiology Journal*, 23:177–182.
- HUTCHENS, E., VALSAMI-JONES, E., MCEL-DOWNEY, S., GAZE, W. et MCLEAN, J. (2003). The role of heterotrophic bacteria in feldspar dissolution : An experimental approach. *Mineralogical Magazine*, 67:1157–1170.
- HUYER, M. et PAGE, W. (1988). Zn increases siderophore production in *Azotobacter vinelandii*. *Applied Environmental Microbiology*, 54:2625–2631.
- IZAWAA, M., BANERJEE, N., FLEMMING, R., BRIDGE, N. et SCHULTZ, C. (2003). Basaltic glass as a habitat for microbial life : Implications for astrobiology and planetary exploration. *Planetary and Space Science*, 58:583–591.
- JEONG, G. et SOHN, Y. (2011). Microtextures, microchemistry and mineralogy of basaltic glass alteration, Jeju Island, Korea, with implications for elemental behavior. *American Mineralogist*, 96:1129–1147.
- JERCINOVIC, M., KEIL, K., SMITH, M. et SCHMITT, R. (1990). Alteration of basaltic glasses from north-central British Columbia, Canada. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 54:2679–2696.

- JOHNSON, K., GORDON, R. et COALE, K. (1997). What controls dissolved iron concentrations in the world ocean? *Marine Chemistry*, 57:137–161.
- JOLLIVET, P., ANGELI, F., CAILLETEAU, C., DEVREUX, F., FRUGIER, P. et GIN, S. (2008). Investigation of gel porosity clogging during glass leaching. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 354:4952–4958.
- JONES, B. et GOODBODY, Q. (1982). The geological significance of endolithic algae in glass. *Canadian Journal of Earth Sciences*, 19:671–678.
- KADIK, A. (1997). Evolution of Earth's redox state during upwelling of carbon-bearing mantle. *Physics of the Earth and Planetary Interiors*, 296:837–907.
- KALINOWSKI, B., LIERMANN, L., BRANTLEY, S., BARNES, A. et PANTANO, C. (1999). X-ray photoelectron evidence for bacteria-enhanced dissolution of hornblende. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64:1331–1343.
- KALINOWSKI, B., LIERMANN, L., GIVENS, S. et BRANTLEY, S. (2000). Rates of bacteria-promoted solubilization of Fe from minerals : A review of problems and approaches. *Chemical geology*, 169:357–370.
- KARRAT, L., PERRUCHOT, A. et MACAIRE, J. (1998). Weathering of a quaternary glass-rich basalt in Bakrit, middle Atlas mountains, Morocco. Comparison with a glass-poor basalt. *Geodinamica Acta*, 5:205–215.
- KASTAING, J. (1987). Theoretical constraints on oxygen and carbon dioxide concentrations in the precambrian atmosphere. *Precambrian Research*, 34:205–229.
- KASTING, J., HOWARD, M., WALLMANN, K., VEIZER, J., SHIELDS, G. et JAFFRÉS, J. (2006). Paleoclimates, ocean depth, and the oxygen isotopic composition of seawater. *Earth and Planetary Science Letters*, 252:82–93.
- KINZLER, K., GEHRKE, T., TELEDGI, J. et SAND, W. (2003). Bioleaching - a result of interfacial processes caused by extracellular polymeric substances (EPS). *Hydrometallurgy*, 71:83–88.
- KISS, T. et FARKAS, E. (1998). Metal-binding ability of desferrioxamine-B. *Journal of inclusion phenomena and molecular recognition in chemistry*, 32:385–403.
- KOSTKA, J., WU, J., NEALSON, K. et STUCKI, J. (1999). The impact of structural Fe(III) reduction by bacteria on the surface chemistry of smectite clay minerals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63:3705–3713.
- KRAEMER, S. (2004). Iron oxide dissolution and solubility in the presence of siderophores. *Aquatic Sciences*, 66:3–18.

- KRAEMER, S., CHEAH, S., ZAPF, R., XU, J., RAYMOND, K. et SPOSITO, G. (1999). Effect of hydroxamate siderophores on Pb(II) adsorption and Fe release by goethite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63:3003–3008.
- KRUMBEIN, W., URZI, C. et GEHRMANN, C. (1991). Biocorrosion and biodeterioration of antique and medieval glass. *Geomicrobiology*, 9:139–160.
- LAGLERA, L., BATTAGLIA, G. et VAN DE BERG, C. (2011). Effect of humic substances on the iron speciation in natural waters. *Marine Chemistry*, 127:134–143.
- LANDFORD, W., DAVIS, K., LAMARCHE, P. et LAURSEN, T. (1979). Hydration of soda-lime glass. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 33:249–266.
- LAVERNE, C., AGRINIER, P., HERMITTE, D. et BOHN, M. (2001). Chemical fluxes during hydrothermal alteration of a 1200-m long section of dikes in the oceanic crust, DSDP/ODP hole 504B. *Chemical Geology*, 181:73–98.
- LE GAL, X., CROVISIER, J., GAUTHIER-LAFAYE, H. et GRAMBOW, B. (1999). Meteoric alteration of Icelandic volcanic glass : Long-term changes in the mechanism. *Comptes-Rendus de l'Academie des Sciences de Paris, Sciences de la Terre et des Planètes*, 329:175–181.
- LEAVENS, P. (1968). New data on whewellite. *The American Mineralogist*, 53:455–463.
- LÉCUYER, C. et RICARD, Y. (1999). Long-term fluxes and budget of ferric iron : Implications for the redox states of the Earth's mantle and atmosphere. *Earth and Planetary Science Letters*, 165:197–211.
- LEE, C., MORTON, D., LITTLE, M., KISTLER, R., HORODYSKYJ, U., LEEMAN, W. et AGRINIER, A. (2008). Regulating continent growth and composition by chemical weathering. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105:4981–4986.
- LEPOT, K., BENZERARA, K. et PHILIPPOT, P. (2011). Biogenic versus metamorphic origins of diverse microtubes in 2.7 Gyr old volcanic ashes : Multi-scale investigations. *Earth and Planetary Science Letters*, 312:37–47.
- LI, J., BENZERARA, K., BERNARD, S. et BEYSSAC, O. (2013). The link between biomineralization and fossilization of bacteria : Insights from field and experimental studies. *Chemical Geology*, 359:49–69.
- LI, X., NIKAIDO, H. et WILLIAMS, K. (1997). Silver-resistant mutants of *Escherichia coli* display active efflux of Ag<sup>+</sup> and are deficient in porins. *Journal of Bacteriology*, 179:6127–6132.
- LIBOUREL, G., VERNEY-CARRON, A., MORLOK, A., GIN, S., STERPENICH, J., MICHELIN, A., NEFF, D. et DILLMANN, P. (2011). The use of natural and archeological analogues for

- understanding the long-term behavior of nuclear glasses. *Comptes-Rendus Géosciences*, 343:237–245.
- LIERMANN, L., KALINOWSKI, B., BRANTLEY, S. et FERRY, J. (2000). Role of bacterial siderophores in dissolution of hornblende. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64:587–602.
- LIU, Q., ZHANG, B., SHEN, Z. et LU, H. (2006). A crude protective film on historic stones and its artificial preparation through biomimetic synthesis. *Applied surface science*, 253:2625–2632.
- LIU, X. et MILLERA, F. (2002). The solubility of iron in seawater. *Marine Chemistry*, 77:43–54.
- LIU, X. et RUDNICK, R. (2011). Constraints on continental crustal mass loss via chemical weathering using lithium and its isotopes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108:20873–20880.
- LIU, Y., HU, Z., GAO, S., GÜNTHER, D., XU, J., GAO, C. et CHEN, H. (2008). In-situ analysis of major and trace elements of anhydrous minerals by LA-ICP-MS without applying an internal standard. *Chemical Geology*, 257:34–43.
- LOMBARDO, T., GENTAZ, L., VERNEY-CARRON, A., CHABAS, A., LOISEL, C., NEFF, D. et LEROY, E. (2013). Characterization of complex alteration layers in medieval glasses. *Corrosion Science*, 72:10–19.
- LOUVAT, P. et ALLÈGRE, C. (1997). Present denudation rates on the island of Reunion determined by river geochemistry : Basalt weathering and mass budget between chemical and mechanical erosion. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61:3645–3669.
- LUCKSCHEITER, B. et NESOVIC, M. (2004). Short-term corrosion of HLM glass in aqueous solutions enriched with various metal cations. *Of Nuclear Materials*, 327:182–187.
- LUDDEN, J. et THOMPSON, G. (1978). Behaviour of rare earth elements during submarine weathering of tholeiitic basalt. *Nature*, 274:147–149.
- LUDWIG, C., CASEY, W. et ROCK, P. (1995). Prediction of ligand-promoted dissolution rates from the reactivities of aqueous complexes. *Nature*, 375:44–47.
- LYSNES, K., THORSETH, I., STEINSBU, B., OVREAS, L., TORSVIK, T. et PEDERSEN, R. (2004). Microbial community diversity in seafloor basalt from the Arctic spreading ridges. *FEMS Microbiology Ecology*, 50:213–230.
- LYSNES, K., TORSVIK, T., THORSETH, I. et PEDERSEN, R. (2003). Microbial populations in ocean floor basalt : Results from ODP leg 1871. *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*, 187:chapitre 6.

- MACRELLIS, H., TRICK, C., RUE, E., SMITH, G. et BRULAND, K. (2001). Collection and detection of natural iron-binding ligands from seawater. *Marine Chemistry*, 76:175–187.
- MAHER, K., DE PAELO, D. et LIN, J. (2004). Rates of silicate dissolution in deep sea sediments : In situ measurement using  $^{234}\text{U}/^{238}\text{U}$  of pore fluids. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68:4629–4648.
- MARTINEZ-LUEVANOS, A., RODRIGUEZ-DELGADO, M., URIBE-SALAS, A., CARILLO-PEDROZA, F. et OSUNA-ALARCON, J. (2011). Leaching kinetics of iron from low grade kaolin by oxalic acid solutions. *Applied Clay Science*, 51:473–477.
- MASON, O., DI MEO-SAVOIE, C., VAN NOSTRAND, J., ZHOU, J., FISK, M. et GIOVANNONI, J. (2009). Prokaryotic diversity, distribution and insights into their role in biogeochemical cycling in marine basalts. *ISME J*, 2:231–242.
- MAURICE, P., LEE, Y. et HERSMAN, L. (2000). Dissolution of Al-substituted goethites by an aerobic *Pseudomonas mendocina* var. bacteria. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64:1363–1374.
- MAURICE, P., VIERKORN, M., HERSMAN, L., FULGHUM, J. et FERRYMAN, A. (2001). Enhancement of kaolinite dissolution by an aerobic *Pseudomonas mendocina* bacterium. *Geomicrobiology*, 18:21–35.
- MCDUGALL, T., JACKETT, D., MILLERO, F., PAWLOWICZ, R. et BARKER, P. (2012). A global algorithm for estimating Absolute Salinity. *Ocean Sciences*, 8:1123–134.
- MESSIGA, B. et RICCARDI, M. (2006). Alteration behaviour of glass panes from the medieval pavia Charterhouse (italy). *Journal of Cultural Heritage*, pages 334–338.
- MEYER, J. et ABDALLAH, M. (1978). The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens* : Biosynthesis, purification and physicochemical properties. *Journal of General Microbiology*, 107:319–328.
- MEYER, J., STINTZI, A., DE VOS, D., CORNELIS, P. et BUDZIKIEWICZ, H. (1997). Use of siderophores to type *pseudomonads* : The three *Pseudomonas aeruginosa* pyoverdine systems. *Microbiology*, 143:35–43.
- MILLERO, F., FEISTEL, R., WRIGHT, D. et MCDUGALL, T. (2008). The composition of standard seawater and the definition of the reference-composition salinity scale. *Deep Sea Research Part I : Oceanographic Research Papers*, 55:60–72.
- MORIN, G., VIGIER, N. et VERNEY-CARRON, A. (2015). Enhanced dissolution of basaltic glass in brackish waters : Impact on biogeochemical cycles. *Earth and Planetary Science Letters*, 417:1–8.

- MULARIE, W., WF, F. et ARC, W. (1979). Influence of surface potential on the kinetics of glass reactions with aqueous solutions. *Journal of Material Science*, 14:2659–2664.
- MUNCH, J. et OTTOW, J. (1980). Preferential reduction of amorphous to crystalline iron oxides by bacterial activity. *Soil Science*, 129:15–21.
- MWJI, E., GLEDHILL, M., MILTON, J., TARRAN, G., USSHER, S., THOMPSON, A., WOLFF, G., WORSFOLD, P. et ACHTERBERG, E. (2008). Hydroxamate siderophores : occurrence and importance in the Atlantic ocean. *Environmental Science et Technology*, 42:8675–8680.
- NAKAMURA, K., KATO, Y., TAMAKI, K. et ISHII, T. (2007). Geochemistry of hydrothermally altered basaltic rocks from the Southwest Indian Ridge near the Rodriguez Triple Junction. *Marine Geology*, 239:125–141.
- NEAMAN, A., CHOROVER, J. et BRANTLEY, S. (2005). Implications of the evolution of organic acid moieties for basalt weathering over geological time. *American Journal of Science*, 305: 147–185.
- NEILANDS, J. (1981). Microbial iron compounds. *Annual Review of Biochemistry*, 50:715–732.
- NEWMAN, D. (2001). How bacteria respire minerals. *Science*, 292:1312–1313.
- NIELSEN, J., JURETSCHKO, S., WAGNER, M. et NIELSEN, P. (2002). Abundance and phylogenetic affiliation of iron reducers in activated sludge as assessed by fluorescence in situ hybridization and microautoradiography. *Applied and Environmental Microbiology*, 68:4629–4636.
- NIES, H. (2003). Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. *Microbiology Reviews*, 27:313–339.
- NORD, G. et WERNBERG, O. (1975). Reduction of tris(2,2'-bipyridyl) and tris(1,10-phananthroline) complexes of iron(III) and osmium(III) by hydroxide ion. *Journal of the Chemical Society*, 10:845–849.
- NOWACK, B. et SIGG, L. (1997). Dissolution of Fe(III) (hydr)oxides by metal-EDTA complexes. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61:951–963.
- OELKERS, E. (2001). General kinetic description of multioxide silicate mineral and glass dissolution. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65:3703–3719.
- OELKERS, E. et GISLASON, S. (2001). The mechanism, rates and consequences of basaltic glass dissolution : I. An experimental study of the dissolution rates of basaltic glass as a function of aqueous Al, Si and oxalic acid concentration at 25°C and pH 3 and 11. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65:3671–3681.

- OELKERS, E. et SCHOTT, J. (1998). Does organic acid adsorption affect alkali feldspar dissolution rates? *Chemical Geology*, 151:235–245.
- OELKERS, E. et SCHOTT, J. (2009). Thermodynamics and kinetics of water-rock interaction. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 70:569p.
- OELKERS, E., SCHOTT, J. et DEVIDAL, J. (1994). The effect of aluminium, pH, and chemical affinity on the rates of aluminosilicate dissolution reactions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58:2011–2024.
- OLSEN, A. et RIMSTIDT, D. (2008). Oxalate-promoted forsterite dissolution at low pH. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72:1758–1766.
- O'NEILL, H., DC, R., CANIL, D., GEIGER, C., CR, R., SEIFERT, F. et WOODLAND, A. (1993). Ferric iron in the upper mantle and in transition zone assemblages : implications for relative oxygen fugacities in the mantle. *Evolution of the Earth and Planets*, 14:73–88.
- OPFERGELT, S. et DELMELLE, P. (2012). Silicon isotopes and continental weathering processes : Assessing controls on si transfer to the ocean. *Comptes-Rendus Geoscience*, 344:723–738.
- ORCUTT, B., SYLVAN, J., KNAB, N. et EDWARDS, K. (2011). Microbial ecology of the dark ocean above, at and below the seafloor. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 75:361–422.
- OULKADI, D., BALLAND-BOLOU-BI, C., BILLARD, P., KITZINGER, G., PARRELL, D., MUSTIN, C. et BANON, S. (2014a). Interactions of three soil bacteria species with phyllosilicate surfaces in hybrid silica gels. *Microbiology Letters*, 354:37–45.
- OULKADI, D., BALLAND-BOLOU-BI, C., MICHOT, L., GRYBOS, M., BILLARD, P., MUSTIN, C. et BANON, S. (2014b). Bioweathering of nontronite colloids in hybrid silica gel : implications for iron mobilization. *Journal of Applied Microbiology*, 116:325–334.
- PANIGHELLO, S., VAN ELTEREN, J., ORSEGA, E. et MORETTO, L. (2015). Laser ablation-ICP-MS depth profiling to study ancient glass surface degradation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407:3377–3391.
- PARRUZOT, B. (2014). Altération des verres basaltiques dans des environnements confinés : Analogie avec le stockage géologique des verres nucléaires. Thèse de doctorat, Commissariat à l'Énergie Atomique.
- PARRUZOT, B., JOLLIVET, P., RÉBISCOUL, D. et GIN, S. (2015). Long-term alteration of basaltic glass : Mechanisms and rates. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 154:28–48.

- PAULY, B., SCHIFFMAN, P., ZIERENBERG, R. et CLAGUE, D. (2011). Environmental and chemical controls on palagonitization. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 12:Q12017.
- PELEGRIN, E., CALAS, G., ILDEFONSE, P., JOLLIVET, P. et GALOISY, L. (2010). Structural evolution of glass during alteration : Application to nuclear waste glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 356:44–49.
- PERDRIAL, J., WARR, L., PERDRIAL, N., LETT, M. et ELSASS, F. (2009). Interaction between smectite and bacteria : Implications for bentonite as backfill material in the disposal of nuclear waste. *Chemical Geology*, 264:281–294.
- PERKINS, W., PEARCE, N. et WESTGATE, J. (1997). The development of laser ablation ICP-MS and calibration strategies : Examples from the analysis of trace elements in volcanic glasses shards and sulfide minerals. *Geostandards Newsletter*, 21:175–190.
- PETIT, J. (1992). Reasoning by analogy : Rational foundation of natural analogue studies. *Applied Geochemistry*, 1:9–11.
- PETIT, J., DELLA MEA, G., DRAN, J., MAGONTHIER, M., MANDO, P. et PACCAGNELLA, A. (1990). Hydrated-layer formation during dissolution of complex silicate glasses and minerals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 54:1941–1955.
- PEUBLE, S., GODARD, M., LUQUOT, L., ANDREANI, M., MARTINEZ, I. et GOUZE, P. (2015). CO<sub>2</sub> geological storage in olivine rich basaltic aquifers : New insights from reactive-percolation experiments. *Applied Geochemistry*, 52:174–190.
- PIERCE, E., RODRIGUEZ, E., CALLIGAN, L., SHAW, W. et MCGRAIL, B. (2008). An experimental study of the dissolution rates of simulated aluminoborosilicate waste glasses as a function of pH and temperature under dilute conditions. *Applied Geochemistry*, 23:2559–2573.
- PIRA, P., BURIAN, T., WILD, J., VYSIN, L., LANCOK, J., JUHA, L. et ZELINGER, Z. (2012). Ablation threshold of XUV laser ablation of LiF. *WDS'12 Proceedings of Contributed Papers*, 2:54–57.
- PISTINER, J. et HENDERSON, G. (2003). Lithium isotope fractionation during continental weathering processes. *Earth and Planetary Science Letters*, 214:327–339.
- PLIEGO, G., ZAZO, J., CASAS, J. et RODRIGUEZ, J. (2014). Fate of iron oxalates in aqueous solution : The role of temperature, iron species and dissolved oxygen. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2:2236–2241.
- Pogge von STRANDMANN, P., BURTON, K., JAMES, R., van CALSTEREN, P., GISLASON, S. et SIGFUSSON, B. (2008). The influence of weathering processes on riverine magnesium isotopes in a basaltic terrain. *Earth and Planetary Science Letters*, 276:187–197.

- Pogge von STRANDMANN, P., OPFERGELT, S., LAI, Y., SIGFUSSON, B., GISLASON, S. et BURTON, K. (2012). Lithium, magnesium and silicon isotope behaviour accompanying weathering in a basaltic soil and pore water profile in Iceland. *Earth and Planetary Science Letters*, 339:11–23.
- POKROVSKY, O., GOLUBEV, S. et JORDAN, G. (2009a). Effect of organic and inorganic ligands on calcite and magnesite dissolution rates at 60°C and 30 atm pCO<sub>2</sub>. *Chemical Geology*, 265:33–43.
- POKROVSKY, O., SHIROKOVA, L., BÉNÉZETH, P., SCHOTT, J. et GOLUBEV, S. (2009b). Effect of organic ligands and heterotrophic bacteria on wollastonite dissolution kinetics. *American Journal of Science*, 140:1–7.
- POPPE, K., TARAZ, K. et BUDZIKIEWICZ, H. (1987). Pyoverdine type siderophores from *Pseudomonas aeruginosa*. *Tetrahedron*, 43:2261–2272.
- RANA, M. et DOUGLAS, R. (1961a). The reaction between glass and water. part I. Experimental methods and observations. *Physics and Chemistry of Glasses*, 2:179–195.
- RANA, M. et DOUGLAS, R. (1961b). The reaction between glass and water. part II. Discussion of the results. *Physics and Chemistry of Glasses*, 2:196–205.
- RAYMOND, K., DERTZ, E. et KIM, S. (2003). Enterobactin : An archetype for microbial iron transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100:3584–3588.
- REBISCOUL, D., FRUGIER, P., GIN, S. et AYRAL, A. (2005). Protective properties and dissolution ability of the gel formed during nuclear glass alteration. *Journal of Nuclear Materials*, 342:26–24.
- RODEN, E. et ZACHARA, J. (1996). Microbial reduction of crystalline iron(III) oxides : Influence of oxide surface area and potential for cell growth. *Environmental Science and Technology*, 30:1618–1628.
- ROGERS, J. et BENNETT, P. (2004). Mineral stimulation of subsurface microorganisms : Release of limiting nutrients from silicates. *Chemical Geology*, 203:91–108.
- ROGERS, J., BENNETT, P. et CHOU, W. (1999). Feldspars as a source of nutrients for microorganisms. *American Mineralogist*, 83:1532–1540.
- ROSENBERG, D. et MAURICE, P. (2003). Siderophore adsorption to and dissolution of kaolinite at pH 3 to 7 and 22°C. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67:223–229.
- ROSS, K. et FISHER, R. (1986). Biogenic grooving on glass shards. *Geology*, 14:571–573.

- ROSSANO, S., BEHRENS, H. et WILKE, M. (2008). Advanced analyses of  $^{57}\text{Fe}$  Mössbauer data of aluminosilicate glasses. *Physics and Chemistry of Minerals*, 35:77–93.
- ROUXEL, O., DOBBEK, N., LUDDEN, J. et FOUQUET, Y. (2003). Iron isotope fractionation during oceanic crust alteration. *Chemical Geology*, 202:155–182.
- ROZALEN, M., RAMOS, M., HUERTAS, F., FIORE, S. et GERVILLA, F. (2013). Dissolution kinetics and biodurability of tremolite particles in mimicked lung fluids : Effect of citrate and oxalate. *Journal of Asian Earth Science*, 77:318–326.
- RUDNICK, R. (1995). Making continental crust. *Nature*, 378:571–578.
- RUSSO, R., MAO, X., LIU, H., GONZALES, J. et MAO, S. (2002). Laser ablation in analytical chemistry - a review. *Talanta*, 57:425–451.
- SAEBO, L. (1998). Eksperimentell omdaning av basaltisk glas : effekt av pH, oksasyre og temperatur. Thèse de doctorat, University of Bergen, Norvège.
- SANTELLI, C., EDGCOMB, V., BACH, W. et EDWARDS, K. (2009). The diversity and abundance of bacteria inhabiting seafloor lavas positively correlate with rock alteration. *Environmental Microbiology*, 11:86–98.
- SANTELLI, C., ORCUTT, B., BANNING, E., BACH, W., MOYER, C., SOGIN, M., STAUDIGEL, H. et EDWARDS, K. (2008). Abundance and diversity of microbial life in ocean crust. *Nature*, 453:653–656.
- SAYYED, R. et CHINCHOLKAR, S. (2006). Purification of siderophores of *Alcaligenes faecalis* on Amberlite XAD. *Biosource Technology*, 97:1026–1029.
- SCHALK, I., HANNAUER, M. et BRAUD, A. (2011). New roles for bacterial siderophores in metal transport and tolerance. *Environmental Microbiology*, 13:2844–2854.
- SCHALK, I., KYSLIK, P., PROMÉ, D., van DORSELAER, A., POOLE, K., ABDALLAH, M. et PATTUS, F. (1999). Copurification of the FpvA ferric pyoverdine receptor of *Pseudomonas aeruginosa* with its iron-free ligand : Implications for siderophore-mediated iron transport. *Biochemistry*, 38:9357–9365.
- SCHONS, V., AKTINSON, R., DUGAVE, C., GRAFF, R., MISLIN, G., ROCHET, L., HENNARD, C., KIEFFER, B., ABDALLAH, M. et SCHALK, I. (2005). The structure-activity relationship of ferric pyoverdine bound to its outer membrane transporter : Implications for the mechanism of iron uptake. *Biochemistry*, 44:14069–14079.
- SCHRAMM, B., DEVEY, C., GILLIS, K. et LACKSCHEWITZ, K. (2005). Quantitative assessment of chemical and mineralogical changes due to progressive low-temperature alteration of East Pacific Rise basalts from 0 to 9 Ma. *Chemical Geology*, 218:281–313.

- SCHWERTMANN, U. (1991). Solubility and dissolution of iron oxides. *Plant and soil*, 130:1–25.
- SCHWYN, B. et NEILANDS, J. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160:47–56.
- SHIROKOVA, L., BÉNÉZETH, P., POKROVSKY, O., GERARD, E., MENEZ, B. et ALFREDSSON, H. (2012). Effect of the heterotrophic bacterium *Pseudomonas reactans* on olivine dissolution kinetics and implications for CO<sub>2</sub> storage in basalts. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 80:30–35.
- SINCLAIR, D., KINSLEY, L. et MCCULLOH, M. (1998). High resolution analysis of trace elements in corals by laser ablation ICP-MS. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62:1889–1901.
- SIQIN, B., LI, Q. et GAN, F. (2013). Analysis of some Chinese potash glass by laser Ablation-inductively Coupled plasma-Atomic emission spectrometry and laser Ablation-inductively Coupled plasma-mass spectrometry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 9:1328–1333.
- SLEEP, N. et ZAHNLE, K. (2001). Carbon dioxide cycling and implications for climate on ancient Earth. *Journal of Geophysical Research : Planets*, 106:1373–1399.
- SMITH, D., SPIVAK, A., FISK, M., HAVEMAN, S. et STAUDIGEL, H. (2000). Tracer-based estimates of drilling-induced microbial contamination of deep sea crust. *Geomicrobiology*, 17:207–219.
- SMITS, M. (2006). *Mineral tunneling by fungi*, volume 130, pages 681–717. Cambridge University Press.
- STAUDIGEL, H., CHASTAIN, R. et YAYANOS, A. (1995). Biologically mediated dissolution of glass. *Chemical Geology*, 126:147–154.
- STAUDIGEL, H., FURNES, H., BANERJEE, N., DILEK, Y. et MUEHLENBACHS, K. (2006). Microbes and volcanoes : A tale from the oceans, ophiolites, and greenstone belts. *Geological Society of America*, 16:4–10.
- STAUDIGEL, H., FURNES, H., MCLOUGHLIN, N., BANERJEE, N., CONNELL, L. et TEMPLETON, A. (2008). 3.5 billion years of glass bioalteration : Volcanic rocks as a basis for microbial life ? *Earth Science Reviews*, 89:156–176.
- STAUDIGEL, H., HART, S., SCHMINCKE, H. et SMITH, B. (1989). Cretaceous ocean crust at DSDP site-417 and site-418 - carbon uptake from weathering versus loss by magmatic outgassing. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 53:3091–3094.

- STAUDIGEL, H., PLANK, T., WHITE, B. et SCHMINCKE, H. (1996). Geochemical fluxes during seafloor alteration of the basaltic upper oceanic crust : DSDP sites 417 and 418. *Geophysical Monograph*, 96:19–38.
- STEWART, A., HUDSON-EDWARDS, K. et DUBBIN, W. (2013). Mechanisms of goethite dissolution in the presence of desferrioxamine-B and Suwannee River fulvic acid at pH 6.5. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 115:1–14.
- STILLINGS, L., DREVER, J., BRANTLEY, S., SUN, Y. et OXBURGH, R. (1996). Rates of feldspar dissolution at pH 3-7 with 0-8 mM oxalic acid. *Chemical Geology*, 132:79–89.
- STILLINGS, L., DREVER, J. et POULSON, S. (1998). Oxalate adsorption at a plagioclase (An47) surface and models for ligand-promoted dissolution. *Environmental Science and Technology*, 32:2856–2864.
- STOCKMANN, G., SHIROKOVA, L., POKROVSKY, O., BÉNÉZETH, P., BOVET, N., GISLASON, S. et OELKERS, E. (2012). Does the presence of heterotrophic bacterium *Pseudomonas reactans* affect basaltic glass dissolution rates ? *Chemical Geology*, 296:1–18.
- STOCKMANN, G., WOLFF-BOENISH, D., GISLASON, S. et OELKERS, E. (2011). Do carbonate precipitates affect dissolution kinetics ? 1 : Basaltic glass. *Chemical Geology*, 284:306–316.
- STOTSKY, G. (1972). Activity, ecology and population dynamics of microorganisms in soils. *Critical Reviews in Microbiology*, 2:59–137.
- STRONCIK, N. et SCHMINCKE, H. (2001). Evolution of palagonite : Crystallization, chemical changes, and element budget. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 2:365–370.
- SZABO, O. et KARKAS, E. (2011). Characterization of Mn(II) and Mn(III) binding capability of natural siderophores desferrioxamine-B and desferricoprogen as well as model hydroxamic acids. *Inorganica Chimica Acta*, 376:500–508.
- TAYLOR, A. et LASAGA, A. (1999). The role of basalt weathering in the sr isotope budget of the oceans. *Chemical Geology*, 161:199–214.
- TECHER, I. (1999). Apports des analogues naturels vitreux à la validation des codes de prédiction du comportement à long-terme des verres nucléaires. Thèse de doctorat, Commissariat à l'Énergie Atomique.
- TECHER, I., ADVOCAT, T., LANCELOT, J. et LIOTARD, J. (2000). Basaltic glass : Alteration mechanisms and analogy with nuclear waste glasses. *Journal of Nuclear Materials*, 282:40–46.

- TECHER, I., ADVOCAT, T., LANCELOT, J. et LIOTARD, J. (2001a). Dissolution kinetics of basaltic glasses : Control by solution chemistry and protective effect of the alteration film. *Chemical Geology*, 176:235–263.
- TECHER, I., LANCELOT, J., CLAUER, N., LIOTARD, J. et ADVOCAT, T. (2001b). Alteration of a basaltic glass in an argillaceous medium : The Salagou dike of the Lodève permian Basin (France). Analogy with an underground nuclear waste repository. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65:1071–1086.
- TEMPLETON, A., STAUDIGEL, H. et TEBO, B. (2005). Diverse Mn(II)-oxidizing bacteria isolated from submarine basalts at Loihi Seamount. *Geomicrobiology*, pages 127–139.
- TEMPLETON, D. (2002). Molecular and cellular iron transport. *CRC Press*, page 848p.
- THIEN, B., GORDON, N., BALLESTERO, A., GIN, S. et AYRAL, A. (2002). The dual effect of Mg on the long-term alteration rate of AVM nuclear waste glasses. *Journal of Nuclear Materials*, pages 297–310.
- THOMASSIN, J. (1984). Etude expérimentale de l'altération des verres silicates dans l'eau douce et en milieu océanique. Thèse de doctorat, Université d'Orléans.
- THORSETH, I., FURNES, H. et HELDAL, M. (1992). The importance of microbiological activity in the alteration of natural basaltic glass. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 56:845–850.
- THORSETH, I., FURNES, H. et TUMYR, O. (1995a). Textural and chemical effects of bacterial activity on basaltic glass : An experimental approach. *Chemical Geology*, 119:139–160.
- THORSETH, I., PEDERSEN, R. et CHRISTIE, D. (2003). Microbial alteration of 0-30 Ma seafloor and sub-seafloor basaltic glasses from the Australian Antarctic Discordance. *Earth and Planetary Science Letters*, 215:237–247.
- THORSETH, I., TORSVIK, T., FURNES, H. et MUEHLENBACHS, K. (1995b). Microbes play an important role in the alteration of oceanic crust. *Chemical Geology*, 126:137–146.
- THORSETH, I., TORSVIK, T., TORSVIK, V., DAAE, F. et PEDERSEN, R. (2001). Diversity of life in ocean floor basalt. *Earth and Planetary Science Letters*, 194:31–37.
- TORSVIK, T., FURNES, H., MUEHLENBACHS, K., THORSETH, I. et TUMYR, O. (1998). Evidence for microbial activity at the glass-alteration interface in oceanic basalts. *Earth and Planetary Science Letters*, 162:1–4.
- TRCERA, N., CABARET, D., ROSSANO, S., FARGES, F., FLANK, A. et LAGARDE, P. (2009). Experimental and theoretical study of the structural environment of magnesium in minerals and silicate glasses using X-ray absorption near-edge structure. *Physics and Chemistry of Minerals*, 36:241–257.

- ULLMAN, W., KIRCHMAN, D., WELCH, S. et VANDEVIVERE, P. (1996). Laboratory evidence for microbially mediated silicate mineral dissolution in nature. *Chemical Geology*, 132:11–17.
- UROZ, S., CALVARUSO, C., TURPAULT, M. et FREY-KLETT, P. (2009). Mineral weathering by bacteria : Ecology, actors and mechanisms. *Trends in Microbiology*, 17:378–387.
- VALLE, N., VERNEY-CARRON, A., STERPENICH, J., LIBOUREL, G., DELOULE, E. et JOLLIVET, P. (2010). Elemental and isotopic ( $^{29}\text{Si}$  and  $^{18}\text{O}$ ) tracing of glass alteration mechanisms. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74:3412–3431.
- van der LEE, J. et de WINDT, L. (2002). *CHESS tutorial and cookbook, updated for version 3.0*. Centre d'informatique Géologique, Ecole des Mines de Paris, Fontainebleau, France.
- van ELTEREN, J., IZMER, A., SALA, M., ORSEGA, E. et SELIH, V. (2013). 3D laser ablation-ICP-mass spectrometry mapping for the study of surface layer phenomena - A case study for weathered glass. *Journal of Atomic Spectrometry*, 28:994–1004.
- van ELTEREN, J., TENNENT, N. et SELIH, V. (2009). Multi-element quantification of ancient/historic glasses by laser ablation inductively coupled-plasma mass spectrometry using sum normalization calibration. *Analytica Chimica Acta*, 644:1–9.
- VANDENBROUCKE, M. et LARGEAU, C. (2007). Kerogen origin, evolution and structure. *Organic Geochemistry*, 38:719–833.
- VELASQUEZ, I., NUNN, B., IBISANMI, E., GOODLET, D., HUNTER, K. et SG, S. (2011). Detection of hydroxamate siderophores in coastal and sub-Antarctic waters off the South Eastern coast of New Zealand. *Marine Chemistry*, 126:97–107.
- VERNEY-CARRON, A. (2008). Etude d'analogues archéologiques pour la validation des modèles de comportement à long terme des verres nucléaires. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine.
- VERNEY-CARRON, A., VIGUIER, N. et MILLOT, R. (2011). Experimental determination of the role of diffusion on Li isotope fractionation during basaltic glass weathering. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75:3452–3468.
- VIRGO, D., LUTH, R., MOATS, M. et ULMER, G. (1988). Constraints on the oxidation state of the mantle : An electrochemical and  $^{57}\text{Fe}$  Mössbauer study of mantle-derived ilmenites. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 52:1781–1794.
- VISCA, P., LEONI, L., WILSON, M. et LAMONT, I. (1988). Iron transport and regulation, cell signalling and genomics : Lessons from *Escherichia coli* and *Pseudomonas*. *Molecular Microbiology*, 45:1177–1190.

- WALLMANN, K. (2001). Controls on the Cretaceous and Cenozoic evolution of seawater composition, atmospheric CO<sub>2</sub> and climate. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65:3005–3025.
- WALTON, A. et SCHIFFMAN, P. (2003). Alteration of hyaloclastites in the HSDP 2 Phase 1 Drill Core - 1. Description and paragenesis. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 4:8709.
- WANG, X., LI, Q., HU, H., ZHANG, T. et ZHOU, Y. (2005). Dissolution of kaolinite induced by citric, oxalic and malic acids. *Journal of Colloids and Interface Sciences*, 290:481–488.
- WATTEAU, F. et BERTHELIN, J. (1994). Microbial dissolution of iron and aluminum from soil minerals : Efficiency and specificity of hydroxamate siderophores compared to aliphatic acids. *Soil Biology*, 30:1–9.
- WEINER, S. et DOVE, P. (2003). An overview of biomineralization processes and the problem of the vital effect. *Biomineralization*, 54:1–29.
- WELCH, S. et ULLMAN, W. (1992). The effect of organic acids on plagioclase dissolution rates and stoichiometry. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 57:2725–2736.
- WELCH, S. et ULLMAN, W. (1993). The effect of organic acids on feldspar dissolution rates and stoichiometry. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 57:2725–2736.
- WHITE, A. et BRANTLEY, S. (2003). The effect of time on the weathering of silicate minerals : Why do weathering rates differ in the laboratory and field ? *Chemical Geology*, 202:479–506.
- WHITE, A. et YEE, A. (1985). Aqueous oxidation-reduction kinetics associated with coupled electron-cation transfer from iron-containing silicates at 25°C. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 42:1075–1090.
- WILSON, M., ABERGEL, R., RAYMOND, K., ARCENEUX, J. et ROWE BYERS, B. (2006). Siderophores of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 348:320–325.
- WOLFF-BOENISCH, D., GISLASON, S., OELKERS, E. et PUTNIS, C. (2004). The dissolution rates of natural glasses as a function of their composition at pH 4 and 10.6, and temperatures from 25 to 74°C. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68:4843–4858.
- WOLFF-BOENISCH, D. et TRAINA, S. (2006). A comparative study of the effect of desferrioxamine-B, oxalic acid, and Na-alginate on the desorption of U(vi) from goethite at pH 6 and 25°C. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70:4356–4366.
- WOLFF-BOENISCH, D. et TRAINA, S. (2007). The effect of desferrioxamine-B, enterobactin, oxalic acid, and Na-alginate on the dissolution of uranyl-treated goethite at pH 6 and 25°C. *Chemical Geology*, 243:357–368.

- WOLFF-BOENISCH, D., WENAU, S., GISLASON, S. et OELKERS, E. (2011). Dissolution of basalts and peridotite in seawater, in the presence of ligands, and CO<sub>2</sub> : implications for mineral sequestration of carbon dioxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75:5510–5525.
- XIAO, R. et KISAALITA, W. (1998). Fluorescent *Pseudomonad* pyoverdines bind and oxidize ferrous ion. *Applied Environmental Microbiology*, 64:1472–1472.
- YOKOYAMA, E., NÉDÉLEC, A., BARATOUX, D., TRINDADE, R., FABRE, S. et BERGER, G. (2015). Hydrothermal alteration in basalts from Vargeao impact structure, South-Brazil, and implications for recognition of impact-induced hydrothermalism on Mars. *Icarus*, 252:347–365.
- YU, T. et BISHOP, P. (2001). Stratification and oxidation-reduction potential change in an aerobic and sulfate-reducing biofilm studied using microelectrodes. *Water Environment Research*, 73:368–373.
- YUAN, J., ZHAN, X., FAN, C., ZHAO, L., SUN, D., JIA, Z., HU, M., et KUAI, L. (2012). Quantitative analysis of sulfide minerals by Laser Ablation-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry using glass reference materials with matrix normalization plus sulfur internal standardization calibration. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 40:201–207.
- ZHOU, W. et FYFE, W. (1989). Palagonitization of basaltic glass from DSDP Site 335, Leg 37 : textures, chemical composition and mechanism of formation. *American Mineralogist*, 74:1045–1053.
- ZHOU, W., PEACOR, D., ALT, J., Van der VOO, R. et KAO, L. (2001). TEM study of the alteration of interstitial glass in MORB by inorganic processes. *Chemical Geology*, 174:365–376.



## { Bioaltération de verres basaltiques modèles : impact des sidérophores et rôle du fer }

Les processus d'altération des verres basaltiques constituant le pourtour vitrifié des laves en coussins influencent les grands cycles géochimiques terrestres puisqu'ils contribuent à l'évolution de la composition des océans et de la croûte océanique et sont des acteurs de la dynamique du climat. Au regard de la diversité des communautés bactériennes peuplant ces aquifères, il est admis que l'altération de ces roches est un processus biologiquement catalysé. Toutefois, peu d'études ont cherché à quantifier cette contribution bactérienne, au regard de la diversité et de la complexité des interactions possibles. Ce travail vise à expliciter et quantifier l'influence des ligands bactériens et notamment des sidérophores sur les processus d'altération, en décomposant les systèmes naturels en situations expérimentales simplifiées. Dans cette optique, trois verres basaltiques modèles, porteurs ou non de Fe(II)/Fe(III), ont été synthétisés. Des expériences de dissolution de ces verres, à pH neutre et à 25°C, ont été réalisées (1) en conditions abiotiques (solutions de sidérophores purs, milieu de culture stérile), (2) en présence de la souche *Pseudomonas aeruginosa* mais en confinant le verre dans des membranes de dialyse, (3) au contact direct de la souche. En parallèle de ces expériences, des analyses des solides ont été menées et un protocole d'analyse verticale de la composition d'un verre altéré par LA-ICP-MS a notamment été mis au point. L'analyse des solutions/milieus d'altération par ICP-OES a permis d'évaluer les cinétiques et la stoechiométrie de la dissolution. Les expériences en conditions abiotiques révèlent qu'en présence de sidérophores, l'extraction préférentielle du fer structural (respectivement de l'aluminium pour un verre sans fer) via des réactions de complexation en surface des verres, est le moteur de la dissolution du réseau vitreux. Réciproquement, dans les cultures bactériennes, la production de sidérophore par *Pseudomonas aeruginosa* est déclenchée lorsque (1) aucun contact direct verre/bactérie n'est possible, (2) le fer est absent de l'environnement cellulaire, (3) certains métaux toxiques ou pouvant nuire aux métabolismes bactériens (typiquement l'aluminium) sont néanmoins présents et (4) le fer n'est disponible que sous sa forme réduite. Outre l'accélération de l'hydrolyse du réseau vitreux en présence de sidérophores, l'influence positive de la constitution d'un biofilm en surface des verres sur la dissolution de ces derniers a également été observée. Ces résultats mettent en évidence la forte affinité de la souche pour les verres basaltiques ainsi que le rôle central du fer, oxydé ou réduit, dans les mécanismes dégagés.

**Mots clés :** verre basaltique, altération, sidérophore, ICP-OES, LA-ICP-MS

## { Bioalteration of basaltic model glasses : impact of siderophore and role of iron }

The alteration of ocean basalts partly controls the composition of seawater and of the oceanic crust which in turn influences the Earth's mantle geochemistry and may also have a significant impact on Earth's climate over a geological timescale. Regarding the existence of an extensive subsurface biosphere within the basaltic basement of the uppermost oceanic crust, the weathering of basaltic glass is now considered as a bacterial mediated process. However, the diversity and complexity of the involved mechanisms interfere with the quantification of the impact of microorganisms. This work was conducted to determine and quantify the influence of organic ligands produced by the cells, and notably siderophores on the alteration processes. Simplified experimental systems were designed to gradually mimic natural environments. Fe(III)-, Fe(II)-bearing, and Fe-free synthetic basaltic glasses were prepared and submitted to dissolution experiments at 25°C and near neutral pH conditions in (1) abiotic conditions (pure siderophore solutions and sterile bacterial medium), (2) in the presence of the bacterial strain *Pseudomonas aeruginosa* but isolated from the bacterial suspension by dialysis bags and (3) directly in contact with the strain. In parallel, solid analysis were conducted and LA-ICP-MS analysis protocols were notably developed. Dissolution kinetics and stoichiometry were determined by measuring elemental concentrations in solutions by ICP-OES. In abiotic conditions, the siderophore-promoted dissolution of the glass network appears to be driven by the complexation and the preferential extraction of iron (respectively aluminium for no-Fe bearing glasses). Reciprocally, in biotic systems, the siderophore production is stimulated when (1) no direct interaction between the glass and bacteria is possible, (2) the system is Fe-deficient, (3) toxic metals (e.g. aluminium) are nevertheless present and (4) iron is only available under its reduced form. In addition to the promotion of hydrolysis rates of the silicate network by siderophores, biofilms forming at the glass surfaces were shown to have a positive impact on the dissolution kinetics. These results show the specific affinity of the strain for basaltic glasses and the central role of iron under its oxidized or reduced form in the dissolution mechanisms.

**Keywords :** basaltic glass, alteration, siderophore, ICP-OES, LA-ICP-MS