



HAL
open science

Comportement de matériaux cimentaires en eau douce naturelle : analyse de l'influence des micro-organismes

Valentin Georges

► **To cite this version:**

Valentin Georges. Comportement de matériaux cimentaires en eau douce naturelle : analyse de l'influence des micro-organismes. Matériaux. Université de Lorraine, 2017. Français. NNT : 2017LORR0220 . tel-01816034

HAL Id: tel-01816034

<https://theses.hal.science/tel-01816034>

Submitted on 14 Jun 2018

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

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



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

THÈSE

Pour l'obtention du titre

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE

Discipline : **Sciences des Matériaux**
Spécialité : **Matériaux pour le Génie Civil**

**Comportement de matériaux cimentaires en
eau douce naturelle**
Analyse de l'influence des micro-organismes

par

GEORGES Valentin

Date de soutenance : 17 novembre 2017

Rapporteur :

Mme Ginette ARLIGUIE

Professeure émérite, Université de Toulouse

Mme Christine LORS

Professeure, IMT Lille Douai

Examineur :

Mme Françoise FEUGEAS

Professeure, INSA de Strasbourg

M. Eric GARCIA-DIAZ

Professeur, IMT Mines d'Alès

M. André LECOMTE

Professeur, Université de Lorraine

M. Sébastien ROUX

Maître de conférences, Université de Lorraine

Remerciements

Je tiens tout particulièrement à remercier mon encadrant de thèse, Monsieur Sébastien ROUX. Les conseils, les soutiens, les critiques qu'il m'a apportés, mais également l'investissement dont il a fait preuve tout au long de ces trois dernières années ont permis de mener à bien cette étude.

Je remercie également mes directeurs de thèse : Monsieur André LECOMTE et Madame Françoise FEUGEAS, pour leurs connaissances et l'aide précieuse qu'ils m'ont apportée pour permettre l'aboutissement de ce travail et la rédaction de mes différentes communications.

Je remercie les Professeurs qui ont accepté de faire partie de mon jury : Madame Ginette ARLIGUIE et Madame Christine Lors pour avoir accepté d'être rapporteurs de mes travaux et Monsieur Éric GARCIA-DIAZ pour avoir accepté d'être examinateur de ma thèse.

Je souhaite tout particulièrement dire un grand merci aux membres du personnel technique et administratif de l'IUT Nancy Brabois et de l'Institut Jean Lamour pour leur bonne humeur, les chaleureux moments passés avec eux mais également pour l'aide et les conseils qu'ils m'ont apportés : Laurent, Marie, Daniel Lambert, Jonathan, Christine Daudens, Abdelhafid Raji

Je souhaite remercier la Métropole du Grand Nancy ainsi que toutes les personnes avec qui j'ai été en contact, pour toutes les informations qu'ils m'ont transmises et également pour l'accès au barrage et les prélèvements qu'ils ont réalisés. Je remercie plus particulièrement les deux chefs d'équipe : Monsieur Claude CIAPPELONI et Monsieur François THIERY pour leurs gentillesse et leurs grandes disponibilités à chaque fois que nous avons besoin d'accéder au barrage.

Un grand merci aux industriels Calcia et Vicat qui ont participé à ces travaux en fournissant gracieusement tous les ciments employés dans cette étude.

Je remercie également l'ensemble de l'équipe 207 - Matériaux pour le Génie Civil, pour les savoirs et les réflexions que nous avons partagés ensemble, mais aussi pour les agréables moments partagés au quotidien.

Et pour finir, un très grand merci à tous mes proches et amis qui ont toujours été auprès de moi, m'ont soutenu et encouragé pendant ces trois dernières années.

" Il n'existe qu'une vertu, le savoir, et un vice, l'ignorance. "
Socrate

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	13
Chapitre I : Etude bibliographique : paramètres d'influence de la biodétérioration	19
1. Les matériaux cimentaires	21
1.1. Les granulats.....	21
1.2. L'eau.....	22
1.3. Les ciments	22
1.4. Porosité et structure poreuse.....	26
1.5. Etat de surface et rugosité.....	29
1.6. Vieillessement du béton	30
1.6.1. Carbonatation.....	30
1.6.2. Lixiviation.....	30
2. Microorganismes	31
2.1. Bactéries	32
2.1.1. Métabolismes bactériens.....	34
2.1.2. Multiplication, isolation et culture des bactéries	36
2.1.3. Les bactéries sulfato-réductrices.....	36
2.2. Diatomées	37
2.3. Biofilm.....	42
3. Le milieu.....	44
4. Interactions microorganismes et matériaux cimentaires	47
4.1. Bioréceptivité.....	47

4.1.1.	Porosité	48
4.1.2.	Rugosité	48
4.1.3.	Chimie et pH de surface	49
4.2.	Biodégradation/bioaltération	49
4.3.	Biodétériorations physiques	52
4.4.	Biodétériorations chimiques	52
5.	Conclusion	55
Chapitre II : Matériaux et milieu naturel d'étude		57
1.	Matériaux	59
1.1.	Les nuances cimentaires retenues	59
1.2.	Protocole de fabrication et de préparation des échantillons	60
1.3.	Séchage des échantillons	61
2.	Méthode de caractérisation des échantillons	63
2.1.	Microscopie électronique à balayage	63
2.2.	Diffraction des rayons X	63
2.3.	Porosité accessible à l'eau	64
2.4.	Imbibitions capillaires	65
2.5.	Rugosité	67
3.	Caractérisation des matériaux d'études	68
3.1.	Minéralogie	68
3.2.	Rugosité de surface	69
3.3.	Porosité	70

4.	Milieu naturel : l'eau de Moselle.....	72
4.1.	Caractéristiques physico-chimiques de l'eau de Moselle.....	73
4.2.	Caractéristiques site d'étude.....	75
4.2.1.	Description et historique du barrage, site d'étude	75
4.2.2.	Zone d'immersion in-situ	77
5.	Conclusion.....	79
Chapitre III : Effet des bactéries sur les matériaux cimentaires		
.....		81
1.	Méthodes de culture biologique	83
1.1.	Protocole pour la culture microbienne en laboratoire	83
1.1.1.	Milieux de culture.....	83
1.1.2.	Méthodes de culture en laboratoire.....	85
1.2.	Récupération du biofilm et quantification des bactéries	86
2.	Colonisations bactériennes	86
2.1.	Echantillons placés <i>in-situ</i>	86
2.1.1.	Dénombrement de la flore bactérienne total cultivable.....	86
2.1.2.	Dénombrement des bactéries sulfato-réductrices.....	88
2.2.	Milieu de laboratoire	90
3.	Observations de surface.....	92
4.	Caractérisation de la minéralogie	93
4.1.	Minéralogie de surface des échantillons <i>in-situ</i>	93
4.2.	Minéralogie de surface des échantillons en milieu général.....	95
5.	Evolution de la porosité et de la structure poreuse.....	96

5.1. Evolution de la porosité.....	96
5.2. Imbibition capillaire	98
5.2.1. Imbibition capillaire des échantillons in-situ.....	98
5.2.2. Imbibition capillaire des échantillons en milieu de culture	100
6. Lixiviation de la pâte de ciment	102
7. Synthèse des résultats	103
8. Conclusion.....	110
Chapitre IV :_Effet de la colonisation de pâte de ciment par des diatomées	111
1. Mise au point d'un protocole d'essais	113
1.1. Milieu de culture pour diatomées	113
1.2. Chambre d'incubation	114
1.3. Récupération, isolement et culture des diatomées.....	116
2. Interactions diatomées - matériaux.....	117
2.1. Interactions en milieu naturel	117
2.2. Interactions en milieu de culture	121
2.2.1. Colonisation.....	121
2.2.2. Minéralogie de surface	123
2.2.3. Porosité et structure poreuse	125
3. Synthèse.....	127
4. Conclusion.....	132
Chapitre V :_Les bétons du barrage Méréville	135
1. Prélèvements réalisés sur le barrage.....	137

2. Analyse microbiologique.....	138
3. Analyses MEB.....	139
4. Carbonatation / biolixiviation des bétons du barrage.....	141
5. Analyse et conclusion.....	142
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	145
Références bibliographiques et normes	151
Communications et publications.....	164
Liste des figures	165
Liste des tableaux.....	169
Annexe A :	170
Image MEB-PC.....	170
Annexe B :.....	178
Diffractogrammes X.....	178
1. Diffractogramme X des échantillons initions.....	179
2. Diffractogramme X des échantillons <i>in-situ</i>	179
3. Diffractogramme X des échantillons en milieu bactérien.....	183
4. Diffractogramme X des échantillons en milieu diatomée.....	184
Annexe C :.....	185
Courbe d'imbibition capillaire	185

INTRODUCTION GENERALE

Les bétons hydrauliques constituent une vaste famille de matériaux ayant pour point commun la présence d'une phase matricielle résultant de l'hydratation d'un liant minéral : le ciment.

Rappelons trivialement que le ciment est une poudre anhydre dont la réaction avec l'eau entraîne, par réactions de dissolutions–précipitations, la formation d'une pâte durcie (roche artificielle, Souchu, 2009) qui confère la cohésion au béton. Les ciments normalisés EN 197-1 sont composés de clinker Portland et d'ajouts éventuels (laitier de haut fourneau, cendres volantes, fillers calcaires...). Le clinker est obtenu par cuisson à 1450°C d'un mélange de calcaire et d'argile, mise au point. Il a été découvert par Louis Vicat en 1817.

Le béton est devenu aujourd'hui le matériau le plus utilisé dans le monde. Il sert à édifier les bâtiments, les ouvrages d'art (ponts, barrages, tunnels...), les routes, etc. indispensables au développement sociétal. En 2013, environ 4 milliards de tonnes de ciment ont été produites dans le monde, soit plus de 550 kg par habitant.

Les matériaux cimentaires, réputés résistants, vieillissent cependant assez rapidement, notamment lorsqu'ils sont soumis à des attaques, naturelles ou non, qui altèrent leurs propriétés physico-chimiques initiales (Ollivier, 2008). Les facteurs les plus fréquemment rencontrés sont les surcharges mécaniques, les chocs, le feu, le gel-dégel, la carbonatation, les réactions alcali-granulats, les réactions sulfatiques externes ou internes, etc. Ces phénomènes ont été et sont largement étudiés.

En revanche, les altérations et dégradations des bétons induites par les micro-organismes (bactéries, algues, lichens, champignons, etc.) sont encore peu considérées et analysées. Ces pathologies sont liées à la formation à la surface des parties exposées ou immergées, d'un biofilm contenant le consortium microbien. Le vieillissement bio-induit peut alors se traduire par l'apparition de simples tâches et salissures sur les parements sans risque pour l'intégrité et la stabilité de l'ouvrage (bioaltération). Il peut aussi provoquer des modifications plus importantes des propriétés physiques et/ou chimiques du matériau, pouvant entraîner la ruine de l'ouvrage (biodétérioration) (Fritz-Feugeas, 2008).

Les cas de biodétérioration des bétons les plus étudiés concernent les réseaux d'assainissement. Ces milieux spécifiques, très agressifs pour les bétons, riches en sulfates et en matières organiques sont particulièrement propices au développement de nombreux micro-organismes, dont ceux impliqués dans le cycle du soufre. Il s'agit notamment des bactéries du genre *Thiobacillus* et *Acidithiobacillus* (Monteny, 2001 ; Yuan, 2015) dont le métabolisme induit la formation d'acide sulfurique. Les *Thiobacilli*, particulièrement *Acidithiobacilli thiooxidans*, ont été isolés par Parker en

1945 (Parker, 1945). Depuis, de nombreux travaux se sont intéressés à la biodégradation des réseaux d'assainissement. Cependant, peu de recherches ont été menées sur les biodétériorations, moins spectaculaires, des bétons situés en milieux naturels ouverts, alors que les ouvrages concernés sont nombreux (ponts, barrages, soutènements...) et que les enjeux économiques induits sont importants.

En France métropolitaine, 623 464 km de cours d'eau sont recensés. Un grand nombre de ponts, barrages, passes à poissons, centrales hydroélectriques et autres ouvrages en béton ont été construits au bord et dans ce réseau. Les eaux de rivière ne constituent pas en soit des environnements agressifs pour ces ouvrages, mais les micro-organismes qu'elles contiennent sont susceptibles d'interagir avec leurs bétons, en particulier avec leurs pâtes de ciment, poreuse par nature.

Dans le but d'étudier cet aspect particulier de la durabilité des bétons, ces travaux de thèse se sont focalisés sur l'observation et la caractérisation des interactions entre différentes pâtes cimentaires et les éléments biologiques contenus dans une eau douce naturelle, en l'occurrence l'eau de la Moselle où elles ont été exposées.

Le contenu du mémoire est présenté ci-après.

Le chapitre I propose une synthèse bibliographique des connaissances actuelles concernant les acteurs du vieillissement bio-induit des matériaux cimentaires. Les différents paramètres influençant les phénomènes de bioaltération ou de biodétérioration y sont présentés.

Le chapitre II décrit tout d'abord les 7 nuances de ciments retenues pour l'étude et les protocoles de préparation des échantillons de pâte de ciment utilisés dans les différents essais. Il présente ensuite les méthodes de caractérisation et de suivi des évolutions physico-chimiques des échantillons (minéralogie, porosité à l'eau, imbibition capillaire), ainsi que les caractéristiques initiales des échantillons avant immersion dans les différents milieux d'étude. Une description de l'ouvrage et de la zone d'étude où ont été menés les essais *in-situ* est faite. Celle-ci est accompagnée des données afférentes à la Moselle (suivi annuel du débit, température, chimie du milieu, etc.).

Le chapitre III est dédié à l'étude de l'influence des bactéries présentes dans l'eau de la Moselle sur les différentes nuances cimentaires. L'étude a été menée parallèlement en milieu naturel (immersion à -2m au pied du barrage de Méréville) et en laboratoire où les échantillons ont été exposés à un milieu de culture général contrôlé. Le suivi des propriétés physico-chimiques des échantillons dans les différents milieux sert à attester de l'influence de la flore microbienne sur les pâtes de ciment.

Le chapitre IV est dédié à l'étude des interactions entre les différentes pâtes de ciment et les diatomées naturellement présentes dans les milieux aquatiques (eau douce et eau de mer où elles constituent la population majoritaire du plancton). Ces micro-algues photosynthétiques ont la particularité d'avoir un exosquelette siliceux amorphe (frustule), potentiellement réactif avec la chaux issue (lixiviée) de la matrice cimentaire. La mise au point d'une méthode de culture des diatomées en laboratoire est tout d'abord présentée, ainsi que les méthodes de récupération et d'isolement des souches de diatomées. Comme pour les bactéries, une analyse du suivi des propriétés physico-chimiques des échantillons a été réalisée afin d'observer les éventuelles interactions entre les diatomées et les pâtes de ciment étudiées.

Le chapitre V est consacré à l'analyse de l'effet des micro-organismes sur des bétons immergés plus ou moins longtemps dans la Moselle. Les bétons étudiés sont issus des prélèvements réalisés sur des ouvrages en contact avec l'eau de la Moselle. Les observations faites sur ces échantillons sont mises en perspectives avec les interprétations réalisées dans les deux chapitres précédents.

La conclusion dresse un bilan de ces travaux et propose des perspectives d'études pour les deux volets considérés (bactéries et diatomées).

Chapitre I :

Etude bibliographique : paramètres d'influence de la biodétérioration

La biodétérioration des matériaux cimentaires correspond à l'ensemble des modifications physico-chimiques induites des interactions entre le matériau, le milieu auquel il est exposé et les micro-organismes colonisant sa surface. Chaque acteur de la biodétérioration a un impact direct sur les deux autres. Afin de comprendre et de déterminer la responsabilité des genres microbiens impliqués dans la biodétérioration des matériaux cimentaires dans une eau douce naturelle de surface, il est nécessaire de connaître les différents paramètres d'influence de chacun des trois acteurs.

Dans un premier temps, on revient sur les propriétés des matériaux cimentaires : composition des différentes nuances, hydratation du clinker et des ajouts, paramètres d'influence des propriétés à l'état durci et vieillissements naturels. Ensuite, des notions générales sur les microorganismes sont présentées, en insistant plus spécifiquement sur les bactéries et les diatomées. On rappelle aussi des notions générales sur les paramètres du milieu qui jouent un rôle dans les mécanismes de biodétérioration. Une description de cas connus de biodétérioration clôt ce chapitre.

1. Les matériaux cimentaires

Les bétons courants sont essentiellement composés de ciment, de granulats, d'eau et d'adjuvant(s). La nature et les propriétés chimiques de ces composants sont étroitement liées à la sensibilité des bétons vis-à-vis des interactions chimiques, physiques et biologiques. De plus, la composition, la formulation, la préparation et la mise en œuvre des matériaux cimentaires à l'état frais sont aussi des paramètres qui influencent les propriétés du matériau durci et sa durabilité.

Rappelons que les bétons sont constitués d'un squelette granulaire (mélange de sable et de gravillons), d'une matrice cimentaire (qui résulte de l'hydratation du ciment) et d'une proportion plus ou moins importante d'air et d'eau libre. Dans les cas les plus courants, la matrice cimentaire est le facteur déterminant de la durabilité du matériau à l'état durci du fait de sa réactivité chimique face aux attaques d'origines chimiques et biologiques.

1.1. Les granulats

Les granulats pour bétons employés dans la construction font l'objet de la norme NF EN 12620. Dans un béton courant, ils représentent environ 2/3 du volume. Ils sont d'origine minérale et proviennent soit de roches naturelles alluvionnaires siliceuses ou silico-calcaires (appelés granulats « roulés ») ou de roches massives (élaborés mécaniquement par concassage de roches calcaires, éruptives ou métamorphiques), soit de sous-produits industriels (laitiers, etc.).

La principale fonction des granulats est d'assurer au béton un squelette granulaire dense (distribution granulaire), car si celui-ci n'est pas assez compact, les vides entre les grains sont importants, ce qui induit une plus forte demande en ciment (surcoût) et/ou d'eau pour combler ces vides inter-granulaires, et donc aussi, dans un second temps, une porosité plus importante du matériau durci.

1.2. L'eau

Le premier rôle de l'eau est d'hydrater les différents composés anhydres du ciment pour former une matrice rigide. L'eau utilisée pour la fabrication des bétons fait l'objet de la norme NF EN 1008 et doit être de l'eau potable avec une teneur en chlorure inférieure à 500 mg/l. Selon la stoechiométrie des réactions d'hydratation, un rapport massique eau /ciment ou rapport E/C de 0,36 est suffisant pour totalement hydrater un ciment Portland classique (Gagné, 1993). Cependant, une partie de l'eau est absorbée dans la porosité interstitielle des gels de C-S-H ne sera plus disponible pour l'hydratation. Aussi, pour obtenir une hydratation complète, le rapport E/C doit être supérieur ou égal à 0,42 (Gagné, 1993). Si le rapport E/C dépasse cette valeur, une partie de l'eau - eau libre - n'est pas mobilisée pour l'hydratation et forme à l'état durci des pores capillaires dans la matrice cimentaire. Par ailleurs, pour le coulage de nombreux bétons, l'eau est utilisée pour ajuster la rhéologie à l'état frais. A l'état durci, l'eau excédentaire va notamment influencer la résistance mécanique, la porosité et le retrait du béton.

1.3. Les ciments

La chimie d'un ciment est un paramètre qui lui est intrinsèque. En revanche, certaines propriétés physiques peuvent avoir une influence sur les performances du matériau à l'état durci ; telle la finesse qui va déterminer les réactivités d'hydratation, la densité de la micro structure, etc. (Bur, 2012).

Il existe un grand nombre de ciments de compositions différentes. Dans la majeure partie des cas, ce sont des ciments Portland qui sont utilisés. De Belie (De Belie, 2004) a démontré sur des tests accélérés en laboratoire, que le type de ciment utilisé dans la formulation modifie la réaction des bétons vis-à-vis des attaques d'origines chimiques et biologiques. La composition des ciments Portland est réglementée par la norme NF EN 197-1. Elle définit cinq types de ciments suivant leurs compositions :

- Les CEM I ou ciments Portland purs, composés de plus de 95% de clinker.
- Les CEM II ou ciments Portland composés, constitués de 65 à 94 % de clinker et de 5 à 35% de l'un ou d'un mélange des constituants suivants : laitier de haut

fourneau, fumées de silice, pouzzolanes (naturelles ou calcinées), cendres volantes (siliceuses ou calciques), schistes calcinés, calcaire.

- Les CEM III ou ciments de hauts fourneaux, composés de 36 à 95 % de laitier de haut fourneau (le complément étant du clinker).
- Les CEM IV ou ciments pouzzolaniques, composés de 10 à 55 % de d'un mélange variable de fumée de silice, de pouzzolanes et de cendres volantes (le complément étant du clinker).
- Les CEM V ou ciments composés, constitués de 20 à 64 % de clinker, de 18 à 50% de laitier de haut fourneau, le complément (18 à 50%) étant un mélange de pouzzolanes et de cendres volantes siliceuses.

Dans la suite de ce mémoire, les compositions chimiques des ciments seront simplifiées avec les écritures cimentières suivantes (Tableau I-I):

C	Č	A	F	S	Š	T	M	H
CaO	CO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	SiO ₂	SO ₃	TiO ₂	MgO	H ₂ O

Tableau I-I : Notations cimentières

Les principaux constituants des ciments Portland sont décrits ci-après (clinker, laitier de haut-fourneau, cendres volantes et fillers calcaires).

Le clinker Portland (K)

Le clinker est obtenu par calcination, à 1450°C, puis d'une trempe à l'air, d'un mélange de roches naturelles finement broyées appelé cru. Le cru est composé d'environ 80% de calcaire et 20% d'argile. Sa composition chimique courante est la suivante (Tableau I-II) :

Eléments	% massique
C	60 à 69
S	18 à 24
A	4 à 8
F	1 à 8
M	0 à 5
Alcalin	0 à 2
Š	1 à 3

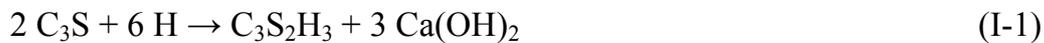
Tableau I-II : Composition chimique courante du cru de clinker Portland (Neville, 2000)

Après la clinkerisation (cuisson du clinker), le clinker est principalement composé de 4 phases (Tableau I-III). Après le broyage du clinker, une proportion de sulfate de calcium (gypse ($C\check{S}H_2$), semi-hydrate ($C\check{S}0,5H_2$), anhydrite ($C\check{S}$)) est ajoutée au clinker pour réguler la prise des phases aluminates (C_3A et C_4AF).

Phases	% massique
C_3S	50 à 70
C_2S	10 à 30
C_3A	2 à 15
C_4AF	5 à 15
$C\check{S}H_2$	2 à 5

Tableau I-III : Composition chimique courante du clinker Portland
(Bourissai, 2010)

En présence d'eau, ces phases vont s'hydrater suivant des processus de dissolution/précipitation pour former une matrice cohésive d'hydrates. Les principales phases du clinker (C_3S et C_2S), vont s'hydrater sous forme de gels de silicates de calcium hydratés (CSH) et de Portlandite ($Ca(OH)_2$) selon les réactions suivantes (De Schutter, 1995) (Equation I-1 et I-2) :



Le C_3A réagit très vite en présence l'eau, et sa réaction est exothermique. Cette phase est responsable de la « prise éclair », qui arrive en l'absence de régulateur de prise : gypse et/ou anhydrite. Il se forme alors de l'ettringite (Equation I-3) et du monosulfoaluminate de calcium si la proposition de sulfate de calcium n'est pas suffisante (Equation I-4):



Le C_4AF , réagit de la même façon que le C_3A mais plus lentement, il a également besoin d'un régulateur de prise pour contrôler sa réaction.



Après la prise du béton, la chaux qui n'a pas réagi lors de l'hydratation du clinker, va initier la dégradation de la matrice cimentaire dans le cas d'attaque par des

acides d'origines biologiques. Plus la proportion de chaux libre est faible dans un ciment, moins le béton sera sensible aux attaques biologiques (Taché, 1995).

Le laitier de haut fourneau (S)

Le laitier est un sous-produit de l'industrie sidérurgique. Il provient de la gangue du minerai de fer. Dans le haut-fourneau, après évacuation de la fonte, le résidu surnageant est trempé à l'eau et donne un verre vitreux ayant des propriétés hydrauliques (Alexandre, 1988).

Les laitiers sont principalement composés de : chaux (CaO), silice (SiO₂), alumine (Al₂O₃) et magnésium (MgO). Ces éléments représentent entre 95 et 97 % des constituants d'un laitier. Le reste est constitué d'oxydes secondaires comme des oxydes de fer (FeO) ou de manganèse (MnO) et des composés sulfureux. Ils ne contiennent ni argile, ni matière organique. Le tableau suivant (Tableau I-IV) réunit la proportion des principaux composants d'un laitier :

Oxydes	% massique
CaO	40 à 48
SiO ₂	32 à 41
Al ₂ O ₃	9 à 18
MgO	1 à 9
MnO	0,4 à 0,7
FeO	0,2 à 1
S	0,6 à 1,5

Tableau I-IV : Composition chimique courante d'un laitier de haut-fourneau (Alexandre, 1988)

Les hydrates formés par ce type de liant vont être principalement des C-S-H et des aluminates (AC₂H₇) (Equation I-7).



Les cendres volantes (V)

Les cendres volantes siliceuses sont des particules pulvérulentes présentes dans les fumées de chaudières au charbon (ou autres combustibles). Elles présentent des propriétés pouzzolaniques car elles consomment de la Portlandite pour former des C-S-H (Equation I-8). Elles permettent également, de par leurs formes rondes et leurs

petites taille (de 0,5 à 315 μm), d'améliorer la rhéologie et d'augmenter la compacité des bétons en complétant le squelette granulaire de la pâte.



Calcaire (L et LL)

C'est le résultat du broyage très fin de roches calcaires naturelles. S'ils sont utilisés comme ajout dans le ciment, ils doivent contenir :

- au moins 75% de carbonate de calcium,
- moins de 1,20g d'argile pour 100g de calcaire
- moins de 0,20% de carbone organique pour les calcaires de type LL et 0,50% pour les calcaires de type L.

Une partie du calcaire va réagir suivant l'équation I-9 pour former de l'ettringite, des aluminates de calcium (carbo-aluminates) et de la Portlandite (effet liant). Le reste du calcaire n'ayant pas réagi à l'hydratation permettra de compléter le squelette granulaire du béton. Les fillers calcaires sont également réputés pour accélérer la prise et le durcissement du béton (effet accélérateur).



1.4. Porosité et structure poreuse

Les matériaux cimentaires sont des milieux poreux. Ils sont constitués d'une structure solide et de vides, vides occupés par un fluide (air ou eau). Le terme porosité représente la fraction volumique de vide par rapport au volume total apparent. Dans les matériaux poreux, les vides peuvent être classés suivant leur géométrie (pores ou fissures) ou suivant leur connectivité vis-à-vis du milieu extérieur. Il existe trois types de pores (Figure I-1) :

- Les pores ouverts ou interconnectés (1), qui sont directement ouverts sur l'extérieur par au moins deux extrémités. Ils vont être responsables de la perméabilité des matériaux et vont permettre le transport de fluide au sein du matériau.
- Les pores fermés (2), qui sont totalement coupés du milieu extérieur
- Les bras morts (3), qui sont connectés avec le milieu par une seule extrémité.

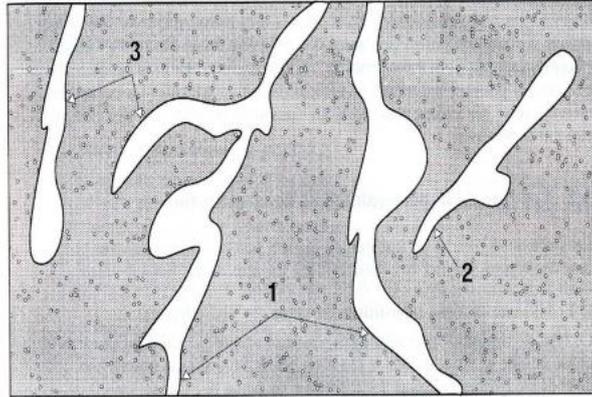


Figure I-1 : Répartition des pores dans un milieu poreux

La répartition et la taille des pores sont très étendues. La taille peut aller de quelques millimètres à quelques nanomètres. Ils sont classés en trois familles (Bur, 2012, Gagné, 2012) (Figure I-2) :

- Les macropores, sont de tailles supérieures à 50 nm. On retrouve dans cette famille : les vides d'air entravés, les défauts de compaction, les bulles d'air entraînées ou air occlus, les fissures.
- Les mesopores, compris entre 2 et 50 nm. Ce sont principalement des pores capillaires situés à l'interface entre la matrice cimentaire et les granulats.
- Les micropores, inférieurs à 2 nm. Cette famille de pores se retrouve à l'intérieur de la structure lamellaire des gels de C-S-H.

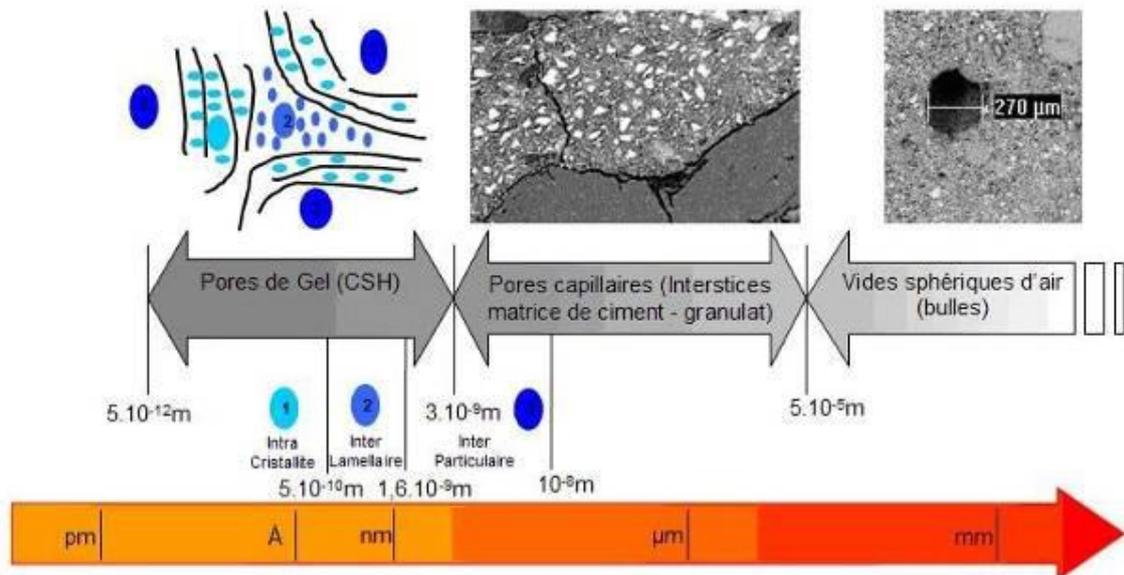


Figure I-2 : Echelle des porosités dans la matrice cimentaire (Delmas, 2006)

Dans le cas des études menées sur la biodétérioration des ouvrages cimentaires, les micropores ne sont pas considérés comme non accessibles par les agents agressifs générés par les microorganismes.

La présence de micropores et de mesopores est inévitable dans les matériaux cimentaires, car ils sont liés à la structure même du matériau. La méthode de mise en œuvre (type et intensité du serrage de la pâte, propriété de surface du coffrage, conditions de cure/durcissement, etc.) va également générer des pores. Toutefois l'ajustement du rapport E/C permet de limiter la proportion et la taille des pores capillaires dans la matrice cimentaire (Figure I-3). Si le rapport E/C est trop important une partie de l'eau ne sera pas utilisée pour l'hydratation du ciment, cette eau, aussi appelée eau libre, formera à l'état durci des porosités dans la matrice cimentaire.

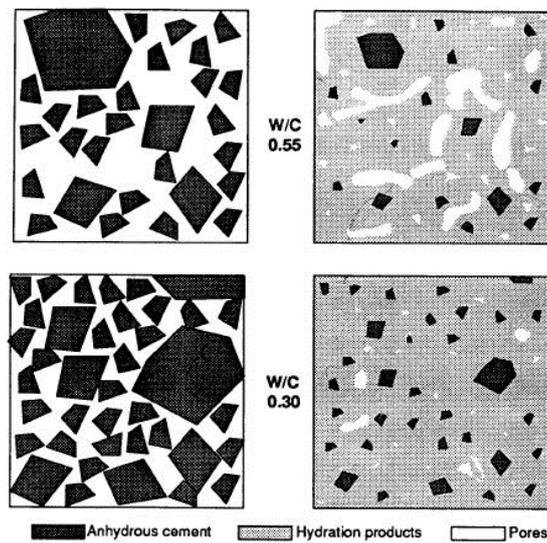


Figure I-3 : Illustration de l'influence du rapport E/C sur la pâte de ciment a l'état frais et durci (Gagné, 1993)

Cependant à l'état durci, même à long terme, une partie du ciment reste anhydre. En effet, en fonction de la finesse de mouture du ciment et des possibles ajouts dont les plus gros grains se recouvrent d'une couche d'hydrates très dense qui empêche le cœur du grain de réagir avec l'eau. Ce phénomène est schématisé sur les deux images de droite Figure I-3 par les grains anhydre (en noir) au milieu des produits d'hydratation.

La Figure I-4 présente un résumé de l'influence du rapport E/C sur la composition volumique d'une pâte de ciment supposée à 100% hydratée. Pour un rapport E/C compris entre 0 et 0,3, la pâte de ciment à l'état durci est composée d'hydrates et de grains anhydres. A partir de 0,3, une partie de l'eau n'est plus mobilisée pour l'hydratation et forme des capillaires dans la pâte durcie. Pour un

rapport E/C égale à 1, la proportion de capillaire représente plus de la moitié du volume de pâte (Gagné, 1993).

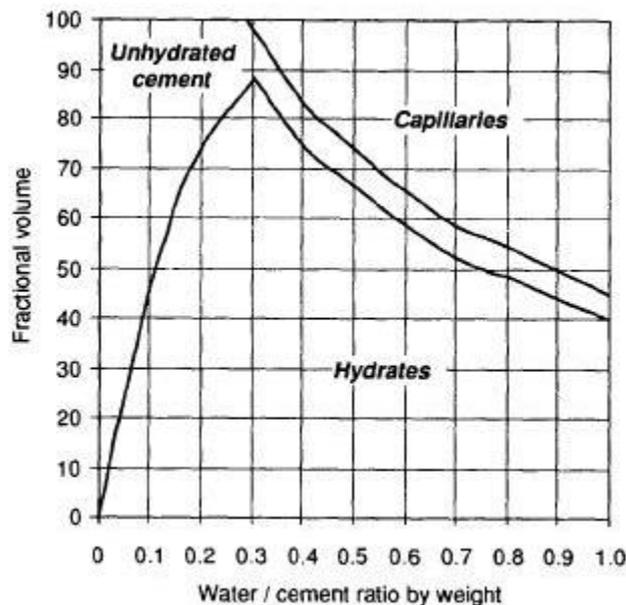


Figure I-4 : Influence du rapport E/C sur les proportions volumiques des constituants d'une pâte de béton durci (Gagné 1993)

La porosité et la structure poreuse des matériaux cimentaires sont des paramètres importants dans les phénomènes de biodétérioration et bioaltération. Leur influence plus spécifique vis-à-vis de la colonisation et du développement des microorganismes est davantage détaillée dans le paragraphe 4 Interactions microorganismes et matériaux cimentaires.

1.5. Etat de surface et rugosité

Bien que le béton soit un matériau composite, il est souvent considéré comme homogène à l'échelle macroscopique... Toutefois, la « peau » du béton est une zone particulière de par ses propriétés physiques. Son épaisseur est souvent estimée à deux tiers du diamètre du plus gros grain et son rapport E/C est plus élevé, ce qui lui confère une porosité plus importante qu'au cœur du béton (Crumbie, 1998). Ces paramètres jouent un rôle sur l'état de surface du parement à l'état durci et à fortiori sur sa rugosité. A ces paramètres s'ajoutent les conditions de mise en œuvre du béton, la nature de coffrage et du produit de démoulage, mais aussi les traitements poste décoffrage : polissage, application d'un enduit ou d'un revêtement, etc. Les travaux de Ficker *et al.* (Ficker *et al.*, 2011) ont montré que la pâte de ciment à l'état durci présente une rugosité intrinsèque qui est dépendante de la porosité, et donc du rapport

E/C. Leur étude s'est affranchie des paramètres extérieurs en étudiant la surface de factures d'échantillons de pâte de ciment.

Dans les problématiques de durabilité des ouvrages en béton, la rugosité est un paramètre important. En effet, elle va jouer sur le dépôt des matières minérales et organiques présentes dans le milieu et va conditionner aussi la surface de réaction entre le matériau cimentaire et le milieu potentiellement agressif.

1.6. Vieillissement du béton

1.6.1. Carbonatation

La carbonatation est un phénomène naturel de vieillissement des matériaux cimentaires. En présence d'humidité, le dioxyde de carbone va se dissoudre dans l'eau interstitielle présente dans les porosités et les capillaires du matériau provoquant une acidification du milieu. Cette chute de pH entraîne la déstabilisation de la Portlandite et, dans une moindre mesure des silicates de calcium hydratés libérant dans la solution interstitielle des ions Ca^{2+} de façon à faire tampon pour maintenir le pH aux alentours de 12 (Thiery, 2005). Les ions Ca^{2+} ainsi libérés réagissent avec les ions HCO_3^- et précipitent sous forme de carbonate de calcium.

A terme, ces phénomènes entraînent la dissolution totale de la Portlandite et la décalcification des C-S-H qui forment alors des composés siliceux hydratés ou gels de silice. L'ettringite et le monosulfoaluminate de calcium se carbonatent en formant du gypse très réactif et très soluble dans l'eau. Le carbonate de calcium ainsi formé peut se retrouver sous trois formes cristallographiques : la calcite cubiques de l'ordre du micromètre, la vaterite et l'aragonite en microcristaux plutôt sphériques (Hostomsky, 1991 ; Tai, 1998). L'effet positif de la carbonatation des matériaux cimentaires pour les ouvrages est la diminution sensible de la porosité de peau par colmatage de la porosité permettant de limiter la progression de potentiels agents agressifs vers le béton de cœur (Ngala, 1997).

1.6.2. Lixiviation

En présence d'un milieu aqueux faiblement minéralisé et par des phénomènes de diffusion ionique, l'équilibre entre solide et liquide au sein de la matrice cimentaire va être modifié. Cela conduit au réajustement chimique de l'eau interstitielle par dissolution ou précipitation des phases hydratées du ciment (Chen, 2004 ; Adenot, 1992). Deux réactions vont être observées, l'une est une hydrolyse, l'autre une décalcification. La Portlandite est le premier hydrate à se dissoudre. Puis ce sont les C-S-H qui jouent le rôle de tampon pour équilibrer le pH et la concentration en ions calcium, jusqu'à ce que leur rapport CaO/SiO_2 soit très bas et qu'il y ait apparition de

gels de silice. Parallèlement à la décalcification des C-S-H, il y a aussi une dissolution des monosulfoaluminates de calcium puis de l'ettringite. La Figure I-5 illustre les réactions qui se produisent lors de la lixiviation d'une pâte de ciment, avec apparition de 5 zones clairement identifiables. Chaque zone est composée d'une minéralogie propre, contrôlée par la profondeur à laquelle elle se trouve et par la solubilité des hydrates. Dans le cas où la solution agressive est chargée en ions carbonates, il y a formation, sur la surface exposée, d'une zone riche en carbonate de calcium qui conduit à une diminution de la porosité et ralentit le front de lixiviation (Adenot, 1992). Des essais de lixiviation sur pâte de ciment ont montré la présence i) d'une zone dégradée qui présente une porosité plus importante que le cœur de l'échantillon intacte, ii) d'un front de dissolution bien marqué (Figure I-5), iii) d'une décalcification progressive des hydrates.

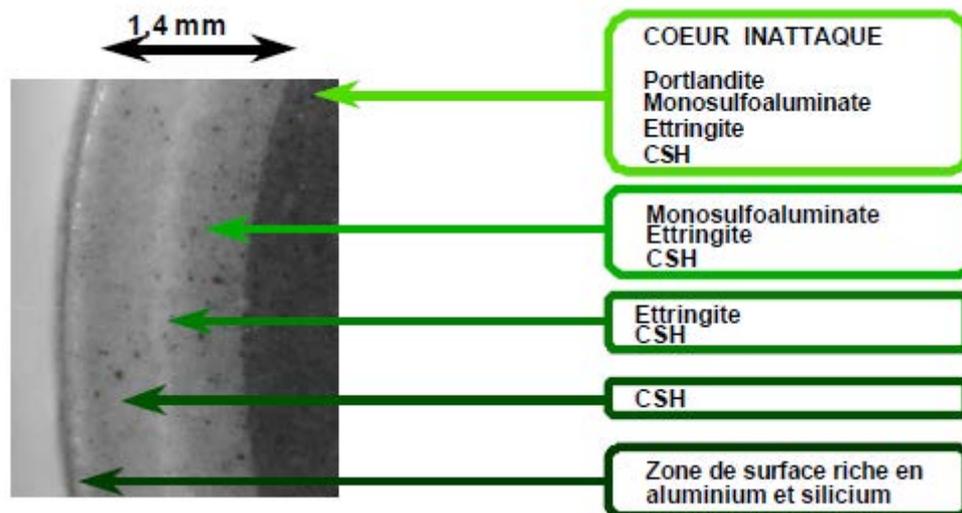


Figure I-5 : Zonation d'une pâte de ciment après 3 mois de lixiviation (Adenot, 1997)

Ces phénomènes de vieillissement naturel des matériaux cimentaires peuvent être favorables à la colonisation par des microorganismes. Ils participent à la modification de la bioréceptivité des matériaux, nécessaire à l'implantation d'un biofilm. Ces notions sont décrites plus amplement dans les paragraphes 2.3 Biofilm et 4.1 Bioréceptivité.

2. Microorganismes

Différents microorganismes ont un métabolisme pouvant induire la dégradation des matériaux, que ce soit des métaux, des céramiques ou des matériaux organiques. Cependant, « *L'action des microorganismes conduisant à la biodétérioration des*

matériaux n'est jamais directe : personne n'a jamais vu, et ne verra jamais, un « microbe » forer un trou dans un matériau à l'aide d'un appendice spécialisé quelconque ! » (Magot, 2008). La biodétérioration peut être induite par leur simple présence (gonflement de rhizomes ou des substances polymériques extracellulaires communément appelées EPS (Extracellular Polymeric Substances) dans les pores), par leurs produits métaboliques (acide organique par exemple) ou par des enzymes qu'ils sécrètent. Les matériaux cimentaires sont susceptibles d'être altérés par différents microorganismes comme : des plantes, des lichens, des algues, des champignons et des bactéries. A ce jour, les cas de biodétérioration avérés d'ouvrages en béton incriminent principalement des bactéries, et plus particulièrement celles du genre *Thiobacilli* notamment dans le cas des ouvrages d'assainissements.

2.1. Bactéries

Les bactéries sont les plus anciens êtres vivants connus sur Terre (plus de 3.5 milliards d'années). Ce sont des microorganismes unicellulaires dit procaryotes, c'est-à-dire que leur patrimoine génétique est diffus dans la cellule contrairement aux cellules eucaryote où l'ADN est présent dans leurs noyaux. Sur les trois principales branches que comprend l'arbre du règne du vivant, les bactéries appartiennent à deux d'entre-elles : le domaine *Archaea* et le domaine *Bacteria* (Figure I-6). La troisième concerne tous les êtres vivants eucaryotes comme l'homme, les plantes, les protozoaires, etc.

On trouve principalement les bactéries sous forme de coques (sphères), de bacilles (bâtonnets), de vibrions (spirales) et de spirilles (filaments). Leurs tailles varient de 0,5 à 10 μm pour les coques et les bacilles, et jusqu'à plusieurs dizaines de micromètres pour les chaînes et spirilles. Elles peuvent être solitaires, par paires, en chaînes ou en amas. Quelques soient les bactéries, elles peuvent se rencontrer dispersées dans un milieu (bactéries dites planctoniques) ou intégrées dans un biofilm fixé sur un solide (bactéries dites sessiles).

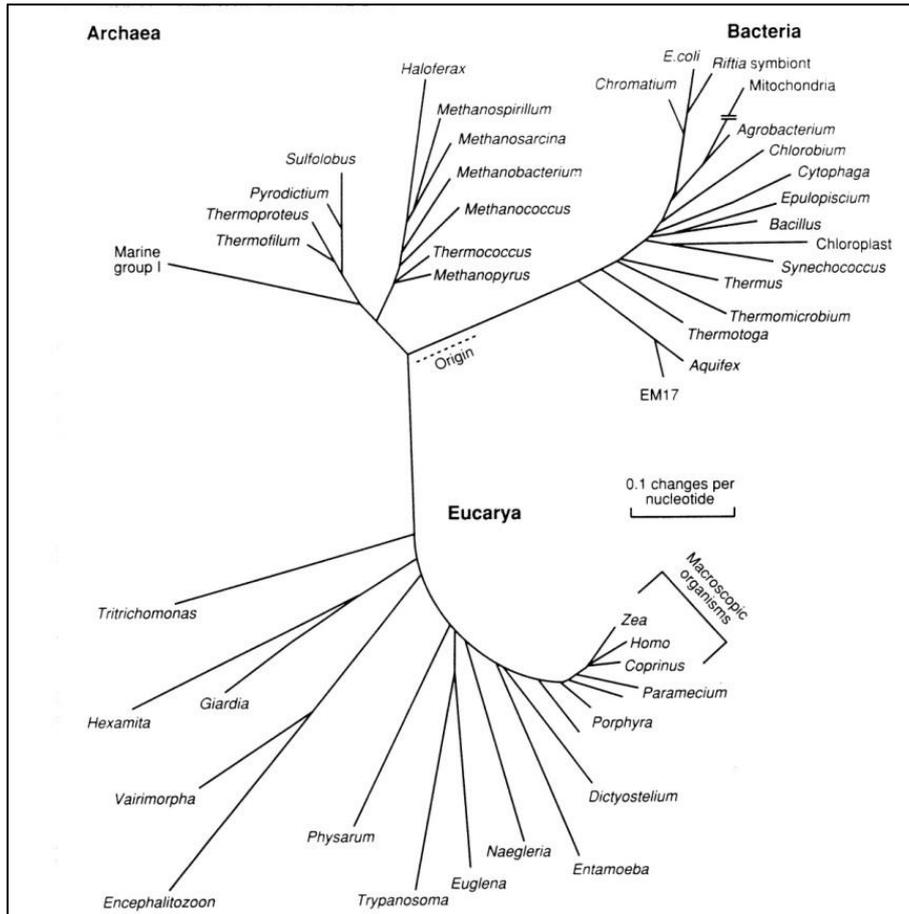


Figure I-6 : Arbre phylogénétique des êtres vivants (Magot, 2008)
La longueur des branches est proportionnelle à la divergence génétique.

Ces organismes « simples » ont la capacité de s'adapter à leurs environnements. C'est pourquoi on les retrouve dans tous les milieux. Le Tableau I-V présente quelques ordres de grandeurs des populations bactériennes pour différents environnements.

Air	Extérieur	$10^2 - 10^3 / m^3$
	Appartement	$10^3 - 10^4 / m^3$
	Gare	$10^6 - 10^8 / m^3$
Eau	Océans	$10^1 / ml$
	Eaux souterraines	$0 - 10^6 / ml$
	Rivières	$10^4 - 10^5 / ml$
	Eaux minérales en bouteille	$10^3 - 10^5 / ml$
Autres	Sols	$10^6 - 10^9 / g$
	Sédiments	$10^6 - 10^{10} / g$
	Intestins	$10^{10} - 10^{12} / g$
	Peau	$10^2 - 10^5 / cm^2$

Tableau I-V : Ordres de grandeur des populations bactériennes dans divers environnements (Magot, 2008)

La colonisation d'un milieu par des bactéries dépend principalement de deux paramètres : i) la présence et l'abondance des nutriments nécessaires à leurs développements ; ii) la température. A noter que certaines bactéries arrivent à s'adapter à des environnements extrêmes. D'autres paramètres du milieu conditionnent la possibilité du développement de certains groupes bactériens, comme la salinité, la pression, le pH, l'oxygène dissous...

2.1.1. Métabolismes bactériens

Les bactéries, comme tous les autres organismes vivants, ont besoins de nutriments pour vivre et, surtout, se multiplier (mitose). Les principaux besoins de la cellule vont être : des sources de carbone, des éléments donneurs et accepteurs d'électrons qui représentent une source d'énergie et d'eau. L'eau peut être sous forme liquide ou sous forme gazeuse, auquel cas c'est le taux d'humidité qui va jouer sur la vitesse de développement.

On appelle métabolisme bactérien l'ensemble des réactions biochimiques coordonnées et régulées effectuées par les bactéries. On observe deux sous-métabolismes (Magot, 2008 ; Roux, 2008 ; Dupont, 2005) :

- le métabolisme nutritif ou anabolisme, il correspond à l'ensemble des synthèses cellulaires qui ont pour objectif la division cellulaire. La bactérie prélève dans le milieu les composés organiques et minéraux qui lui sont nécessaires, puis les synthétise en protéines, lipides, acides nucléiques, etc. Les cellules sont donc classées en fonction de la source de carbone. S'il est d'origine minéral (CO_2 , carbonate...), la cellule est dite autotrophe ; s'il est d'origine organique, elle est dite hétérotrophe.
- le métabolisme énergétique, il correspond à l'ensemble des réactions internes à la cellule qui permettent d'apporter l'énergie nécessaire à sa survie, se mouvoir, importer et synthétiser les nutriments, se multiplier, etc. Le métabolisme énergétique (Figure I-7) repose sur des réactions d'oxydo-réduction qui permettent à la bactérie de récolter de l'énergie par transfert d'électrons. Ces transferts se font entre un donneur d'électrons (ou réducteur) et un accepteur final d'électrons (ou oxydant), pour former de l'adénosine triphosphate qui lui fournira par la suite de l'énergie lors de son clivage par hydrolyse. Les sources d'énergie peuvent être de trois natures différentes, ce qui permet de classer les bactéries en fonction de leur type trophique :
 - les bactéries phototrophes qui utilisent la lumière comme source d'énergie primaire.
 - les bactéries chimioorganotrophes, qui utilisent des composés chimiques organiques comme donneurs d'électrons.

- les bactéries chimiolithotrophes, qui utilisent des composés minéraux comme donneur et accepteur d'électrons.

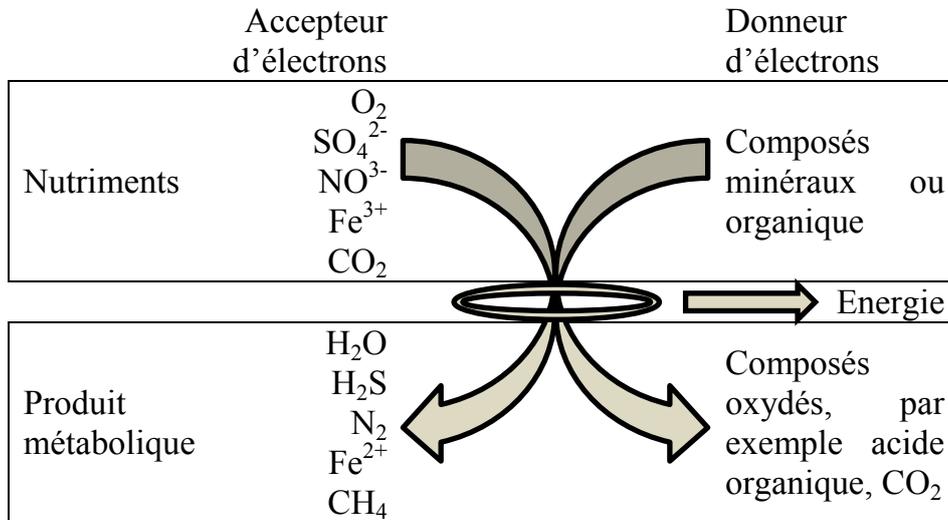


Figure I-7 : Représentation schématique du métabolisme énergétique bactérien (Magot, 2008)

La reproduction des bactéries se fait principalement par scission cellulaire binaire ou mitose. Quand une cellule (cellule mère) a atteint sa taille critique, c'est-à-dire qu'elle a accumulé suffisamment d'énergie, de nutriments et de composés structuraux pour former deux cellules viables, alors elle se divise en deux cellules strictement identiques. La vitesse de colonisation d'un milieu par des bactéries dépend donc principalement de la quantité de nutriments présents.

Une bonne connaissance des métabolismes nutritifs et énergétiques des bactéries permet de formuler des milieux de cultures adaptés à leur développement et de conduire l'identification et/ou l'isolement de certains types bactériens. Les milieux de culture peuvent être généraux et ainsi favoriser le développement de l'ensemble de la flore ou être sélectifs et favoriser alors la culture de microorganismes spécifiques. La culture ou l'isolement de bactéries peut-être réalisé en :

- milieu liquide (bouillon), principalement utilisé pour les essais accélérés ou de quantification par estimation statistique de la population de micro-organismes (méthode du nombre le plus probable) (Magniez, 2014),
- milieu solide (gélose) en boîtes de Pétri, principalement utilisé pour la quantification des espèces bactériennes dans un milieu et aussi pour la purification des souches microbiennes.

Cependant, les milieux de culture, qu'ils soient liquides ou solides, ne permettent pas de reproduire les conditions réelles de croissance de la faune et de la flore

microbienne du milieu naturel. Il est donc nécessaire de croiser les résultats d'essais accélérés réalisés en laboratoire avec ceux obtenus par des essais *in situ*.

2.1.2. Multiplication, isolation et culture des bactéries

La parfaite compréhension des métabolismes énergétiques et nutritifs des bactéries est une étape importante pour la mise au point de bouillon permettant la culture et/ou la sélection de bactéries en laboratoire. L'intérêt est d'accélérer le développement et la multiplication des cellules et/ou d'isoler certaines espèces. Dans les milieux naturels, les processus biologiques impliqués dans les détériorations ou dégradations des matériaux cimentaires sont longs et associés à d'autres phénomènes naturels. Il est nécessaire d'avoir recours à des essais en laboratoire pour isoler les effets des microorganismes et accélérer les réactions. Toutefois, il faut noter que toutes les espèces bactériennes ne sont pas cultivables. Il est donc impossible de reproduire, en laboratoire, la complexité physico-chimie et biologique d'un milieu naturel. De ce fait, un milieu de culture général, même général, est volontairement ou involontairement sélectif, car il ne permet l'étude que des celles bactéries cultivables.

La sélection et la culture de certaines espèces se fait par le biais de milieux enrichis en nutriments, qui répondent aux besoins de l'espèce en question, et qui ne sont favorables qu'à la croissance d'un seul type de microorganisme. Cette sélection se fait principalement par choix des donneurs et accepteurs d'électrons utiles au métabolisme cellulaire.

2.1.3. Les bactéries sulfato-réductrices

Les travaux menés au cours de cette étude et concernant les influences bactériennes se focalisent sur le rôle des bactéries sulfato-réductrices. Néanmoins, différents autres types bactériens sont incriminés dans les phénomènes de biodétérioration des bétons comme, par exemple ceux impliqués dans le cycle de l'azote (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*) ou dans le processus d'oxydation des produits soufrés (*Thiobacilli*, *Acidithiobacilli*). Leurs influences spécifiques n'étant pas traitées dans ces travaux, une description succincte de leur métabolisme sera faite dans le paragraphe 4.2 où les différents processus de bioaltération et biodétérioration sont présentés.

Les bactéries sulfato-réductrices (BSR) sont les organismes du genre *Desulfovibrio*, régulièrement mis en cause dans la bio-corrosion des aciers dans les milieux dépourvu d'oxygène (De Dall'Agnol, 2014). Elles se développent à un pH proche de la neutralité et sont inhibées à un pH inférieur à 6 ou supérieur à 9.

Les BSR sont des bactéries anaérobies, ce qui signifie qu'elles ne peuvent se développer que dans des milieux dépourvus d'oxygène. Toutefois, elles tolèrent la présence transitoire d'oxygène, jusqu'à plusieurs jours (Dupont, 2005 ; Loubinoux, 2001). Ce sont des organismes chimiotrophes qui tirent leur énergie de la réduction de composés organiques ou minéraux et qui ont comme caractéristique de réduire le sulfate en sulfure. Les BSR utilisent des formes oxydées du soufre comme accepteurs d'électrons pour permettre l'oxydation de composés organiques (donneurs d'électrons) (Figure I-8).

Bien que les BSR utilisent principalement le sulfate comme accepteur d'électrons, elles ont aussi la capacité d'utiliser d'autres composés soufrés comme le sulfite, le thiosulfate, le soufre élémentaire. Si le milieu est dépourvu de composés soufrés, les BSR utilisent des nitrates, des nitrites, ou du fer III.

De même, les donneurs d'électrons peuvent appartenir à différentes classes. Les plus classiques étant des lactates et des acétates, mais aussi des acides aliphatiques, de l'alcool, des acides aminés, des glucides, etc. (Magot, 2008).

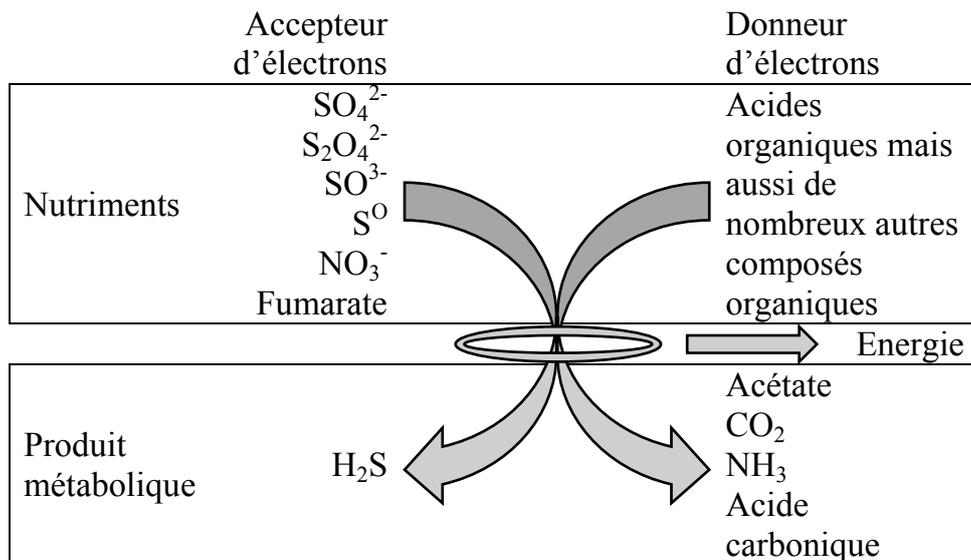


Figure I-8 : Représentation schématique du métabolisme énergétique des bactéries sulfato-réductrices (Magot, 2008)

2.2. Diatomées

Les diatomées représentent un genre très riche et majoritaire du phytoplancton jusque 80% de ce dernier (Molle, 2013). Elles sont couramment employées comme indicateur de la bonne « santé » des cours d'eau (bio-indicateur). La police scientifique les utilise pour déterminer le lieu de la mort dans les cas de noyade. Les diatomées servent aussi dans l'aquaculture comme nourriture de base des poissons (alevins ou

adultes), des mollusques et des crustacés (Chen, 2007). Les diatomées intéressent également les chercheurs pour la confection de bio-carburants, car certaines d'entre elles synthétisent des lipides pouvant remplir ce rôle (Sido, 1991).

Les *Bacillariophycées* ou *Diatomophyceae*, plus communément appelées diatomées, appartiennent au règne des protistes et à la division des *Heterokonotophyta* (Figure I-9). Ces micro-algues unicellulaires présentent la particularité de posséder un squelette externe siliceux bivalve, communément appelé frustule (De Reviere, 2002). Ce frustule est composé de silice opaline polymérisée hydratée, de formule $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, enchâssé dans une matrice organique (Debenest, 2007).

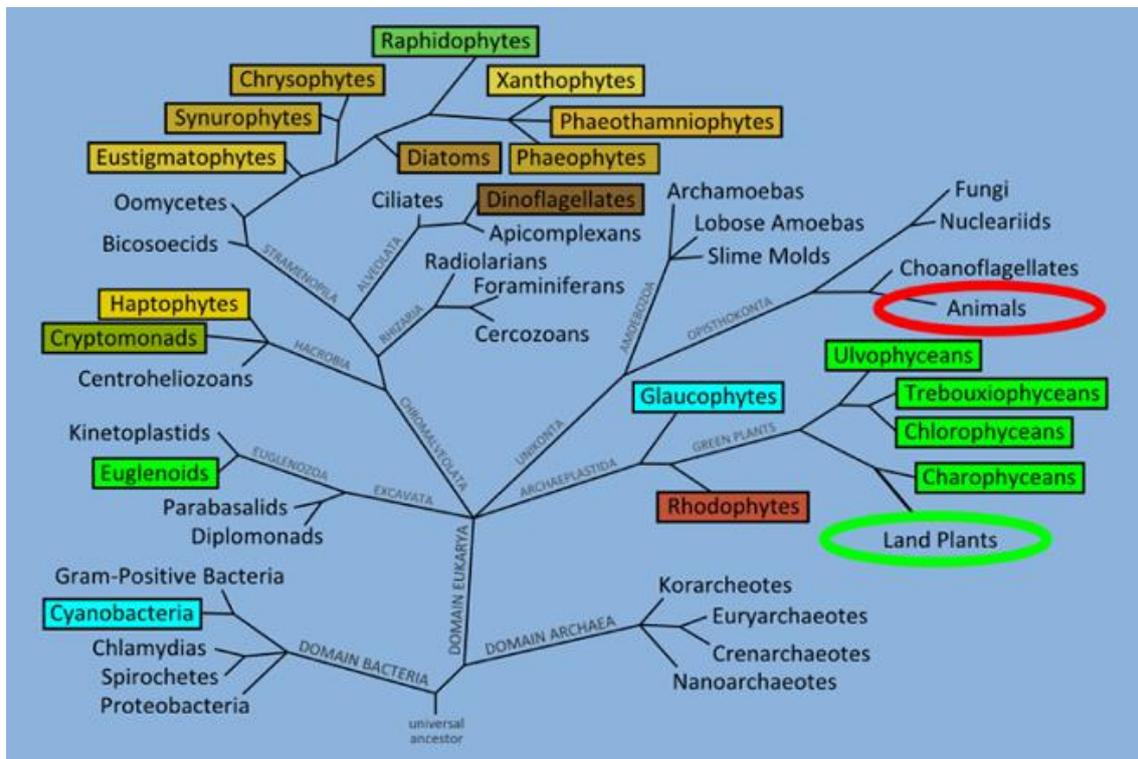


Figure I-9 : Arbre phylogénétique mettant en évidence la diversité et la distribution des algues (groupes en boîte, les couleurs indiquent la diversité de la pigmentation) dans les domaines de la vie. À titre de comparaison, les animaux et les plantes terrestres sont encerclés respectivement en rouge et en vert¹.

Selon les auteurs, on dénombre à ce jour jusqu'à 100 000 espèces de diatomées. Leur identification se base sur l'ornementation et la forme des valves (Hoek, 1995). Parmi ces espèces on distingue deux sous-classes particulières : les diatomées pennées (Pennatophycideae) et les diatomées centriques (Centrophycideae) (Figure I-10) (Debenest, 2007).

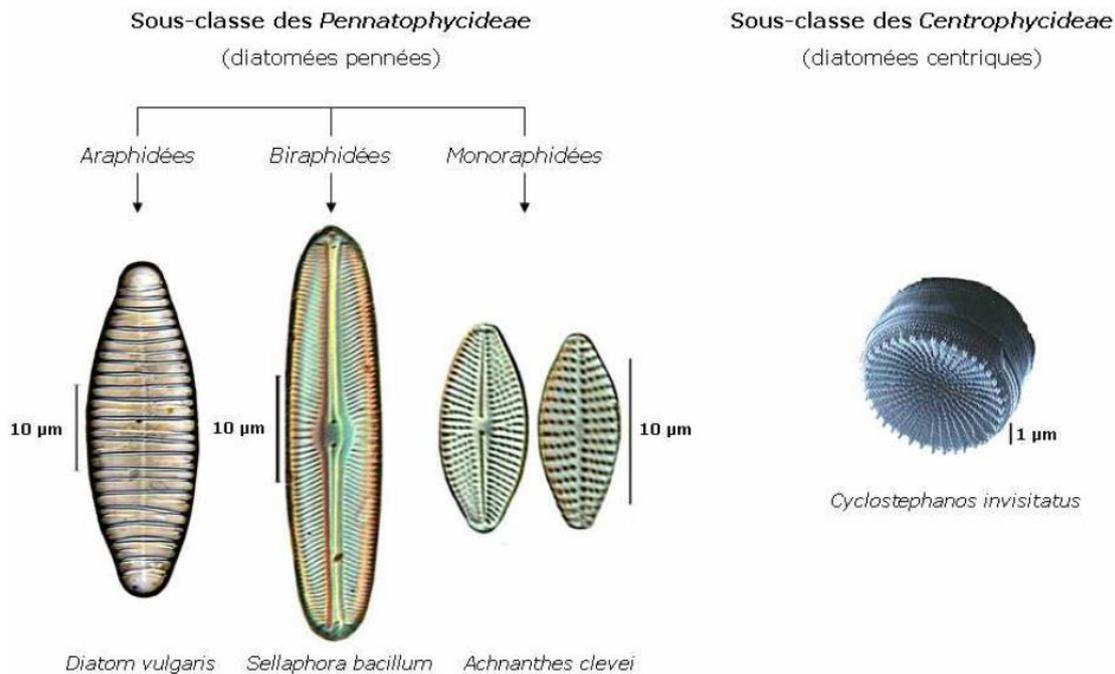


Figure I-10 : Représentation schématique de la systématique des diatomées (Debenest, 2007)

Les diatomées, comme beaucoup de microorganismes, présentent des facultés d'adaptation qui leur permettent d'assurer leur survie et de coloniser de très nombreux milieux : milieux aquatiques (eau douce et eau salée), milieux aériens et milieux terrestres. En eau douce naturelle, on distingue deux modes de vie des diatomées (Debenest, 2007) :

- les diatomées qui se développent en suspension dans le milieu (diatomées planctoniques). Il s'agit généralement des diatomées centriques qui se développent soit isolément, soit regroupées en chaînes. Elles représentent la majeure partie des espèces qui forment le phytoplancton.
- les diatomées benthiques, qui se développent au sein d'un consortium complexe de microorganismes, appelé biofilm (voir paragraphe 2.3 Biofilm).

En fonction des cycles climatiques et de la concurrence inter-espèces, la population de diatomées qui se développent sur un support ou dans un milieu donné évolue régulièrement. La Figure I-11 résume l'évolution de la population d'algues (diatomées, algues vertes et cyanobactéries) dans un cours d'eau en fonction des saisons et des conditions physico-chimiques du milieu. Au début du printemps, les conditions trophiques et les débits encore importants sont particulièrement favorables au développement des espèces pionnières de diatomés, qui présentent la capacité d'adhérer rapidement et étroitement au support, ce qui en fait l'espèce dominante sur toutes les surfaces. (Sekar, 2004). En été, avec l'évolution des conditions physico-chimiques du milieu et le broutage par les macroorganismes et le zooplancton, les

diatomées sont remplacées progressivement par des algues vertes puis par des cyanobactéries (Figure I-11). En hiver, l'augmentation des turbulences et la diminution de la température rendent le milieu défavorable au développement des autres groupes d'algues au profit des diatomées (Letão, 2005).

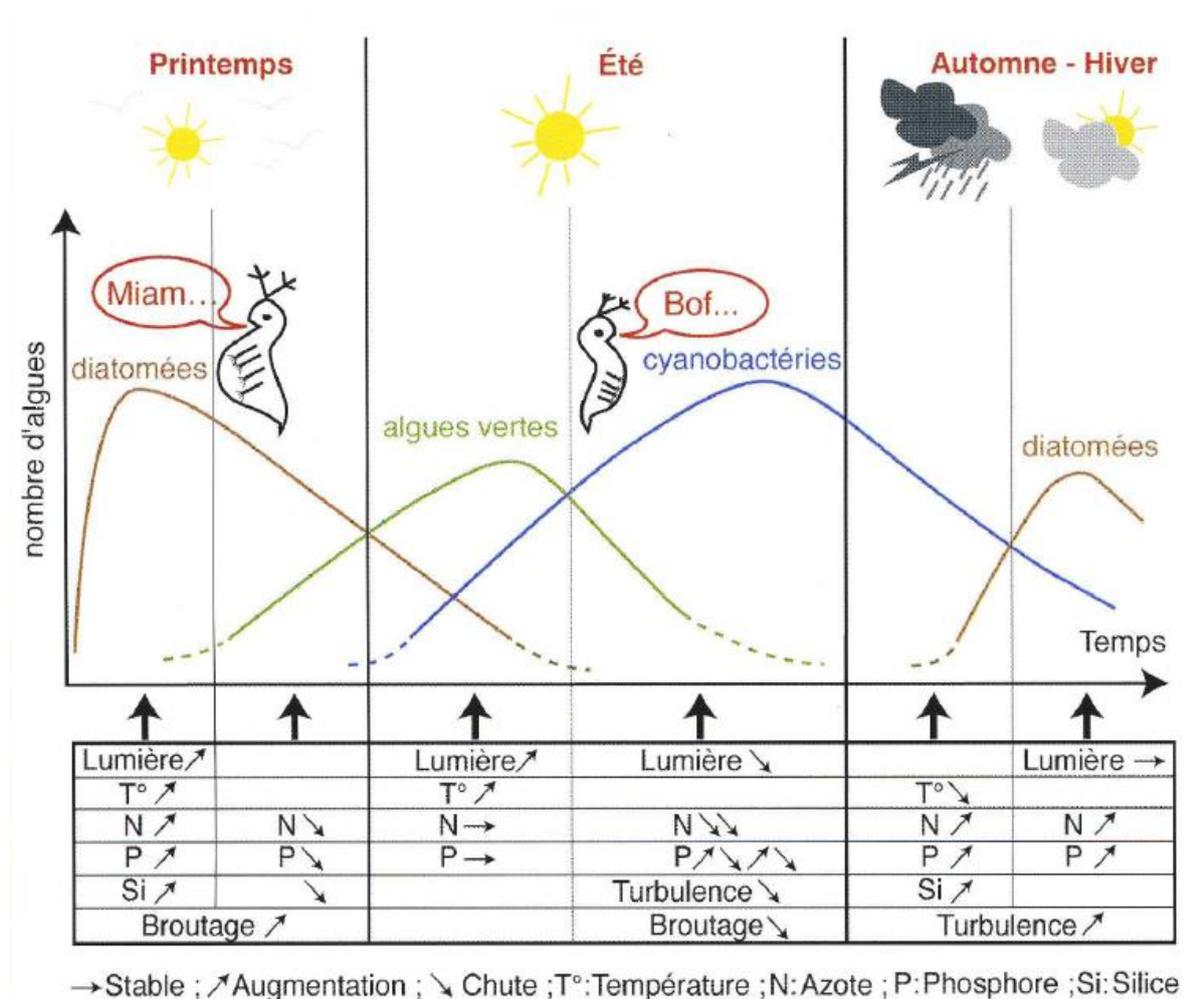


Figure I-11 : Evolution sur une année des populations algales (Letão, 2005)

Les diatomées, comme toutes les micro-algues eucaryotes ou procaryotes, ont comme point commun d'employer la photosynthèse oxygénique pour leur production d'énergie. Elles utilisent l'énergie lumineuse comme catalyseur dans des réactions d'oxydoréductions qui visent à produire de l'oxygène et des sucres (énergie chimique de la cellule) à base de dioxyde de carbone et d'eau, selon la réaction simplifiée suivante (Equation I-10) :



Cette réaction est catalysée par la lumière, on distingue donc les réactions diurnes et nocturnes (Figure I-12). En phase diurne, les réactions sont particulièrement rapides

et se déroulent dans la membrane du chloroplaste où l'énergie lumineuse est convertie en énergie chimique pour la synthèse de NADPH_2 (Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate d'Hydrogène) et d'ATP (Adenosine Tri-Phosphate). Dans cette phase l'eau consommée permet la libération dans le milieu de dioxygène. En phase nocturne, la cellule va réduire le CO_2 présent dans le milieu en glucide, cette réaction très lente se réalise dans le stroma du chloroplaste (Sialve, 2013).

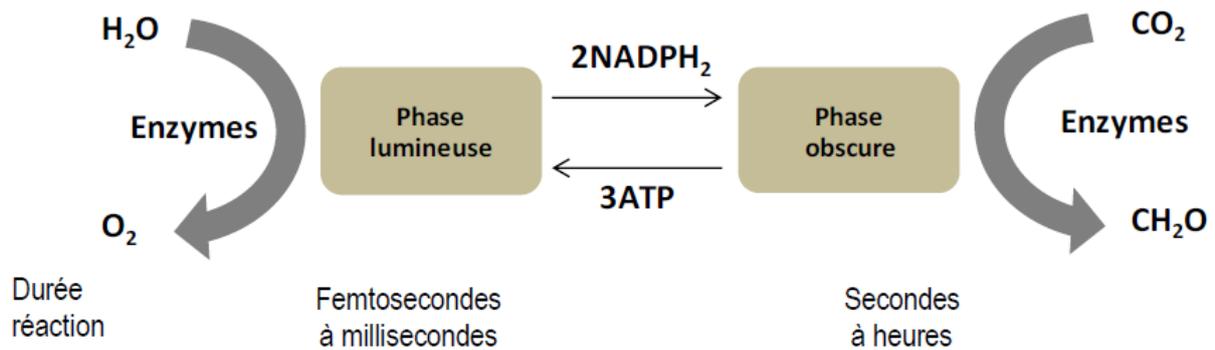


Figure I-12 : Réactions en fonction des phases lumineuses (Sialve, 2013)

Pour transformer l'énergie lumineuse en énergie chimique, les diatomées contiennent différents pigments dont de la chlorophylle a et c, mais également du β -carotène (Williams, 2010). La Figure I-13 récapitule des spectres d'absorption des différents pigments photosynthétiques et de la lumière du soleil. Pour assurer un développement optimal des diatomées, la source lumineuse artificielle, doit se rapprocher au mieux du spectre solaire ou correspondre aux longueurs d'ondes des pigments constitutifs des diatomées.

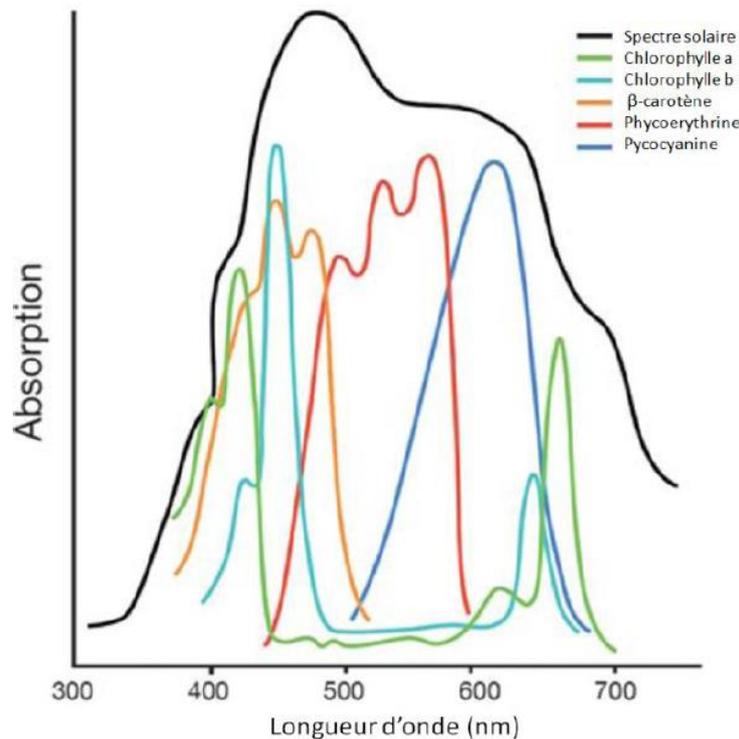


Figure I-13 : Comparaison des spectres d'absorption de la chlorophylle et des pigments accessoires par rapport au spectre solaire (Williams, 2010)

2.3. Biofilm

L'accumulation de microorganismes sur une surface, que ce soient des bactéries, des champignons, des micro-algues, etc., et de matière organique est génériquement appelée « biofilm ». Un consortium microbien peut être métaphoriquement appelé « la cité des microbes » (Watnick, 2000) car, dans les milieux naturels, la plupart des bactéries (environ 99%) se regroupent sous forme de biofilm pour assurer leur survie et profiter les uns des autres pour se développer.

Le biofilm se compose d'une grande diversité de microorganismes, de substances polymériques extracellulaires communément appelés EPS (Extracellular Polymeric Substances) (qui représente 70 à 98% de la masse organique), et d'une importante proportion d'eau, soit environ 99% de la masse totale (Block, 2008). On retrouve également des particules et des précipités minéraux, des débris organiques, etc.

Les EPS sont principalement composées de polymères organiques (type polysaccharides par exemple). Cette matrice joue un rôle structural et de cohésion pour le biofilm. Elle lui confère également des propriétés visco-élastiques et permet son adhésion sur la plupart des surfaces en milieu humide. Cette matrice est également l'interface entre les microorganismes composant de biofilm et le support, ainsi

qu'entre les cellules elles-mêmes (Block, 2008 ; Flemming, 2007). En effet, cette matrice est le vecteur de diffusion des différents éléments nutritifs puisés dans le milieu ou sur le support et des métabolites potentiellement corrosifs produits par les microorganismes.

La colonisation de la surface d'un matériau par des microorganismes se déroule suivant quatre phases principales (Figure I-14) (Roux, 2008 ; Gomes, 2014) :

- 1) Conditionnement de la surface : cette première phase correspond à une modification des propriétés physiques et/ou chimiques de la surface, induite ou non par les microorganismes. Dans le cas des matériaux cimentaires, cette phase correspond très généralement à la carbonatation superficielle de la matrice cimentaire en contact avec du dioxyde de carbone, qui entraîne une diminution jusqu'à 9 du pH et permet aux bactéries neutrophiles de la coloniser. Un phénomène similaire de diminution du pH de surface a été observé sur des bétons exposés à de l' H_2S (Joseph, 2012).
- 2) Adhésion et colonisation primaire : cette seconde phase correspond à l'implantation des premiers microorganismes. Elle se produit dans les régions où les conditions sont les plus favorables au développement microbien (turbidité, pH etc.) et là où les nutriments sont présents en abondance. La colonisation primaire d'une surface est un phénomène réversible de par le faible nombre de microorganismes mis en jeu et les faibles forces de liaisons mobilisées (forces de Van der Waals, liaison hydrogène).
- 3) Colonisation secondaire : cette troisième phase correspond à une augmentation exponentielle du nombre et du genre de cellules colonisant la surface, de nouvelles espèces utilisant les excréments des bactéries déjà présentes comme nutriments pour se développer. L'ensemble des organismes présents vont permettre une croissance de l'épaisseur du biofilm, mais également permettre à celui-ci de s'étendre sur la surface du matériau. La sécrétion plus importante d'EPS au sein du biofilm va engendrer une adhésion plus forte de ce dernier sur la surface, et ainsi rendre la colonisation irréversible.
- 4) Etat stationnaire ou plateau : Cette dernière phase correspond à la phase de maturité du biofilm. L'équilibre se crée entre la lyse cellulaire et le taux de division, la densité de population devient stable et l'ensemble se comporte comme un tissu vivant présentant en son sein un métabolisme coopératif. Grâce à cette faculté, le biofilm va pouvoir développer des zones dépourvues d'oxygène qui favorisent le développement des bactéries anaérobies de type *Desulfovibrio* (Roux, 2008).

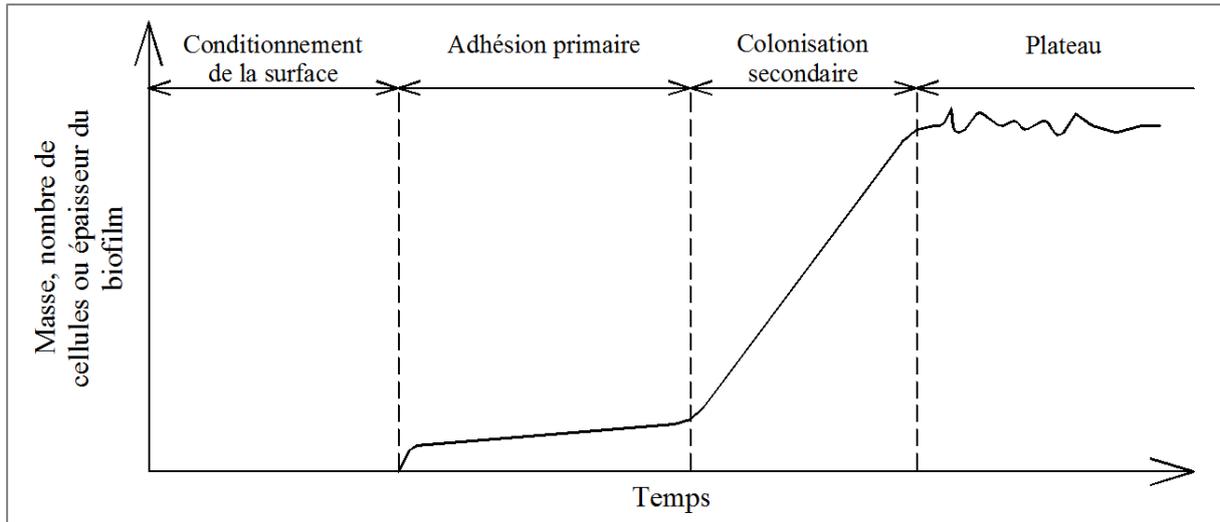


Figure I-14 : Formation d'un biofilm et évolution dans le temps, d'après (Flemming, 1998)

3. Le milieu

La sensibilité des matériaux aux attaques d'origine biologique dépend fortement du milieu auquel ils sont exposés. En effet, le milieu est responsable de l'apport en microorganismes et en nutriments nécessaires à leurs développements. De plus, les caractéristiques physico-chimiques du milieu vont conditionner la colonisation et le développement des microorganismes sur le support. Ces principales caractéristiques vont être : le pH, la température, l'humidité, la présence de gaz dissous, la luminosité, le flux et les turbulences, etc. Les photographies ci-dessous (Figure I-15) illustrent l'influence : (a) de l'exposition lumineuse, avec la face de la cheminée exposée au sud beaucoup plus encrassée que la face ouest ; (b) de l'humidité avec une colonisation plus importante sous la gouttière ; (c) de différents facteurs sur un même enrochement : flux avec un zonage moins colonisé où les vagues viennent se briser (c1), l'humidité avec les embruns des vagues (c2) et une zone où les conditions ne sont pas favorables par manque d'humidité (c3) .



Figure I-15 : Exemple de l'influence des paramètres du milieu sur la colonisation microbienne

Le milieu représente la principale source de nutriments pour les microorganismes. La présence des espèces chimiques, minérales ou organiques, nécessaires au métabolisme du microorganisme dans le milieu est un facteur sélectif pour les espèces qui pourront s'y développer. La proportion et la disponibilité de ces éléments, mais également la présence de certains composés chimiques pouvant être toxiques, seront des paramètres importants pour la sélection des espèces pouvant se développer dans un milieu donné. Ce sont les caractéristiques de ce milieu qui vont déterminer la quantité et la nature des microorganismes qui vont pouvoir s'y développer.

De même le pH va être un facteur limitant ou favorisant le développement des microorganismes. D'une part, parce qu'il joue sur l'équilibre chimique du milieu,

rendant alors les nutriments plus ou moins assimilables par les cellules. L'exemple qui illustre cela se situe dans les réseaux d'assainissements où les eaux usées y ont un pH légèrement acide et où l'espèce soufrée dominante est l'hydrogène sulfuré (De Belie, 2010). De plus chaque espèce a une plage de pH optimale de développement en dehors de la quelle la cellule meurt ou ralentit son développement (Zivica, 2001).

En plus de nutriments, certains microorganismes ont besoin d'oxygène pour se développer et d'autres au contraire ne la tolèrent pas. Il existe quatre types d'espèces : les aérobies strictes qui ont besoin d'oxygène pour se développer ; les aéro-anaérobies pour lesquelles l'oxygène est préférable mais pas nécessaire ; les anaérobies aérotolérants pour qui l'oxygène ne présente aucun intérêt ; les anaérobies strictes pour lesquelles l'oxygène est létal.

La température du milieu est également un facteur important de la croissance cellulaire. Comme pour le pH, les microorganismes ont une plage de température optimale pour leur développement. Si la limite basse est dépassée, leur croissance sera stoppée et si la température dépasse la limite haute, la cellule meurt. La température a également une influence sur la bioréceptivité. En effet, l'adhésion des microorganismes sur un support est régi par des liaisons chimiques de type hydrogène ou de Van der Waals. Ces types de liaisons, dites faibles, sont fortement influencés par la température du milieu. Elle va donc conditionner la capacité des microorganismes à se fixer sur le support.

Enfin, certaines espèces ont besoin de lumière pour se développer, comme par exemple les micro-algues et les diatomées qui ont un métabolisme photosynthétique. La vitesse de croissance de ces microorganismes est directement proportionnelle à l'intensité lumineuse reçue. Chaque espèce possède un seuil de saturation au-delà duquel les réactions de photosynthèses diminuent (Paule, 2012, Béchet, 2013). De plus il faut noter que tout le spectre de la lumière n'est pas utilisé dans les réactions, les pigments photosynthétiques qui composent les cellules ont des longueurs d'ondes définies pour l'absorption de la lumière. A chaque pigment correspond un spectre caractéristique (Sialve, 2013). Le temps d'exposition est également un facteur d'influence du développement des microorganismes photosynthétiques. En milieu naturel, les cycles jour/nuit sont imposés par le soleil. Dans l'industrie ou en laboratoire, les paramètres doivent être optimisés pour permettre une culture rapide et efficace. Des travaux ont été réalisés sur l'influence de la durée des cycles jour/nuit sur des cultures de cyanobactéries. L'espèce retenue, *Aphanothece microscopica Nägeli*, montre une augmentation linéaire de la croissance avec l'allongement de phases de jour (Jacob-Lopes, 2009).

L'impact du milieu ne se manifeste pas que sur les microorganismes, mais également sur les matériaux. Le milieu est responsable du vieillissement des matériaux cimentaires, via la carbonatation ou la lixiviation (voir paragraphe 1.6 ; Vieillissement du béton). Il est aussi le vecteur d'agents potentiellement réactifs pouvant générer la réaction alcalis-granulat (RAG), les attaques sulfatiques ou les dégâts engendrés par les cycles de gel-dégel. Toutes ces actions provoquent la fissuration et/ou l'écaillage du parement des ouvrages, rendant ainsi le cœur béton accessible aux agents agressifs.

Les conditions hydrodynamiques au sein du milieu vont également avoir un rôle important. Hormis le renouvellement des nutriments nécessaires au métabolisme des cellules, le flux va permettre d'homogénéiser les concentrations en nutriments, de générer un arrachement partiel ou total du biofilm et/ou de limiter l'adhésion microbienne. Ce brassage permet également l'apport, en surface et en profondeur, de gaz dissous dans l'eau. De plus, la vitesse d'écoulement d'un fluide, eau ou air, génère des phénomènes d'érosion de la surface et également de dépôt de matière en suspension modifiant ainsi l'état de surface.

4. Interactions microorganismes et matériaux cimentaires

4.1. Bioréceptivité

La bioréceptivité est un concept qui a été introduit en 1995 par O. Guillitte. Cet auteur définit la bioréceptivité comme « l'aptitude d'un matériau à être colonisé par un ou plusieurs groupes d'organismes vivants sans nécessairement induire une biodétérioration » (Guillitte, 1995b). Ce concept définit l'ensemble des propriétés intrinsèques d'un matériau qui permettent la colonisation de la faune et/ou de la flore microbienne. Dans le cas des matériaux cimentaires, les principaux paramètres d'influence sont les propriétés physico-chimiques de la surface, i.e. le pH, la rugosité et la topographie, la porosité.

Ces propriétés peuvent évoluer au cours du temps sous différentes actions d'origines humaines, biologiques, chimiques, etc. Ces changements peuvent également modifier la bioréceptivité du matériau et lui conférer une bioréceptivité dite « secondaire », souvent plus favorable à la colonisation bactérienne (Guillitte, 1995b).

Dans le cas des matériaux cimentaires, les échantillons au jeune âge ont un pH de 12-13 très défavorable à l'implantation d'une colonie. En présence d'humidité et de dioxyde de carbone, les phases cristallines de la matrice cimentaire vont se carbonater, ce qui entraîne une diminution du pH de surface aux alentours de 9, permettant ainsi la colonisation par des microorganismes neutrophiles.

4.1.1. Porosité

La porosité des matériaux cimentaires est un facteur qui influence la bioréceptivité et la biodétérioration (Barberousse, 2007 ; De Belie, 2004 ; Giannantonio, 2009 ; Guillitte, 1995a ; Monteny, 2000).

Dans le cas d'échantillons exposés à un milieu aérien, la porosité connectée à la surface constitue un réservoir d'humidité nécessaire aux cellules pour vivre. Des études ont montré (Miller, 2009 ; Dubosc, 2000) que la porosité, au sens large du terme, n'est pas le seul paramètre, mais que la structure et la connectivité des pores ont une plus grande influence que la porosité totale accessible à l'eau dans la bioréceptivité du matériau. La géométrie et la complexité de la structure poreuse ont un impact direct sur les propriétés d'absorption du matériau, mais également sur les équilibres hydriques en son sein. Les conclusions de Dubosc (Dubosc, 2000) démontrent le lien entre la colonisation de parement par des microorganismes et la taille de pores. Les corrélations entre développement de microorganismes photosynthétiques et le coefficient de capillarité présentent de meilleurs résultats que des corrélations faites avec porosité ouverte ou perméabilité à la vapeur du matériau (Miller, 2009).

Dans le cas d'échantillons, partiellement ou totalement, immergés dans un milieu aqueux, la porosité n'a pas la même influence sur la colonisation car, dans ce cas, elle ne joue pas le rôle de réservoir d'humidité. En revanche, elle a un rôle vis-à-vis de la rugosité et de la tension de surface des échantillons (Dubosc, 2000).

4.1.2. Rugosité

Quel que soit le matériau considéré, l'état de surface de ce dernier va jouer un rôle important pour sa bioréceptivité. La caractérisation de l'état de surface du matériau, de sa topographie, implique la connaissance de sa rugosité. Plusieurs études ont mis en évidence l'influence de la rugosité dans la colonisation de surface des bétons, des pierres ou encore des polymères (Barberousse, 2007 ; Dubosc, 2000 ; Miller, 2009 ; Tran, 2011 ; Lors, 2017). Cependant, ces études ne permettent pas d'établir une corrélation directe entre rugosité et taux de colonisation des surfaces des matériaux.

Pour les matériaux cimentaires, la rugosité est constituée de l'ensemble des irrégularités, aspérités, microfissures et des porosités ouvertes présentes à leur surface. Elle constitue autant de sites d'encrage ou de refuge pour les microorganismes qui peuvent favoriser leur implantation. Dans le cas où les échantillons sont exposés à un milieu aquatique, un « relief » important va permettre aux microorganismes de se

protéger des forces hydrodynamiques et limiter l'arrachement du biofilm (Miller, 2012).

4.1.3. Chimie et pH de surface

Les paramètres chimiques et minéralogiques de l'interface entre l'échantillon et le milieu vont principalement influencer les espèces qui vont pouvoir s'implanter et se développer en colonies à la surface des matériaux (Dubosc, 2000 ; Guillitte, 1995a ; Tran, 2011).

D'une part, la minéralogie et plus particulièrement la composition chimique des différents cristaux qui composent la matrice cimentaire peuvent représenter une source de nutriments pour les microorganismes et, logiquement, favoriser l'implantation et le développement de ces derniers. Par exemple, la silice, l'un des composants principaux du ciment, peut représenter une source de « nutriment » pour les diatomées. A l'opposé, certains éléments chimiques, comme les métaux lourds, sont considérés comme des biocides et sont donc inhibiteurs de développement pour les microorganismes (Dubosc, 2000).

D'autre part, la composition chimique du ciment à l'état anhydre va déterminer la nature et la proportion des hydrates qui vont se former. Cela va également avoir une influence sur d'autres paramètres : porosité, rugosité, tension de surface et également pH. Dans les matériaux cimentaires, le pH mesurable correspond au pH de solution interstitiel présent dans la porosité ouverte. Comme vu précédemment, le pH est une condition de développement des microorganismes selon qu'ils sont alcalophiles, neutrophiles ou acidophiles. Plusieurs études (Tran, 2011 ; Dalod, 2015) tendent à démontrer que les phénomènes de carbonatation des matériaux cimentaires favorisent la colonisation par les microorganismes par diminution du pH de surface.

4.2. Biodégradation/bioaltération

Un matériau, de quelque nature qu'il soit, subit tout au long de sa vie des interactions qui vont conduire à des modifications de ses propriétés initiales. Les interactions peuvent être physiques, chimiques ou biologiques selon les conditions d'exposition de ces matériaux.

Les altérations induites par des microorganismes sont des phénomènes très souvent rencontrés, et qui touchent tous types de matériaux : métaux, minéraux, polymères... La colonisation de leur surface par des microorganismes peut conduire à une altération esthétique, mais aussi à des dommages plus ou moins préjudiciables pour leur intégrité structurelle. A contrario, les microorganismes peuvent avoir un effet

bénéfique sur les matériaux, menant dans certain cas à leur protection, leur consolidation ou même leur réparation (Wiktor, 2013).

Le terme biodétérioration regroupe sous une même appellation tous les changements, engendrés par l'activité d'organismes vivants, des propriétés (esthétiques, physiques, chimiques) d'un matériau (organique ou inorganique) présentant une valeur économique, historique ou artistique (Wiktor, 2008). La nature et l'intensité de ces phénomènes dépendent de trois facteurs indissociables (Figure I-16):

- le matériau
- le milieu
- les microorganismes

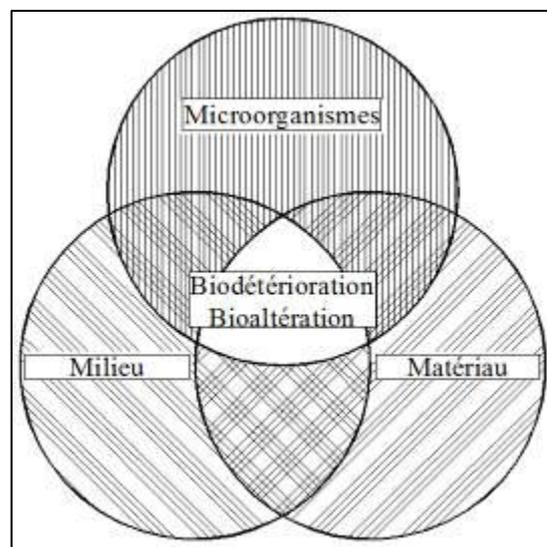


Figure I-16 : Biodétérioration : interactions matériaux - microorganismes - milieu

On trouve principalement deux principaux phénomènes liés à l'action des microorganismes sur les matériaux (Fritz-Feugeas, 2008), sachant que leur définition peut varier d'un auteur à l'autre :

1. La bioaltération, est un processus de vieillissement naturel des ouvrages, où le parement du béton est altéré par la présence des microorganismes qui s'y développent. L'Académie Française définit l'altération comme « Le changement de l'état d'une chose ». Cela se traduit par la modification d'une ou plusieurs caractéristiques du support sans affecter l'intégrité et la pérennité de l'ouvrage. Le cas le plus courant est la salissure des constructions due au développement d'un biofilm. La présence d'un biofilm n'induit pas forcément une bioaltération.

2. La biodégradation ou biodétérioration, est le terme utilisé dans le cas où la présence des micro-organismes conduit à un endommagement présentant un risque pour la structure de l'ouvrage. La détérioration se traduit par la modification des propriétés mécaniques, de la composition ou des propriétés générales du matériau en raison de la présence des microorganismes regroupés dans le biofilm. Dans certains cas, ce phénomène peut-être voulu.

Les interactions microorganismes – matériaux (cimentaires) sont généralement connotées négativement vis-à-vis de la durabilité de l'ouvrage considéré. Cependant il est reconnu que certains microorganismes ont la capacité de reboucher des microfissures dans un ouvrage en béton en favorisant la précipitation de carbonate de calcium (Wiktor, 2013). Cette précipitation résulte de la création, par les microorganismes, d'un environnement alcalin favorisant la réaction de précipitation. On va trouver ici principalement 4 facteurs : la concentration en ions calcium, la concentration en carbone inorganique (dioxyde de carbone, acide carbonique, carbonate ou bicarbonate, etc.), la disponibilité de sites de nucléation et le pH.

Les phénomènes de biodétérioration des matériaux cimentaires sont connus depuis 1945, avec les travaux de Parker (Parker, 1945). Ce dernier a été le premier à isoler une espèce bactérienne productrice d'acide sulfurique à l'origine de la dégradation des bétons, appelées initialement *Thiobacillus concretivorus* et désormais *Acidithiobacillus thiooxidans*. Dans la littérature, ce phénomène est majoritairement étudié dans les réseaux d'assainissement, les eaux qu'ils charrient étant particulièrement riches en sulfates et nutriments et leurs débits plutôt lent offrent les conditions optimales au développement d'une faune microbienne impliquée dans la production d'acide sulfurique (Diercks, 1991 ; Monteny, 2000 ; Yuan, 2015).

Les *Thiobacilli* sont des bactéries sulfo-oxydantes (BSO) dont le métabolisme énergétique oxyde les composés soufrés en sulfates (Friedrich, 1997) ou en acide sulfurique particulièrement agressif pour la matrice cimentaire (de Belie, 2010). Les BSO utilisent principalement des composés soufrés réduits (soufre élémentaire, sulfure d'hydrogène, thiosulfate etc.). Elles puisent principalement le carbone nécessaire à leurs métabolismes dans le dioxyde de carbone ambiant (Vishniac, 1957).

En revanche, l'influence sur les matériaux cimentaires des microorganismes présents dans les eaux douces de surface, comme les rivières, les lacs ou les nappes phréatiques, reste peu étudiée, bien qu'il y ait un nombre important d'ouvrages en contact avec ce type de milieu (Roux, 2008).

On rencontre principalement deux types d'attaques d'origines biologiques : les attaques physiques et les attaques chimiques.

4.3. Biodétériorations physiques

Quel que soit le milieu, les microorganismes présents vont, à plus ou moins long terme, coloniser la surface des matériaux et former des biofilms pouvant dégrader physiquement le béton (Figure I-17) (Guillitte, 1995a).

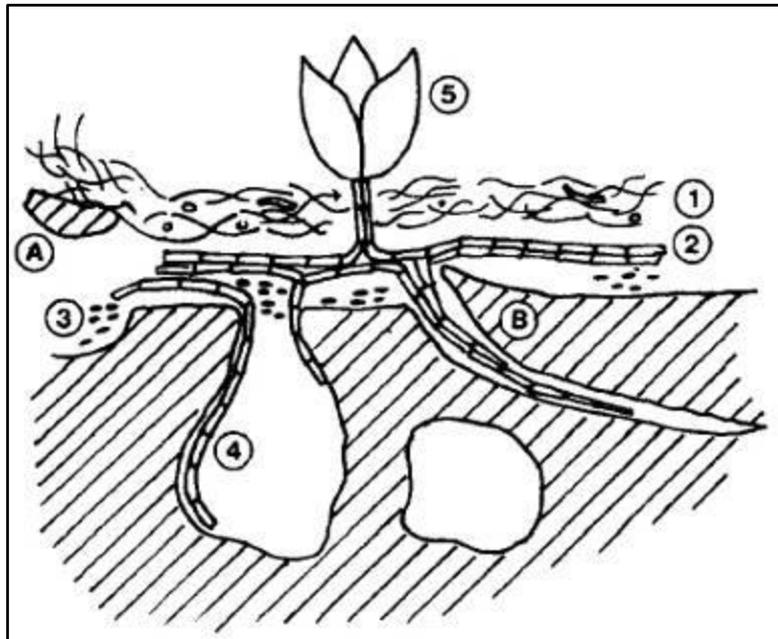


Figure I-17 : Colonisation d'un matériau de construction poreux après six mois d'exposition dans une chambre conditionnée (Guillitte, 1995a) 1 : cyanobactéries filamenteuses et algues vertes résiduelles. 2 : mousse "protonema". 3 : diatomées. 4 : rhizoïde* de mousse

On retrouve principalement deux causes de dégradation physique des matériaux cimentaires. La première est due à la pénétration dans le réseau poreux des hyphes des champignons et des lichens. Les hyphes sont les filaments qui constituent leur mycélium et qui pénètrent le réseau poreux depuis la surface. La seconde est due au gonflement de substances extracellulaires polymériques sécrétées par les bactéries. Ces substances sont composées de glucides colloïdaux et de protéines susceptibles de gonfler puis de se rétracter en fonction des conditions environnementales.

Dans les deux cas, les matières organiques vont générer une augmentation de la pression interne dans les porosités, ce qui provoque la rupture du béton sollicité en traction.

4.4. Biodétériorations chimiques

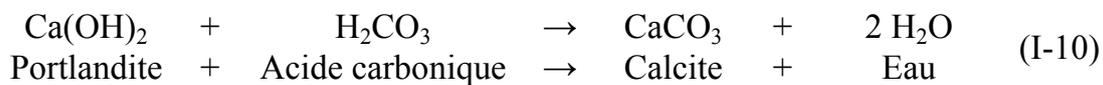
Les microorganismes présents dans un biofilm (voir paragraphe 2.3 Biofilm) vont sécréter un ensemble de composés chimiques potentiellement réactifs avec les

matériaux cimentaires. On retrouve principalement comme agent agressif des acides comme l'acide sulfurique, responsable de la formation de produits de corrosion expansifs, ou d'autres acides générant la formation de sels de calcium solubles.

De par sa composition minéralogique, le béton est un matériau basique. Il est donc très sensible aux attaques acides. Celles-ci agissent sur les phases les moins stables de la matrice cimentaire, à base principalement de calcium ou sur certains granulats (granulats calcaires). Ces réactions chimiques forment des sels de calcium solubles ou des phases cristallisées expansives dans les porosités responsables de l'éclatement du béton. Les principaux acides potentiellement nocifs métabolisés par les bactéries au sein d'un biofilm sont :

- l'acide sulfurique H_2SO_4
- l'acide acétique CH_3COOH
- l'acide carbonique H_2CO_3
- l'acide nitrique HNO_3

L'acide carbonique, par réaction primaire avec la Portlandite, va former des carbonates de calcium (calcite) (équation (I-11)). Ce phénomène est le même que celui de la carbonatation où l'acide carbonique joue le rôle du CO_2 . Il peut également réagir avec la calcite pour former du bicarbonate de calcium (équation (I-12)).



En présence d'ammoniaque, les bactéries nitrifiantes ou les BSR ont la possibilité de métaboliser de l'acide nitrique. Cet acide réagit avec la Portlandite de la matrice cimentaire pour former des nitrates de calcium facilement solubles dans l'eau, suivant la réaction (I-13) (Hermann, 1995).

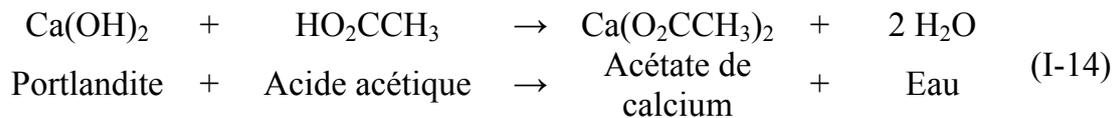


Dans des conditions qui leurs sont favorables, certaines bactéries, comme les bactéries sulfo-oxydantes (BSO), vont sécréter de l'acide sulfurique. Cet acide va réagir avec la Portlandite de la pâte de ciment pour former du gypse suivant l'équation (I-14). La formation de gypse à partir de Portlandite génère une augmentation de volume de facteur 2,2 (Monteny, 2001), qui engendre une augmentation de la pression à l'intérieur des pores conduisant à l'éclatement du béton.

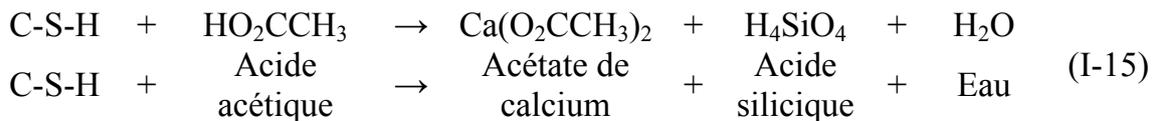


Les acides organiques, certes moins nuisibles pour le béton que les acides inorganiques, ont la capacité d'altérer les hydrates de la matrice cimentaire et de générer des produits de corrosion très facilement solubles dans l'eau. A l'inverse, certains acides organiques, comme l'acide oxalique ou l'acide tartrique, forment des sels difficilement solubles servant de couche protectrice pour le béton.

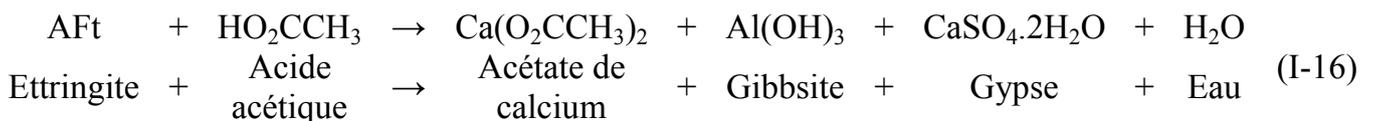
Par exemple, l'acide acétique va réagir avec la Portlandite pour former de l'acétate de calcium (équation I-15) (De Winltd, 2010 ; Hermann, 1995)



Il peut également décalcifier les gels de silicate de calcium hydratés ou C-S-H pour former des acétates de calcium et de l'acide silicique facilement soluble dans l'eau (équation I-16)



Ou encore déstabiliser l'ettringite par neutralisation des ions hydroxyles par les protons des acides organiques pour précipiter du gypse et de la gibbsite dans le réseau poreux du béton (équation I-17)



Il faut noter qu'il existe une grande différence entre les attaques d'origine chimique et celles d'origine biologique. Des études réalisées sur la détérioration accélérées des bétons ont mis en évidence qu'une attaque d'origine biologique est plus agressive qu'une attaque purement chimique (De Belie, 2004). Dans le cas d'une attaque chimique, l'intégralité de la surface du béton est en contact avec le milieu agressif (on parle d'attaque générale), et les produits de réaction entraînent généralement une couche à la surface des bétons faisant office de protection pour les parties saines. Cette couche va permettre de limiter la détérioration. Dans le cas d'une attaque biologique, les substances agressives générées se concentrent dans les colonies de microorganismes. Les biofilms se développent sur des zones préférentielles particulièrement propices au développement des microorganismes. Les dégradations

engendrées par ces métabolites sont plus localisées et les produits de corrosion vont, quant à eux, favoriser le développement du biofilm. Ce phénomène est propice à la pénétration des microorganismes générateurs de substances agressives au sein des matériaux cimentaires.

L'étude de De Belie (De Belie, 2004) a montré que la nature minéralogique des granulats employés peut augmenter la résistance des bétons aux attaques biologiques. Les granulats de natures calcaires sont sensibles aux acides biologiques ce qui n'est pas le cas des granulats siliceux, ils vont consommer une partie des acides métabolisés par les microorganismes. Un béton formulé avec des granulats calcaires va être globalement attaqué par les acides organiques (granulat et matrice cimentaire), alors que l'attaque sera uniquement localisée sur la pâte de ciment dans le cas d'un béton formulé avec des granulats siliceux. Dans ce second cas seul la matrice cimentaire subit des dégradations pouvant mettre à nu les granulats voir un décèlement de ces derniers engendrant une perte de volume beaucoup importante.

5. Conclusion

La biodétérioration des matériaux cimentaires est un phénomène de vieillissement des matériaux complexe à appréhender. Il est dépendant de paramètres liés à chacun de ses trois acteurs : un matériau évoluant dans un milieu qui regroupe une variété plus ou moins grande de microorganismes. L'étude bibliographique a permis d'identifier les paramètres d'influence majeurs des matériaux cimentaires à maîtriser vis-à-vis de leur propre bioréceptivité : rugosité de surface, minéralogie, propriétés de transfert... Ces paramètres sont liés à la nature chimique du ciment, aux procédés et condition de mise en œuvre et au durcissement du matériau.

Les microorganismes le plus souvent incriminés dans la biodétérioration des bétons sont les bactéries. Les acides organiques issus de leurs métabolismes énergétique ou carboné sont à l'origine de modifications de la matrice cimentaire. Peu d'études se sont concentrées, jusqu'à présent, sur l'analyse de l'influence des éléments biologiques sur les matériaux cimentaires dans des milieux ouverts, généralement complexes, comme les eaux douces naturelles de surface.

Outre les bactéries, les diatomées sont des micro-organismes très présents dans les milieux aqueux. Elles représentent notamment la majeure partie du phytoplancton. L'étude de leurs seules interactions avec les matériaux cimentaires est peu avancée, bien que leurs frustules siliceux, de nature amorphe, les rend potentiellement réactifs après le mort de la cellule.

Chapitre II :

Matériaux et milieu naturel d'étude

1. Matériaux

1.1. Les nuances cimentaires retenues

Les différentes nuances cimentaires utilisées proviennent de deux fournisseurs distincts, repérés dans la suite de ce document par les lettres α et β . Pour un même fournisseur, le clinker utilisé dans les ciments avec ajouts est le même que celui du CEM I. Tous les ciments employés répondent aux trois normes suivantes (NF EN 197-1, NF P15-317 et NF P15-319). Les nuances sélectionnées sont :

- deux CEM I ou ciment Portland. Dans cette étude, ils sont considérés comme ciment de référence,
- deux CEM II ou ciment Portland composé ayant comme addition un filler calcaire. Ils ont été choisis car ce sont des ciments couramment utilisés dans la construction,
- deux CEM III ou ciment de hauts fourneaux, composés de clinker et de laitier vitrifié de hauts fourneaux. Ils sont préconisés pour la construction des ouvrages en contact prolongé avec l'eau,
- un CEM V ou ciment composé constitué de clinker, de cendres volantes et de laitier de hauts fourneaux. Ils ont été choisis car ils sont préconisés pour les constructions en milieu chimique agressif.

La notation utilisée, la désignation normalisée, la composition et la finesse Blaine de ces différents ciments sont synthétisées dans le Tableau II-I.

Notation	Désignation normalisée	Constituants [%]					SSB [cm ² /g]
		K	LL	S	V	CS	
CEM I α :	CEM I 52,5 R CE CP2 NF	99	-	-	-	1	4370
CEM II α :	CEM II/B-LL 32,5 R CE NF	72	26	-	-	2	4380
CEM III α :	CEM III/A 42,5 N-LH CE PM-ES-CP1 NF	37	-	62	-	1	4620
CEM I β :	CEM I 52,5 N CE CP2 NF	98	1	-	-	1	3950
CEM II β :	CEM II/A-LL 42,5 R CE CP2 NF	88	13	-	-	1	4400
CEM III β :	CEM III/C 32,5 N - SR CE PM NF "HRC"	14	-	84	-	2	4750
CEM V β :	CEM V/A (S/V) 32,5 N-LH CE PM-ES-CP1 NF "PMF2"	53	-	23	23	1	4280

Tableau II-I : Désignation, composition et finesse de mouture (Surface Spécifique Blaine - SSB) des différents ciments (K : clinker, LL : calcaire, S : laitier vitrifié de haut fourneau, V : cendres volantes, CS : constituants secondaires)

Le choix de ces différentes nuances cimentaires est destiné à apprécier les éventuelles influences de la nature du clinker et des ajouts sur les phénomènes de biodétérioration.

1.2. Protocole de fabrication et de préparation des échantillons

Les échantillons sont tous en pâte pure de ciment, phase du béton privilégiée dans cette étude. Une attention particulière a été portée à leur fabrication, car la préparation, le moulage, la cure sont des paramètres qui jouent un rôle important sur les propriétés des pâtes à l'état durci, et donc sur leur bioréceptivité. Les protocoles de fabrication et de conservation des échantillons ont été basés sur ceux des normes NF EN 196-1 et NF EN 196-3. Toutefois, le rapport massique eau ciment (E/C) a été fixé à 0,4, quel que soit la base cimentaire. Il est supérieur au besoin théorique en eau ($E/C=0,32$ pour le clinker), ce qui permet d'obtenir une hydratation optimale des ciments (Gagné, 1993), sans risquer une ségrégation sévère avant la prise. L'eau excédentaire participe au développement de capillaires et du réseau poreux, et à sa connectivité (Ficker, 2011), paramètres favorables à une colonisation rapide et importante des échantillons (Barberousse, 2007 ; Dubosc, 2000 ; Miller, 2009 ; Tran, 2011).

Les moules conçus pour la fabrication des échantillons sont composés de 5 empreintes prismatiques de dimension $330 \times 45 \times 20 \text{ mm}^3$. Ils ont été réalisés en bois baké (Figure II-1). Avant le coulage, deux fils de nylon ont été tendus dans chaque cellule, dans la direction principale, à 10 mm du fond et de la surface. Ces fils font office de réservation pour des fils plus petits permettant la suspension indépendante des échantillons dans les différents milieux. L'ensemble a été huilé avec un agent de décoffrage, avant coulage.

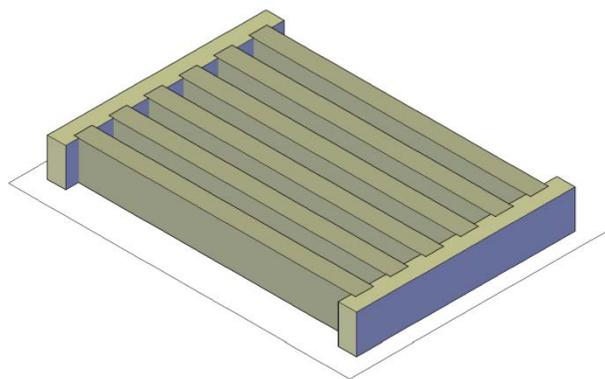


Figure II-1 : Schéma des moules (cellules de $330 \times 45 \times 20 \text{ mm}^3$)

Le protocole de fabrication des éprouvettes a comporté les étapes suivantes :

- Introduction de l'eau et du ciment dans le bol du malaxeur, en prenant soin d'éviter toute perte d'eau ou de ciment,
- Mise en marche du malaxeur à petite vitesse (rotation $140 \pm 5 \text{ tr/min}$, planétaire $62 \pm 5 \text{ tr/min}$), malaxage pendant 90 secondes,

- Arrêt du malaxeur pendant 30 secondes permettant le raclage de la pâte de ciment adhérent aux parois et au fond du bol,
- Remise en marche du malaxeur à petite vitesse, malaxage pendant 90 secondes,
- Remplissage des moules à mi-hauteur,
- Serrage par vibration pendant 60 secondes avec une machine de type tamiseuse à granulat,
- Remplissage en excès des moules,
- Serrage par vibration pendant 60 secondes,
- Arasement de la face supérieure à la règle à araser,
- Conservation des moules dans une enceinte climatique à $20^{\circ}\text{C} \pm 1$ et $\text{HR} > 90\%$ pendant 24 heures.

Après 24 heures de cure, le fil de réservation a été retiré et les éprouvettes ont été démoulées. Elles ont alors été conservées 28 jours sous eau à $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (conditions de cure normalisées).

A 28 jours, les éprouvettes ont été découpées sous eau avec une scie diamantée en tranches de section 45×20 mm et d'épaisseurs adaptées aux différents essais. Ces échantillons ont alors été séchés superficiellement et polis uniformément à sec avec un papier de verre grade 180. Ce polissage avait pour but d'uniformiser l'état de surface de tous les échantillons, afin de permettre une analyse comparative de la bio-colonisation focalisée sur l'influence de la nature cimentaire (Roux, 2008). Enfin, les échantillons ont été immergés 10 minutes dans un bain à ultrasons de fréquence 35kHz destiné à éliminer les particules adhérentes issues du sillage et du polissage.

Les échantillons destinés aux essais de colonisation biologique ont été découpés en tranches de 5 mm d'épaisseur (soit des échantillons de $40 \times 20 \times 5$ mm³), de façon à optimiser la surface exposée par rapport au volume, tout en conservant des propriétés mécaniques suffisantes pour résister aux contraintes imposées dans le milieu naturel.

Les échantillons destinés aux essais de caractérisations de la porosité (porosité accessible à l'eau et imbibition capillaire) ont été découpés en tranches de 20 mm d'épaisseur (soit des échantillons de $40 \times 20 \times 20$ mm³).

Bien que le rapport E/C de 0,4 utilisé soit élevé, aucun ressuage ni aucune ségrégation apparente n'ont été observés après découpage.

1.3. Séchage des échantillons

Les essais de caractérisation de la porosité nécessitent de mesurer la masse sèche des éprouvettes. Dans le domaine du génie civil, la porosité accessible à l'eau est le

plus souvent mesurée selon la norme NF P18-459, qui préconise un séchage à l'étuve à $105 \pm 5^\circ\text{C}$ pour les échantillons dont le volume est compris en 0,4 et 1,6 litre. Cependant, cette technique n'est pas adaptée à toutes les études ni à tous les matériaux. Collier et *al.* (Collier et *al.*, 2008) présentent l'influence des techniques de séchage suivantes sur la composition minéralogique et la microstructure des pâtes de ciment durcies :

- L'étuvage à 105°C (comme recommandé par la norme) : cette méthode est rapide et efficace mais affecte fortement les hydrates de la pâte de ciment, principalement les silicates de calcium hydratés et l'ettringite qui perdent une part importante de leur eau liée. Les mêmes observations sont faites, à moindre impact, pour un étuvage à 60°C ,
- Le séchage sous vide : cette méthode est lente et peut engendrer, dans le cas d'un vide trop poussé, une augmentation du volume poreux lié à la microfissuration de la pâte de ciment et à la dégradation des phases telles que l'ettringite et les monosulfoaluminate de calcium hydraté,
- La lyophilisation : cette méthode, qui consiste à tremper l'échantillon dans l'azote liquide puis de sublimer l'eau sous vide et à basse température (-50°C), est relativement rapide. Mais elle ne permet pas toujours une dessiccation totale du matériau et elle peut engendrer une augmentation du volume poreux induit par l'augmentation de pression qui accompagne le changement d'état de l'eau,
- Le séchage par diffusion dans un solvant organique : cette méthode est relativement rapide et présente l'avantage de ne pas beaucoup modifier la microstructure et les hydrates. Elle consiste à déshydrater l'échantillon en le plongeant dans un solvant organique. Le solvant draine l'eau par diffusion. Il est ensuite évaporé à faible température ou sous vide. Différents solvants, dont l'influence sur les matériaux cimentaires est variable, sont utilisés :
 - Le méthanol : il réagit fortement avec les hydrates, notamment la portlandite
 - L'acétone ou l'isopropanol ; ils déstabilisent peu les hydrates. L'isopropanol présente l'avantage d'être facilement éliminable par le diéthyl-éther, plus volatile.

Le séchage par solvant offre le meilleur compromis entre rapidité et préservation de la structure poreuse et des hydrates. Il a été retenu dans le cadre de ces travaux. La méthode utilisée a été adaptée de celle de Berger (Berger, 2009). Elle comporte les 4 étapes suivantes :

- Séchage grossier des échantillons avec du papier absorbant afin de retirer l'eau superficielle,
- Immersion des échantillons durant 3 jours dans l'isopropanol et 3 jours dans le diéthyl-éther. Pour accélérer le processus, le tout est maintenu sous vide partiel, en rompant chaque jour le vide afin de faire pénétrer le solvant par sussions,
- Séchage grossier des échantillons avec du papier absorbant et mise sous vide 24 heures pour favoriser l'évaporation du diéthyl-éther,
- Conservation 6 jours en étuve ventilée à 40 ± 1 °C afin d'évaporer le diéthyl-éther restant.

2. Méthode de caractérisation des échantillons

2.1. Microscopie électronique à balayage

L'analyse par microscopie électronique à balayage (MEB) permet l'observation des matériaux à échelle micrométrique. Lorsque le microscope est couplé à un spectroscope à dispersion d'énergie (EDS), une analyse élémentaire semi-qualitative ponctuelle des échantillons peut être réalisée. Le microscope utilisé est un modèle MEB FEI Quanta 600 FEG ESEM – Environmental Scanning Electron Microscope. Il permet l'observation et l'analyse d'échantillons sous pression partielle de gaz (vapeur d'eau ici). Ce dernier est équipé d'un spectroscope à dispersion d'énergie EDS Bruker. Les observations et les analyses ont été réalisées sous une pression partielle de vapeur d'eau de 100 Pa et une tension d'accélération du faisceau d'électrons primaires de 15 kV. Le détecteur utilisé est un détecteur GSED (Gaseous Secondary Electron Detector) permettant l'observation de micro-organismes (bactéries, diatomées, etc.), sans préparation ni métallisation préalable.

2.2. Diffraction des rayons X

L'analyse par diffraction des rayons X (DRX) permet de déterminer la constitution minéralogique d'un échantillon massif ou pulvérulent. La comparaison des spectres de diffractions obtenus avec ceux de standards purs permet d'accéder à différents paramètres cristallographiques, comme par exemple l'orientation préférentielle des cristaux.

L'analyse DRX des échantillons a été effectuée sur des échantillons « massifs », sans préparation spécifique, afin de conserver les couches superficielles qui ont pu se développer durant l'immersion dans les différents milieux d'étude. L'appareil utilisé est un diffractomètre Bruker D8 Advance CuK α équipé d'un monochromateur germanium (Ge(111)), permettant de discriminer la longueur d'onde K α 1 du Cuivre. Les paramètres de mesure utilisés sont :

- La plage angulaire, allant de 5 à 90°,
- Le pas angulaire de mesure, de 0,021°,
- Le temps de comptage par pas, de 158s.

2.3. Porosité accessible à l'eau

La mesure de porosité accessible à l'eau a été adaptée de la norme NF P18-459. La manipulation se décompose en 4 étapes principales :

- Saturation en eau des échantillons : les échantillons sont placés dans le dessiccateur à échantillons et un second dessiccateur est rempli d'eau. Maintenir un vide modéré pendant au moins 4 h ($\pm \frac{1}{2}$ h) de façon à dégazer les échantillons et l'eau d'imbibition. Introduire en 15 min l'eau d'imbibition de façon à recouvrir progressivement les échantillons d'environ 20 mm. Maintenir sous vide pendant 44 ± 1 h. La Figure II-2 présente le dispositif expérimental.

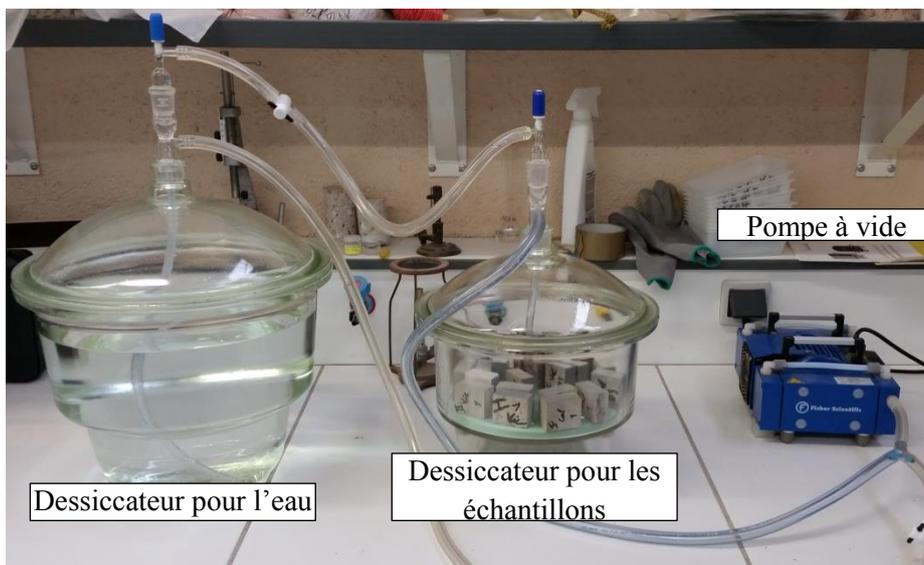


Figure II-2 : Dispositif expérimental de saturation en eau des échantillons

- Mesure de la masse dans l'eau (pesée hydrostatique) des échantillons saturés. Chaque échantillon est suspendu dans un récipient d'eau à niveau constant et relié à une balance. La masse obtenue est notée M_{eau} .
- Détermination de la masse dans l'air des échantillons saturés surface sèche : éliminer délicatement l'eau superficielle avec un linge humide et peser chaque échantillon dans l'air. La masse obtenue est notée M_{air} .
- Détermination de la masse des échantillons secs : après leur séchage selon la méthode chimique présentée au paragraphe 1.3, les échantillons sont pesés dans l'air. La masse obtenue est noté M_{sec} .

La porosité accessible à l'eau, notée e , exprimée en pourcentage volumétrique, est donnée par l'équation suivante :

$$e = \frac{M_{air} - M_{sec}}{M_{air} - M_{eau}} \times 100 \quad (II-17)$$

Cette méthode des 3 pesées (ou de la triple pesée) permet également de déterminer la masse volumique apparente des échantillons, notée ρ_d , selon l'équation suivante :

$$\rho_d = \frac{M_{sec}}{M_{air} - M_{eau}} \times \rho_{eau} \quad (II-18)$$

2.4. Imbibitions capillaires

Les essais d'imbibition capillaire permettent d'obtenir des informations sur la structure poreuse des matériaux cimentaires telles que la connectivité et la tortuosité du réseau capillaire. La procédure d'essai décrite par la norme EN 480-5 est faite pour des éprouvettes de mortier et de pâte de ciment. Bur *et al.* (Bur *et al.*, 2010) ont adaptés la méthode pour des échantillons de taille plus réduite, en limitant la surface d'imbibition à la seule surface de base, alors que la norme préconise une immersion de 3 ± 1 mm de la base de l'échantillon.

Le principe de l'essai repose sur les phénomènes de capillarité qui siègent dans un réseau poreux, liés à la tension superficielle d'un fluide au contact d'un gaz et d'un solide. L'essai consiste au suivi de la prise de masse d'un échantillon, initialement sec, placé sur un textile drainant, comme l'indique le montage présenté Figure II-3. Le textile a ses extrémités plongées dans l'eau pour assurer un apport constant sur la surface d'intérêt.

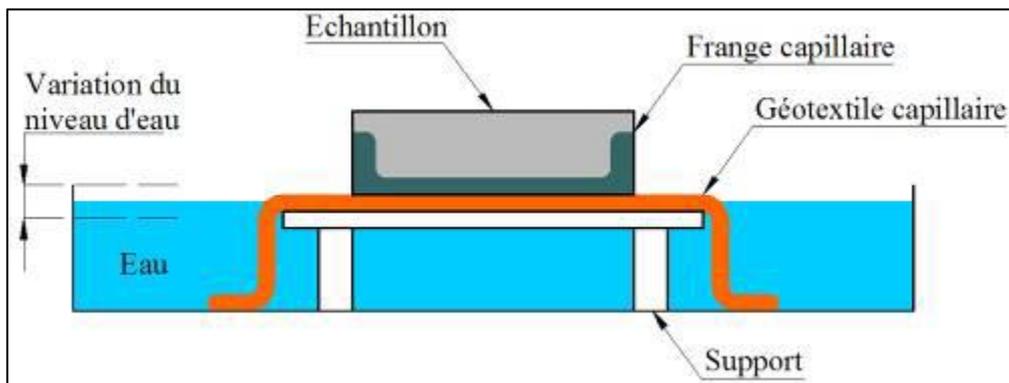


Figure II-3 : Schéma de principe de l'essai d'imbibition capillaire (Bur, 2010)

A l'instant $t=0$, les échantillons secs de masse m_0 sont déposés sur le textile drainant préalablement saturé d'eau. La masse m_1 des échantillons est alors relevée en fonction du temps. La prise de masse étant relativement importante dans les premières minutes et heures d'essai, il est nécessaire, durant la première journée, d'effectuer des relevés à intervalles de temps resserrés (toutes les 10 minutes durant la première heure puis chaque heure durant le reste de la journée). Enfin une mesure de la prise de masse est réalisée chaque jour jusqu'à stabilisation. Avant chaque mesure, il est nécessaire de retirer l'eau excédentaire (adsorbée) présente sur la surface de contact avec le géotextile. L'échantillon est alors minutieusement essuyé sur un papier légèrement humide afin de ne retirer que l'eau de surface, sans drainer l'eau présente dans les capillaires ou dans les porosités ouvertes. Lors de la mesure de la prise de masse, l'échantillon est déposé sur un morceau de textile saturé, lui-même placé dans un récipient sur la balance, afin de ne pas perturber l'imbibition. Afin d'éviter l'évaporation de l'eau contenue dans les pores, le dessiccateur contenant les échantillons est fermé entre deux prises de masse.

La prise de masse est habituellement rapportée à la surface d'imbibition ou à la masse initiale, en fonction de la racine carrée du temps. La Figure II-4 représente la courbe théorique de prise de masse d'un échantillon homogène idéal (Rousset Tournier, 2001). Cette dernière est principalement composée de deux phases : la première partie, linéaire, correspond au remplissage rapide des capillaires ; la seconde correspond au remplissage progressif des microporosités. La courbe présente ensuite un plateau qui correspond à la phase où l'échantillon est saturé.

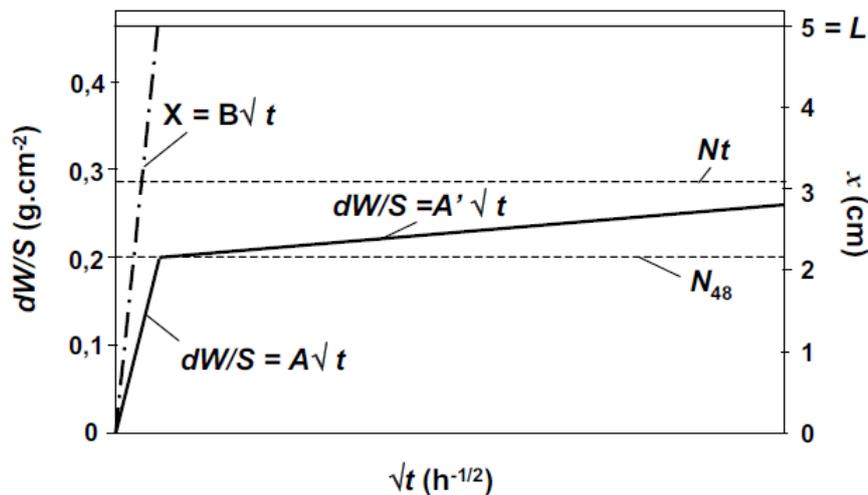


Figure II-4 : Cinétique d'imbibition capillaire d'un échantillon homogène (Rousset Tournier, 2001)

La relation de Washburn exprime la cinétique de remplissage d'un tube capillaire droit, lisse et de rayon constant (Rousset Tournier, 2001). Elle s'écrit :

$$V = \pi r^2 \sqrt{t \times \frac{r \gamma \cos \alpha}{2 \eta}} \quad (\text{II-19})$$

Cette relation montre que, dans les premiers temps de l'essai, là où les capillaires se remplissent, la vitesse de prise de masse est dépendante de la taille du capillaire. Dans le cas des matériaux cimentaires, le réseau poreux est plus complexe qu'un capillaire droit, lisse et de diamètre constant. Toutefois, selon la relation précédente, la vitesse de prise de masse expérimentale permettra d'appréhender la taille des capillaires qui constituent le réseau poreux.

De même, un ralentissement de la prise de masse est le signe d'un réseau composé de pores de tailles très différentes. Le passage du front d'imbibition entre un capillaire à un évasement provoque un ralentissement de la remonté capillaire (Rousset Tournier, 2001).

2.5. Rugosité

La caractérisation de la rugosité de surface des échantillons a été réalisée avec un rugosimètre à palpeur Surtronic série S-100 équipé d'une unité d'avance de 25mm avec une gamme de mesure de 400µm et une résolution de 5nm. Couramment, les paramètres de caractérisation de la rugosité sont des paramètres bidimensionnels définis par les normes ISO 4287, 13565 et 12085. Les paramètres retenus pour caractériser la rugosité de surface des échantillons sont Ra, Rsk et Rka (voir définition ci-après) : Ra est le paramètre le plus souvent utilisé dans la littérature pour caractériser la rugosité de surface, Rsk et Rku donnent des informations sur la forme de la surface, en lien direct avec la capacité de dépôt, voire d'ancrage, de particules et de microorganismes. Ils correspondent à :

- Ra : Ecart moyen arithmétique du profil. Il correspond à une évaluation globale de l'amplitude de la rugosité mais ne donne aucune information sur la répartition spatiale ou sur la forme du profil.
- Rsk : Asymétrie du profil. Il renseigne sur la morphologie de la surface. Si sa valeur est positive, la surface est composée de pics et de protubérances ; si elle est négative, la surface est composée de rayures ou de pores profonds. Ces différences sont illustrées Figure II-5.
- Rku : Aplatissement du profil. Il traduit le resserrement des pics autour de l'altitude moyenne. Si Rku est supérieur à 3, la distribution est élargie selon le plan moyen. Si Rku est égal à 3, la surface est gaussienne

(distribution des altitudes symétrique). Si Rku est inférieur à 3, la distribution est resserrée autour du plan moyen. La signification du Rku est illustrée Figure II-5.

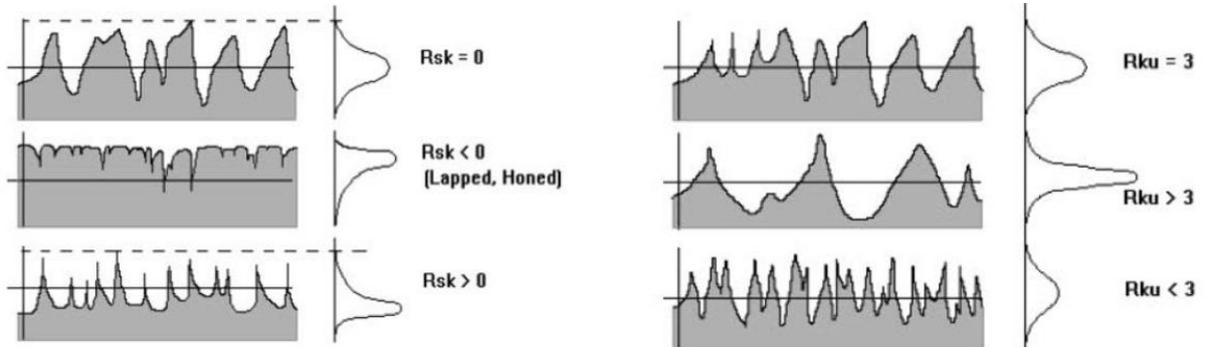


Figure II-5 : Illustration graphique de la signification des paramètres Rsk et Rku (Ben Ahmed, 2016)

3. Caractérisation des matériaux d'études

3.1. Minéralogie

Après 28 jours de cure et avant immersion dans les différents milieux, l'analyse de la minéralogie de surface des échantillons, déterminée par diffraction des rayons X, montre la présence majoritaire, quel que soit l'échantillon (la nuance cimentaire), des phases constitutives classiques des matériaux cimentaires (Figure II-6) : calcite, Portlandite, silicates de calcium et ettringite. Les C-S-H, phases semi-amorphes, sont identifiés sur les diffractogrammes par un bombement caractéristique vers 30° (Sahu, 2004).

La présence de quartz a été détectée sur le diffractogramme de l'échantillon de CEM V. Cette présence est notamment due aux additions de cendres volantes (Mazouak, 2001).

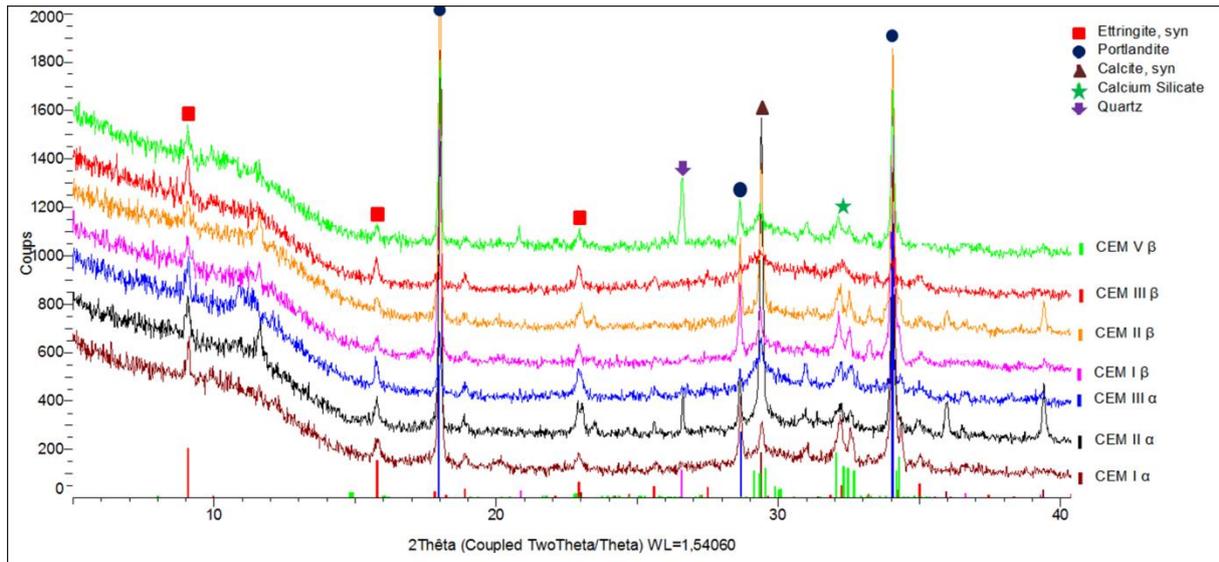


Figure II-6 : Diffractogramme X des échantillons après 28 jours de cure, échantillons sains

3.2. Rugosité de surface

La rugosité de surface est un paramètre important de la bioréceptivité des matériaux, qui dépend de nombreux paramètres. Rappelons que dans le but d'obtenir une rugosité similaire pour tous les échantillons, les surfaces tronçonnées ont été polies à sec au papier de verre, grade 180. Des mesures de rugosité ont été réalisées afin de vérifier l'uniformité de la rugosité de ces surfaces. La Figure II-7 présente les résultats obtenus.

Pour l'ensemble des échantillons :

- l'amplitude est relativement faible, comprise entre 1,10 et 1,57 μm ,
- la valeur négative de R_{sk} montre que la surface est composée de plus de creux que de pics, ce qui est cohérent avec le conditionnement de surface des échantillons,
- la valeur de R_{ku} supérieure à 3 montre qu'il y a une distance importante entre les points hauts du profil.

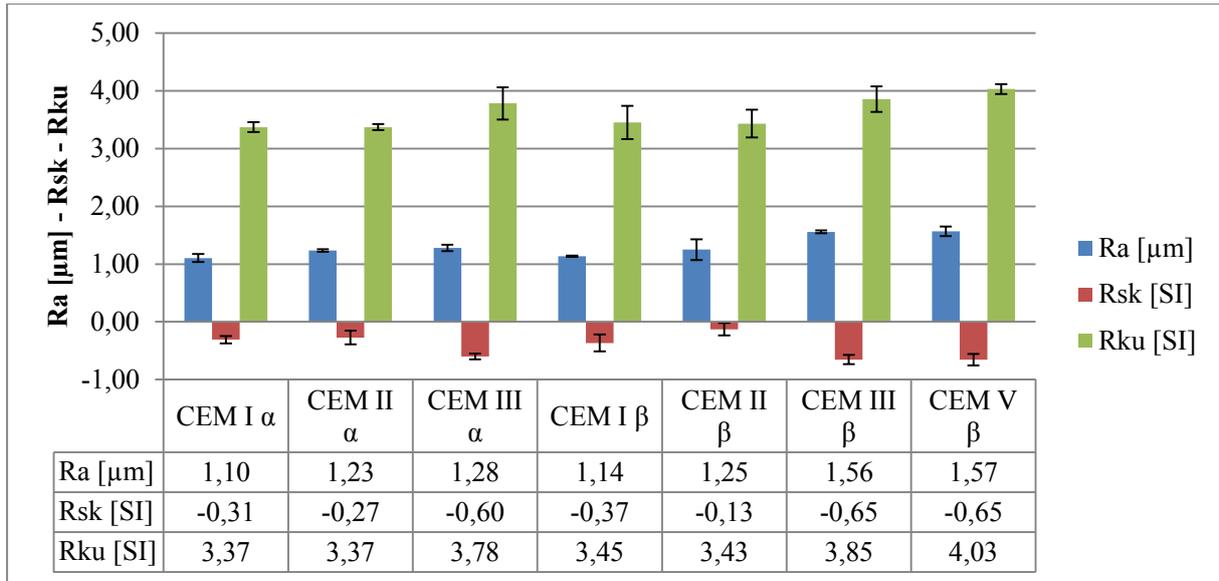


Figure II-7 : Paramètres de rugosité mesurés sur les surfaces polies des échantillons

3.3. Porosité

Le volume et la structure du réseau poreux des pâtes de ciment durcies sont des paramètres délicats à maîtriser car ils découlent de nombreux facteurs liés aux constituants de base (composition chimique et minéralogique, finesse de mouture, adjuvant), à leurs proportions respectives (rapport E/C) (Gagné, 2012), à leur mise en œuvre (malaxage, façonnage, cure, etc.) ainsi qu'à leur taux d'hydratation (Sahu, 2004). Ils influencent l'état de surface du matériau (rugosité, etc.), sa réactivité chimique (surface de réaction) et son évolution (carbonatation, lixiviation), et aussi sa bioréceptivité (Guillitte, 1995).

Les valeurs de masse volumique et de porosité accessible à l'eau sont présentées dans le Tableau II-II. Les porosités sont relativement élevées pour des pâtes de ciment durcies (entre 24,9 et 31,6 %), mais toutefois cohérentes avec le rapport E/C élevé utilisé pour la fabrication des éprouvettes. Le pourcentage de porosité est sensiblement identique pour les échantillons d'une même nuance cimentaire. Il est aussi plutôt corrélé à la finesse de mouture respective des échantillons (Surface Spécifique Blaine SSB, Tableau II-II), excepté pour les deux CEM III qui ont des teneurs en laitier différentes (62% pour le CEM III α et 84% pour le CEM III β).

Nuance cimentaire	Masse volumique [g/cm ³]	Porosité accessible à l'eau [%]	SSB [cm ² /g]
CEM I α	1,720 \pm 0,031	24,9 \pm 0,3	4370
CEM II α	1,756 \pm 0,041	26,8 \pm 0,4	4380
CEM III α	1,613 \pm 0,031	31,6 \pm 0,6	4620
CEM I β	1,777 \pm 0,032	25,2 \pm 0,6	3950
CEM II β	1,761 \pm 0,019	27,6 \pm 0,6	4400
CEM III β	1,642 \pm 0,043	30,1 \pm 0,2	4750
CEM V β	1,677 \pm 0,020	28,8 \pm 0,7	4280

Tableau II-II : Masse volumique et pourcentage de porosité accessible à l'eau des échantillons sains

Les courbes-résultats des essais d'imbibition capillaire sont présentées Figure II-8. Deux tendances se détachent :

- les nuances CEM I et CEM II présentent une courbe relativement rectiligne qui arrive rapidement à la stabilisation (caractérisé par le plateau en fin de courbe),
- les nuances CEM III et CEM V ont des courbes non linéaires et leur prise de masse n'est toujours pas stabilisée après 50 jours d'essai.

La prise de masse plus lente des deux dernières nuances (CEM III et CEM V) traduit une porosité complexe comportant notamment des microbulles d'air (Rousset Tournier, 2001). Cette observation doit être rapprochée des résultats de porosité. En effet, ces deux nuances ont une porosité plus importante (30,1% et 28,8% respectivement) que celle des nuances CEM I et CEM II (25,2 et 27,6 respectivement). Si la porosité est plus importante, à même E/C, alors elle est potentiellement composée de pores plus grands et comporte davantage de microbulles.

L'échantillon de CEM II présente un comportement spécifique par rapport aux autres nuances, avec une prise de masse et une stabilisation plus rapide (début du plateau à 110 min^{1/2}, soit environ 8,4 jours d'essai). Selon la relation de Washdurn, la prise de masse plus rapide implique que le réseau poreux est composé de capillaires plus gros et d'une plus faible proportion de microbulles. Cette relation montre également que les échantillons de CEM III sont composés de capillaires plus fins.

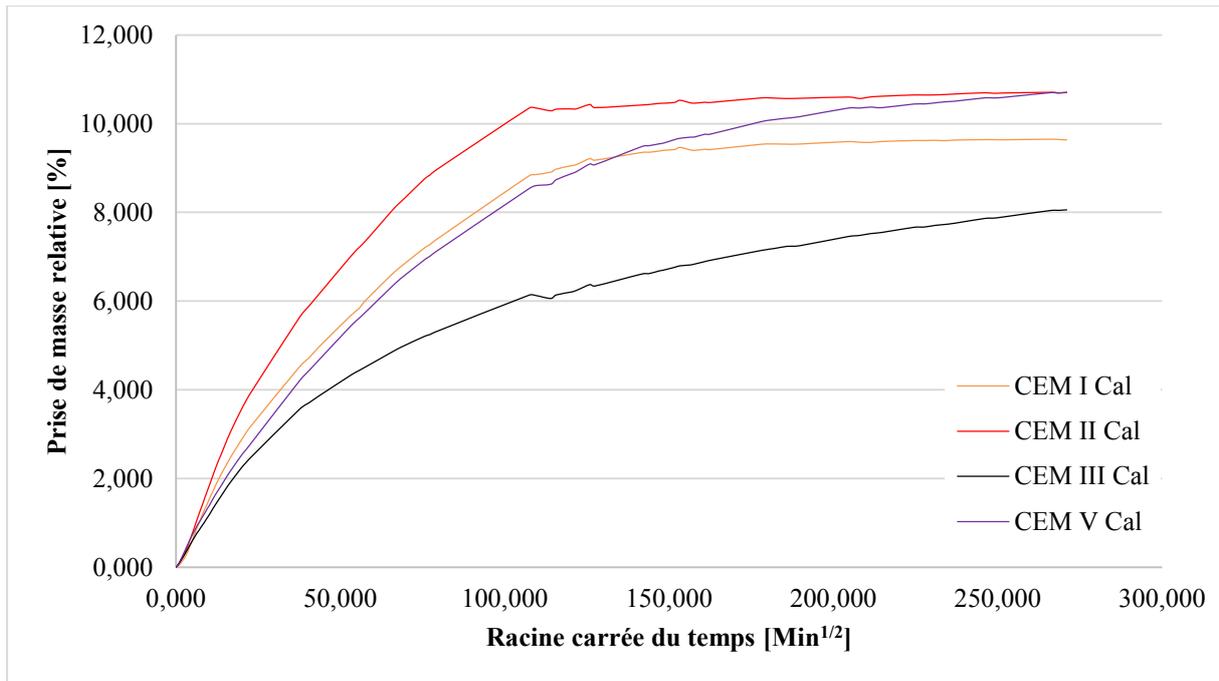


Figure II-8 : Prises de masses relatives en fonction de la racine carrée du temps des échantillons sains

4. Milieu naturel : l'eau de Moselle

La Moselle est un affluent du Rhin. Sa source se situe dans le massif Vosgien. Son parcours fait plus de 560 km, il se déploie principalement en France, mais aussi à la frontière germano-luxembourgeoise et en Allemagne. La Figure II-9 présente une carte du bassin versant de la Moselle. La Moselle est alimentée par de nombreux affluents, dont certains sont des cours d'eaux issus des flancs du massif vosgien. Le régime pluvio-nival de ces affluents génère un apport d'eau important en automne et en hiver, et un pic important au printemps au moment de la fonte des neiges. Ces apports d'eau irréguliers font que son débit varie fortement au cours de l'année.

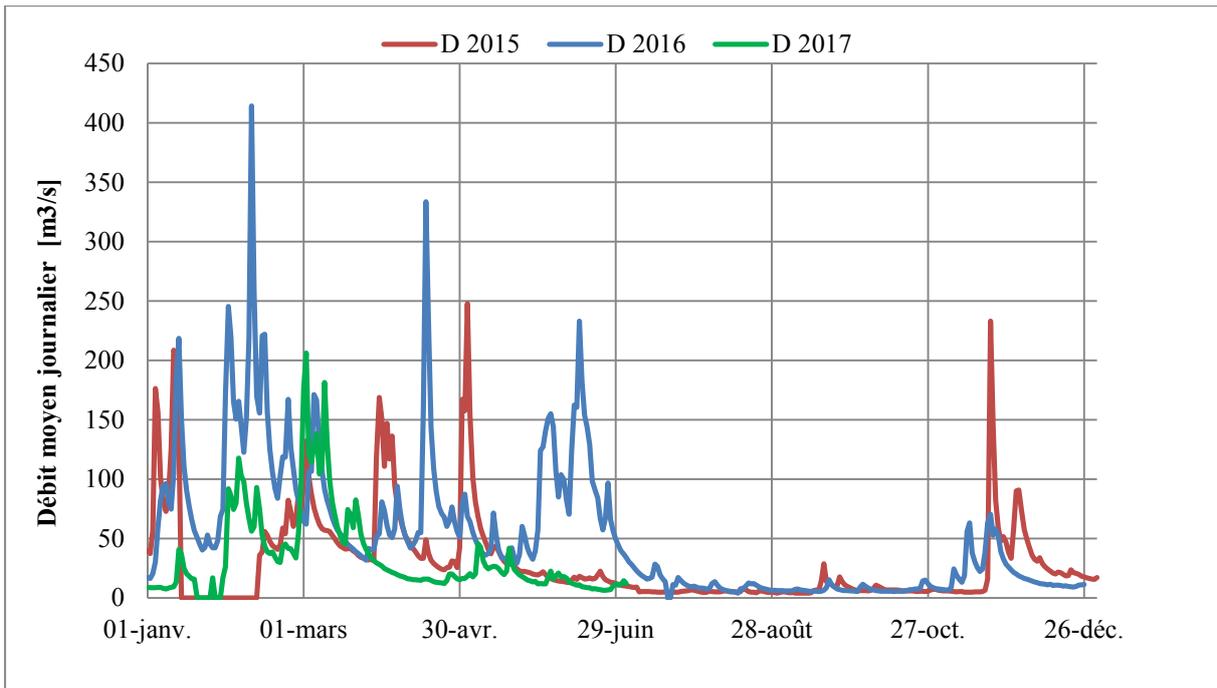


Figure II-10 : Débit (D) de la Moselle à la station de Tonnoy (source DREAL)

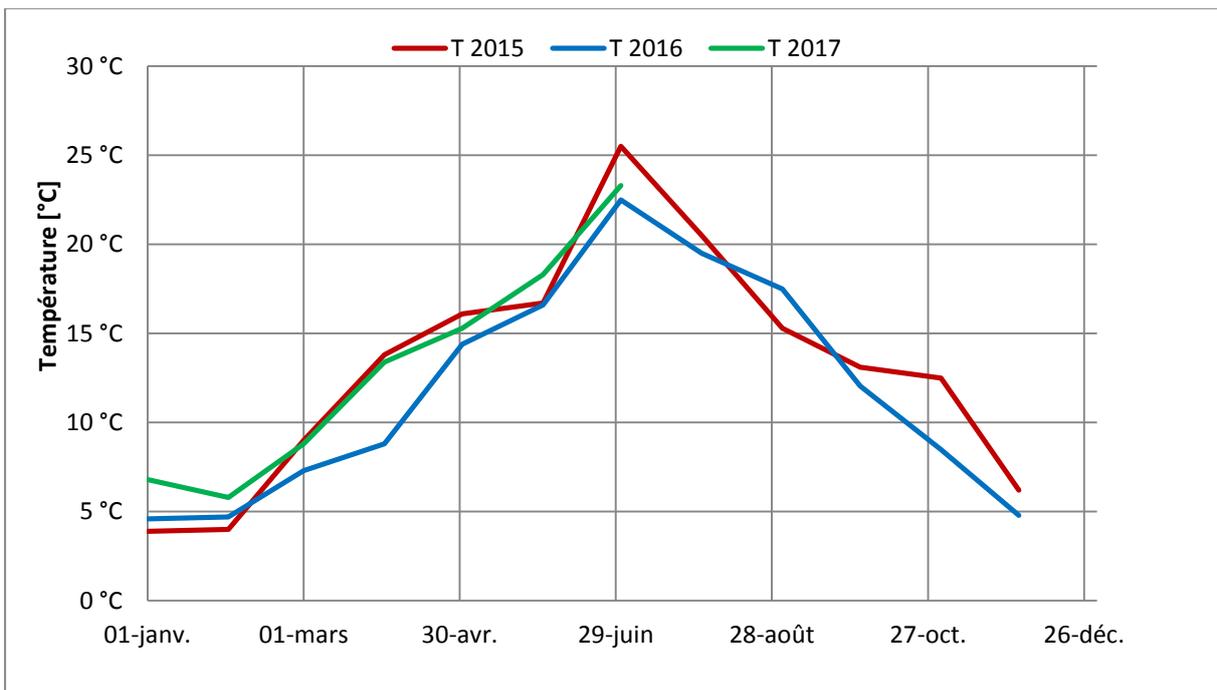


Figure II-11 : Température (T) de la Moselle à Méréville (source MGN)

Les services des eaux de la Métropole du Grand Nancy (MGN), dans le cadre du contrôle qualité de l'approvisionnement en eau potable de la communauté urbaine, réalisent mensuellement des analyses de l'eau de la Moselle sur le site d'étude. Le

Tableau II-III récapitule les caractéristiques chimiques mesurées (les valeurs sont les moyennes calculées sur trois années de 2013 à 2015).

Substance	Moyenne	Mini sur la période	Maxi sur la période
pH	7,91	7,65	8,38
CO ₂ libre calculé [mg/l]	1,63	1,19	2,29
Sulfates [mg/l]	49,37	24,53	75,60
COT [mg/l]	3,26	2,37	4,37
Oxygène dissoute [mg/l]	9,71	8,60	11,45
Nitrates (en NO ₃) [mg/l]	3,94	2,00	8,00
Calcium [mg/l]	26,83	18,00	37,67
Chlorures [mg/l]	16,54	9,65	37,80
Sulfates [mg/l]	49,4	24,5	75,6
Silicate [mg/l]	5,7	3,3	7,3

Tableau II-III : Caractéristiques chimiques de l'eau de la Moselle (source MGN)

4.2. Caractéristiques site d'étude

4.2.1. Description et historique du barrage, site d'étude

La zone choisie pour l'étude en milieu naturel est le barrage de Méréville, situé au sud de Nancy. Cet ouvrage en béton crée une retenue permettant la captation d'eau potable pour l'agglomération nancéienne, à partir d'une prise d'eau située à 350 m en amont du barrage. Il est composé de 3 parties construites à différentes époques. Les Figure II-12 et Figure II-13 présentent le plan masse et une vue satellite du barrage de Méréville. Les 3 principales parties sont les suivantes :

- La première est composée du pont, de la vanne toit (repère 1), de la pile centrale, d'une première échelle à poissons (repère 2) et d'un trop-plein de crue (repère 3). Cette partie est la plus ancienne du barrage, elle a été reconstruite après la seconde guerre mondiale, entre les années 1946 et 1949,
- La seconde partie est composée des vannes de crue (repère 4) et d'une microcentrale électrique (repère 5). Les travaux ont été réalisés, à la demande de la Métropole du Grand Nancy, en 1987,
- La troisième partie est la plus récente, réalisée en 2006. Elle correspond à la mise en conformité de la passe à poissons (repère 6).

Chapitre II : Matériaux et milieu naturel d'étude

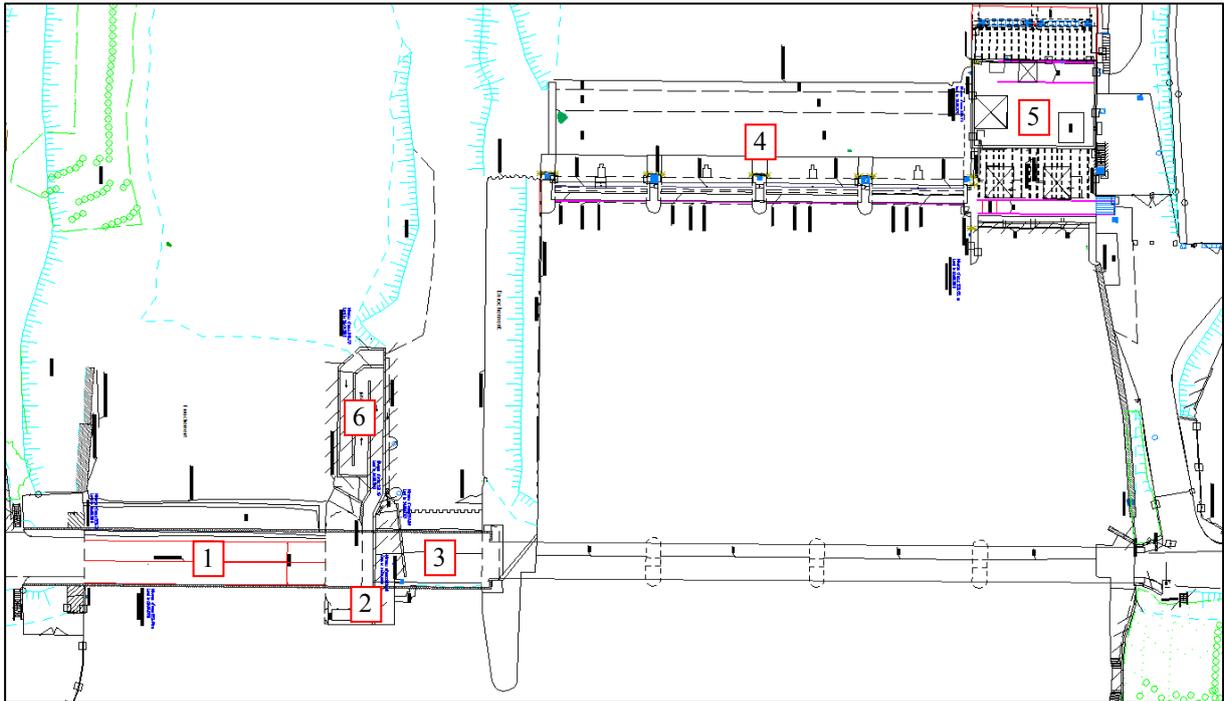


Figure II-12 : Plan de masse du barrage de Méréville (source MGN)



Figure II-13 : Vue satellite du barrage de Méréville (source GoogleMaps)

4.2.2. Zone d'immersion in-situ

La Figure II-14 présente une vue aérienne et une vue depuis la berge du point d'immersion des échantillons, au niveau de la pile centrale du pont, à proximité de la nouvelle échelle à poissons. Les prélèvements d'eau (voir plus loin) ont toujours été effectués sur le lieu d'immersion des échantillons.

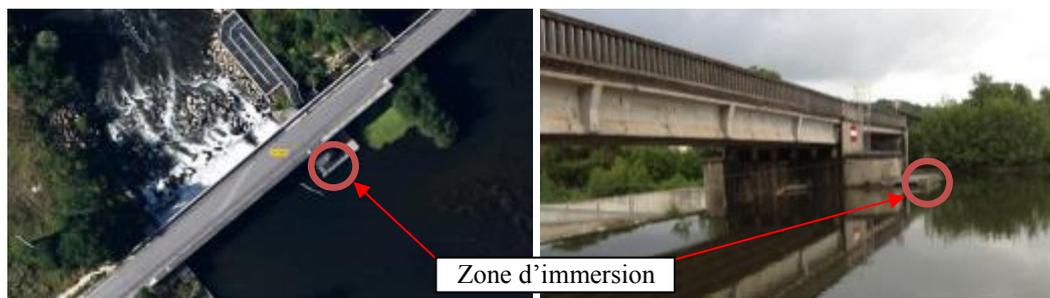


Figure II-14 : Site d'étude ; barrage de Méréville (Meurthe et Moselle, France)

L'immersion des échantillons dans le milieu naturel a été faite à l'aide de paniers de protection en tôles d'acier inoxydable perforées (Figure II-15). Ces paniers ont été suspendus dans l'eau par des chaînes en acier inoxydable fixées sur le parement amont de la passe à poissons, et maintenus en place grâce à une ancre en béton. Des lots d'échantillons ont été individuellement maintenus en position verticale et stabilisés à l'aide de fils en nylon, à l'intérieur de deux séries distinctes de paniers. Un lot correspond à une échéance de mesure et est composé de 2 échantillons de chaque nuance cimentaire, l'un destiné au dénombrement bactérien l'autre aux observations MEB. L'immersion des premiers paniers a eu lieu en mai 2015 ; celle des seconds en juin 2015.



Figure II-15 : Photo d'un panier de protection et des lots d'échantillons immergés en milieu naturel

Tous les mois, un lot d'échantillons a été récupéré pour analyse. Dans le but de ne pas perturber le biofilm qui s'était développé à leur surface, une échéance de 2 mois a été respectée entre deux prélèvements dans un même panier. La Figure II-16 présente un lot d'échantillons placés dans le bocal de transport, juste après récupération dans un panier.



Figure II-16 : Lot d'échantillons après récupération dans la Moselle

Des analyses d'eau ont été réalisées à chaque déplacement sur le site d'étude, à la profondeur d'immersion des paniers (- 2m, Figure II-17). Les mesures ont été réalisées avec un multi-analyseur Hanna® HI 9829 équipé de trois sondes : une sonde pH - redox, une sonde à oxygène et une sonde de conductivité.

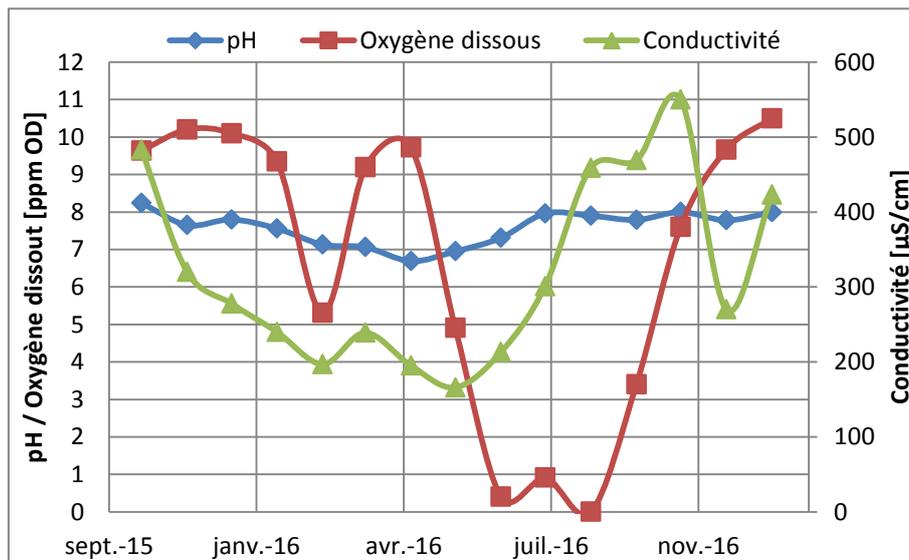


Figure II-17 : Suivi du pH, de la teneur en oxygène dissous et de la conductivité sur le site d'étude à 2 mètres de profondeur

5. Conclusion

Dans un premier temps, la description, la composition et les caractéristiques des 7 ciments utilisés ont été détaillées. Les nuances retenues couvrent les nuances courantes (CEM I, CEM II, CEM III et CEM V) ; elles proviennent de deux cimenteries différentes (repérées α et β). Les ciments d'une même cimenterie sont composés du même clinker. Les échantillons d'études ont été découpés dans des éprouvettes de pâte de ciment fabriquées avec un rapport E/C de 0,4 quelle que soit la nuance considérée, conservées 28 jours sous eau à 20°C. Avant immersion en milieu naturel ou en milieu laboratoire, les échantillons ont été également polis au papier de verre grade 180, afin d'obtenir une rugosité de surface équivalente. Pour la caractérisation de la porosité des échantillons, la masse sèche a été obtenue après séchage par solvant, technique qui offre le meilleur compromis entre rapidité et intégrité du réseau poreux et des hydrates.

Dans un deuxième temps, les différentes méthodes de caractérisation et de suivi des modifications des échantillons ont été présentées. L'observation de la surface des échantillons et des micro-organismes qui s'y développent a été faite par microscopie électronique à balayage en condition environnementale (voir chapitres suivants), accompagnée d'analyses locales ou générales élémentaires par EDS. En complément, le suivi de la minéralogie de surface a été réalisé par DRX. D'un point de vue physique, la technique de l'imbibition capillaire a été retenue pour suivre l'évolution de la porosité et de la structure poreuse.

Le choix du rapport E/C supérieur au besoin strict de l'hydratation des phases cimentaires a permis d'obtenir une porosité importante et différente selon le ciment, comprise en 25 et 32 %, alors que le conditionnement de surface par polissage a permis d'obtenir des paramètres de surface des échantillons quasi identiques, quelle que soit la nuance.

Enfin, un historique et un descriptif du barrage où ont été immergés les échantillons ont été faits. Ce dernier est composé de 6 zones différentes construites en 3 phases. La description du site s'accompagne des analyses de la physico-chimie de l'eau de la Moselle réalisées par la Métropole du grand Nancy ou directement par nos soins au niveau de la zone d'étude.

Chapitre III :

Effet des bactéries sur les matériaux cimentaires

Beaucoup d'études ont été, et sont encore menées, sur la biodétérioration des matériaux cimentaires en milieu aqueux. Toutefois, elles se concentrent principalement sur des milieux ayant une physico-chimie particulièrement propice au développement d'un biofilm agressif pour la matrice cimentaire (réseaux d'assainissement, station de traitement des eaux usées, etc.).

Ce chapitre est consacré à l'étude de la colonisation bactérienne et de ses effets sur des pâtes de ciment formulées avec différentes nuances cimentaires placées dans une eau douce naturelle de surface à savoir la Moselle (la colonisation par les diatomées est abordée dans le chapitre suivant). Différents paramètres physico-chimiques (minéralogie, porosité et structure poreuse) sont étudiés. Les investigations sont menées parallèlement *in-situ* (milieu naturel) et en milieu artificiel contrôlé (laboratoire).

1. Méthodes de culture biologique

La connaissance du métabolisme d'une cellule en facilite sa culture en laboratoire où les conditions environnementales propices à ses besoins sont recrées (nutriments, température, etc.). Dans les milieux naturels, les processus biologiques pouvant induire des détériorations ou dégradations des matériaux cimentaires sont longs et combinés à d'autres phénomènes naturels. Il est alors utile d'avoir recours à des essais accélérés en laboratoire, dans des milieux favorisant le développement des microorganismes, afin d'accélérer les phénomènes et d'en distinguer la ou les influences respectives sur les matériaux. Toutefois, toutes les espèces bactériennes ne sont pas cultivables en laboratoire, et même un « milieu de culture générale » est volontairement ou involontairement sélectif. En effet, la complexité physico-chimique et les évolutions des conditions environnementales des milieux naturels ne sont pas totalement reproductibles de façon artificielle en laboratoire ; il est donc illusoire de vouloir y cultiver l'ensemble de la flore microbienne.

1.1. Protocole pour la culture microbienne en laboratoire

1.1.1. Milieux de culture

Pour permettre la culture et l'identification de certains microorganismes, il est nécessaire de recourir à des milieux sélectifs contrôlés qui favorisent le développement d'un genre ou d'une espèce microbienne au détriment des autres. Il existe principalement deux types de milieux de culture, liquide (bouillon) ou solide (gélosé). Dans cette étude, les milieux de cultures, qu'ils soient liquides ou gélosés, sont réalisés à base d'eau de Moselle stérilisée par filtration, à laquelle sont ajoutés les différents nutriments nécessaires au développement des microorganismes visés. L'utilisation

d'eau issue du milieu naturel (Moselle) stérilisée permet de se rapprocher de la pression osmotique du milieu naturel d'étude. Le mélange est une nouvelle fois stérilisé par autoclavage à 120 °C sous 200 kPa pendant 20 minutes. Cette étape permet la stérilisation du milieu, mais également d'activer les propriétés gélifiantes de l'agar constitutif des milieux gélosés. En effet, l'ajout dans le milieu de 15 g/l d'agar permet l'obtention d'un milieu gélifié.

Deux milieux de culture bactériens ont été utilisés : un milieu de culture « général bactérien » et un milieu pour les Bactéries Sulfato-Réductrices (BSR).

Le milieu général bactérien favorise le développement de l'ensemble de la flore bactérienne cultivable. Il est principalement composé de tryptone (10 g/l) et d'extrait de viande (5 g/l).

Rappelons que les BSR sont particulièrement considérées dans les études de biodégradation, car elles sont impliquées dans le processus général de biodétérioration des réseaux d'assainissement (De Dall'Agnol, 2014 ; Magot, 2008) et peuvent, dans des conditions favorables, être désignées principales responsables d'une pseudo-carbonatation sous eau des bétons (Roux, 2008). Le milieu dédié à leur culture est le milieu de Starkey (Starkey, 1958). La composition de ce milieu, pour 1 litre de préparation, est rappelée dans le Tableau III-I. Après autoclavage et refroidissement 1 millilitre de solution d'oligo-éléments Starkey est ajouté au bouillon, dont la composition est rappelée dans le Tableau III-II. Les oligo-éléments pouvant être dégradés par la température, leurs stérilisations se fait grâce à des filtres seringues (0,45 µm et 0,22 µm). Les BSR sont principalement connues pour leurs actions dans le cycle du soufre, leur métabolisme énergétique utilisant notamment comme accepteur terminal d'électrons des sulfates (SO_4^{2-}). A défaut, elles peuvent utiliser des sulfites, des thiosulfates ou du soufre qu'elles réduisent et restituent au milieu sous forme de sulfures (S^{2-}). En présence d'ions hydrogène (H^+), les sulfures forment alors du sulfure d'hydrogène gazeux H_2S (Magot, 2008).

Produits	Quantités
Chlorure d'ammonium : NH_4Cl	1,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté : $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,0 g
Sulfate de sodium : Na_2SO_4	4,0 g
Solution aqueuse à 60% de lactate de sodium : $\text{C}_3\text{H}_5\text{NaO}_3$	4,5 g
Monohydrogénophosphate de potassium : K_2HPO_4	0,5 g
Acide ascorbique : $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2$	0,1 g
Extrait de levure	1,0 g
Solution d'oligo-éléments Starkey	1 ml

Tableau III-I : Composition du milieu de Starkey pour 1 litre de préparation (Starkey, 1958)

Produits	Quantités
Acide chlorhydrique : HCl 32%	53,3 ml
Magnésie calcinée : MgO	10,75 g
Carbonate de calcium : CaCO ₃	1,0 g
Citrate de fer III	6,0 g
Sulfate de zinc heptahydraté : ZnSO ₄ .7H ₂ O	1,44 g
Sulfate de manganèse monohydraté : MnSO ₄ .H ₂ O	1,12 g
Sulfate de cuivre pentahydraté : CuSO ₄ .5H ₂ O	0,25 g
Sulfate de cobalt heptahydraté : CoSO ₄ .7H ₂ O	0,90 g
Acide borique : H ₂ BO ₃	0,06 g
Molybdate de sodium dihydraté : Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,06 g
Chlorure de nickel hexahydraté : NiCl ₂ .6H ₂ O	0,10 g
Sélénite de sodium : Na ₂ SeO ₃	0,06 g
Eau déminéralisée	500 ml

Tableau III-II : Composition de la solution d'oligo-éléments Starkey (Starkey, 1958)

1.1.2. Méthodes de culture en laboratoire

Pour éviter toute contamination extérieure, l'ensemble des manipulations sont réalisées sous PSM (poste de sécurité microbiologique) permettant de travailler dans une atmosphère stérile. Les cultures en milieu liquide ont été réalisées dans des flacons en verre borosilicate d'une contenance de 1 litre. Les nutriments sont initialement dissous dans 500 ml d'eau de Moselle, puis l'ensemble est stérilisé à l'autoclave (20 minutes, 120 °C et 2 bars). Après refroidissement, un échantillon de chaque nuance cimentaires est suspendu dans le flacon à l'aide de fils de nylon. Pour chaque type d'essais et chaque échéance, deux séries d'échantillons sont préparés. Le bouillon est inoculé avec 500 ml d'eau de Moselle fraîche non stérilisée, dans laquelle se trouvent les souches bactériennes environnementales à étudier. Après préparation, les flacons sont fermés hermétiquement et placés à l'obscurité dans une étuve à 37 °C.

Avec le temps on observe une lyse cellulaire et un appauvrissement en nutriments du milieu peuvent le rendre impropre au développement bactérien. Un renouvellement partiel du milieu a donc été opéré, après 1 mois d'incubation. Les échantillons ont été transvasés dans un nouveau flacon contenant 800 ml de bouillon frais stérile, inoculé avec 200 ml du précédant milieu de culture afin de maintenir l'équilibre entre les espèces se développant dans le biofilm et celles présentes dans le milieu.

1.2. Récupération du biofilm et quantification des bactéries

L'estimation de la densité bactérienne présente dans le biofilm recouvrant l'échantillon se fait par comptage directe des unités formant colonie (UFC) formées sur le milieu nutritif gélosé en boîtes de Pétri.

La première étape de ce procédé consiste à détacher le biofilm du support sur lequel il s'est développé et à le mettre en suspension dans de l'eau de Moselle stérile. Pour cela la totalité de l'échantillon est placée dans un pot stérile, de contenance 40 millilitres, qui est ensuite rempli d'eau de Moselle stérile et fermé hermétiquement. Le tout est placé dans un bain à ultrasons de fréquence de 40 kHz pendant 5 minutes.

La suspension de biofilm est ensuite utilisée pour ensemercer les boîtes de Pétri à l'aide d'un ensemenceur stérile de 10 μ l. Le comptage des colonies formées sur la gélose nutritive est effectué après 3 jours d'incubation à 37 °C. Les BSR étant des bactéries anaérobies (Dupont, 2005 ; Loubinoux, 2001), les boîtes de Pétri dédiées à leur culture sont préalablement placées dans des jarres anaérobies contenant un absorbeur d'oxygène (produit commercial « ANAEROCULT® A MERCK »).

Puis par proportionnalité, la densité par unité de surface est calculée, sachant qu'un ensemenceur fait 10 μ l, les flacons stériles dans lequel le biofilm est solubilisé fait 40ml et que la surface de l'échantillon est de 45 x 20 x 5 mm³ soit 1,25 cm².

Pour la quantification des bactéries présentes à la surface des échantillons, deux hypothèses ont été posées :

- la solution, dans laquelle le biofilm est en suspension, est homogène,
- chaque colonie observée sur la gélose est issue d'une seule cellule mère (UFC).

2. Colonisations bactériennes

2.1. Echantillons placés *in-situ*

2.1.1. Dénombrement de la flore bactérienne total cultivable

L'étude de la colonisation bactérienne des échantillons immergés en milieu *in-situ* a débuté en mai 2015. Le suivi a été réalisé sur une période de 18 mois. A chaque échéance bimensuelle d'observations (sauf pour 4 mois), un lot d'échantillons immergés a été minutieusement extrait du milieu naturel. Les paniers ont été remontés à proximité de la surface, tout en restant immergés afin d'éviter une exposition à l'air. Après prélèvement sous eau, ces derniers ont alors été placés, toujours sous eau, dans un bocal hermétique en verre préalablement stérilisé et rempli d'eau de Moselle fraîchement prélevée.

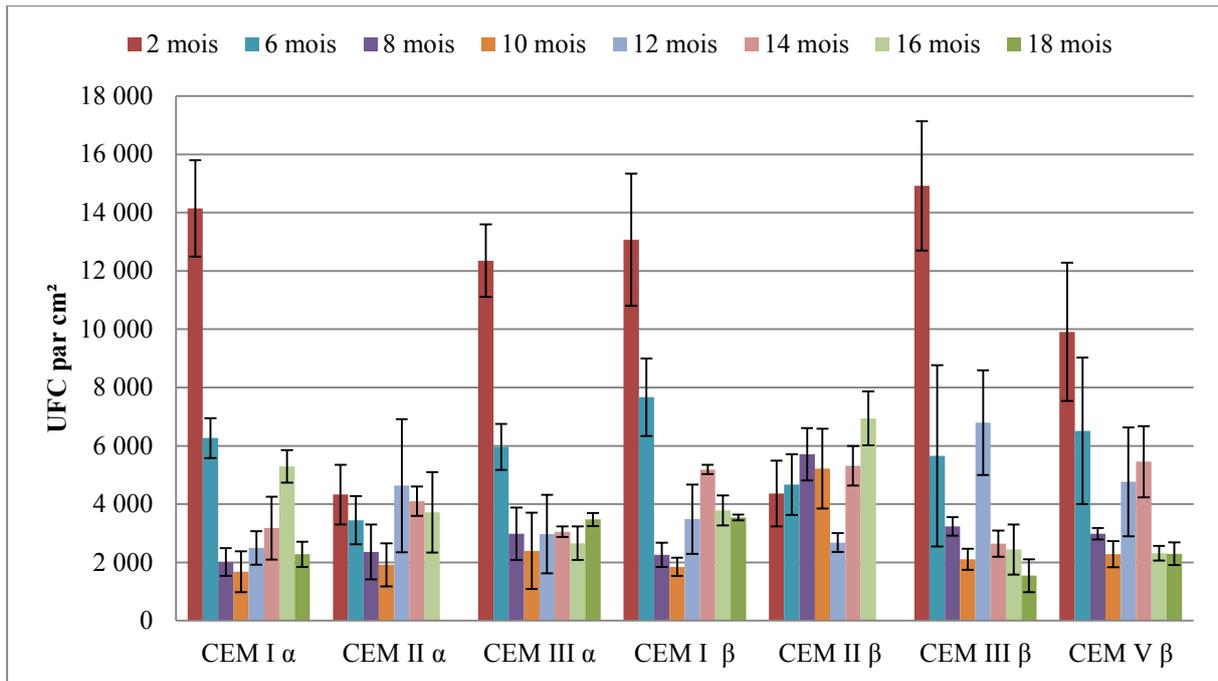


Figure III-1 : Population bactérienne globale cultivable en UFC (unité formant colonie), en fonction de la durée d'exposition *in-situ* et de la nature cimentaire

La Figure III-1 présente l'évolution de la densité de population bactérienne en fonction du temps d'immersion et de la nuance cimentaire. Le dénombrement des bactéries cultivables présentes dans le biofilm permet de constater que la densité de colonisation est décroissante, pour presque toutes les nuances, au cours des 10 premiers mois d'immersion, passant d'une moyenne de 12 000 UFC/cm² à 2 000 UFC/cm². Entre 10 et 16 mois, la densité présente une augmentation sur les échantillons de CEM I et CEM V, passant de 2 000 UFC/cm² à 5 000 UFC/cm² en moyenne (Figure III-1). Après 10 mois, l'évolution de la population bactérienne se stabilise autour des 2 000 UFC/cm² pour les échantillons de CEM III. Les échantillons de CEM II présentent un comportement différent des autres nuances, avec une colonisation primaire beaucoup plus faible et une évolution spécifique dans le temps. Il est intéressant de noter que les échantillons d'une même nuance présentent une évolution de leur densité de population bactérienne similaire dans le temps.

Différentes hypothèses peuvent expliquer ces évolutions de la colonisation bactérienne. Pour l'ensemble des échantillons, hors CEM II :

- les variations du débit hydraulique de la Moselle et les phénomènes de crue associés (Chapitre II, Figure II-10) : ces événements ont pu entraîner un arrachement du biofilm. En effet, l'immersion des échantillons date de mai 2015 et les premières crues marquées de la Moselle (débit passant de quelques m³/s à plus de 250 m³/s) sont survenues mi-novembre 2015, c'est-à-dire avant les mesures à 6 mois qui ont montré une baisse importante des colonisations. Cette

hypothèse tend à être confirmée avec l'augmentation de la densité de colonisation constatée l'année suivante en période d'étiage, c'est-à-dire pour des durées d'immersion comprises entre 12 et 14 mois (mai à juillet). Cette augmentation est alors plus particulièrement marquée pour les échantillons CEM I et CEM V β .

- la variation de température : elle influence le rythme du développement bactérien (Herisson, 2012). Prescott et *al.* (Prescott, 2003) ont observé qu'une diminution de température de 10°C pouvait diviser par 2 l'activité bactérienne. Au regard des résultats obtenus, cette hypothèse semble être de second ordre puisque l'augmentation de densité observée entre 12 mois (mai 2016) et 14 mois (juillet 2016) d'immersion ne permet pas de retrouver les taux de colonisations initiaux, supérieurs à 10 000 UFC/cm², ni un doublement de la population.
- la lixiviation de la pâte de ciment par l'eau de la Moselle peut entraîner une modification des propriétés de surface du matériau (rugosité, minéralogie, etc.) créant ainsi un substrat moins favorable au développement bactérien (Guillitte, 1995).

Pour les échantillons à base de ciments au calcaire (CEM II), on observe un comportement plus spécifique. En effet, pour 2 mois d'exposition, les densités de population bactérienne à leurs surfaces est plus faible que pour les autres nuances cimentaires (4 000 UFC/cm² contre 10 000 à 13 000 UFC/cm²). Au fil du temps, elle présente une diminution moins importante. Les mesures à l'état initial de porosité (Chapitre II, Tableau II-II) et de rugosité (Chapitre, II Figure II-8), et les analyses par DRX (Chapitre II, Figure II-6) n'ont pas permis d'identifier de spécificités particulières pouvant expliquer une bioréceptivité bactérienne plus faible. En revanche, les essais d'imbibition capillaire indiquent une structure poreuse spécifique des pâtes de ce ciment au calcaire. Elle serait la cause principale des différences constatées. L'hydraulicité particulière de ces ciments (prise, réactivité) laisse penser que leur réseau poreux est moins complexe, du moins composé de capillaires plus gros (voir III-5.2). Les fillers calcaires, de par leur petite taille, influenceraient donc la structuration du matériau, et donc aussi la bioréceptivité des échantillons (Guillitte, 1995)...

2.1.2. Dénombrement des bactéries sulfato-réductrices

Outre le dénombrement de la flore bactérienne totale cultivable, cette étude s'intéresse également aux bactéries sulfato-réductrices (BSR). L'intérêt porté à ce genre bactérien est lié aux travaux de S. Roux (Roux, 2008), qui a démontré leur implication potentielle dans des phénomènes de pseudo-carbonatation des matériaux cimentaires immergés en milieu de laboratoire. Cette évolution de la minéralogie, si

elle pénètre le béton, représente alors un risque vis-à-vis de la passivation des armatures et donc de la stabilité plus générale des ouvrages (Roux, 2008).

Le dénombrement des bactéries sulfato-réductrices (BSR) à la surface des échantillons (Figure III-2) révèle une faible présence de ce genre microbien par rapport aux bactéries cultivables en milieu général (100 à 2500 UFC/cm² contre plus de 10 000 UFC/cm² en moyenne). Ce résultat s'explique par la présence significative d'oxygène dissout dans le milieu, y compris à la profondeur d'immersion des échantillons de 2m (9,7 mg/l en moyenne, Chapitre II, Tableau II-III). Cet oxygène inhibe le développement des bactéries anaérobies (Starkey, 1958). Toutefois les BSR étant des bactéries anaérobies, elles tolèrent la présence transitoire d'oxygène, jusqu'à plusieurs jours sans pour autant mourir (Dupont, 2005 ; Loubinoux, 2001) ; une fois dans un milieu de culture optimal (culture en laboratoire), elles reprennent leurs développements. Cela explique les densités sur certains échantillons, les BSR sont physiquement présentes mais dans un état végétatifs.

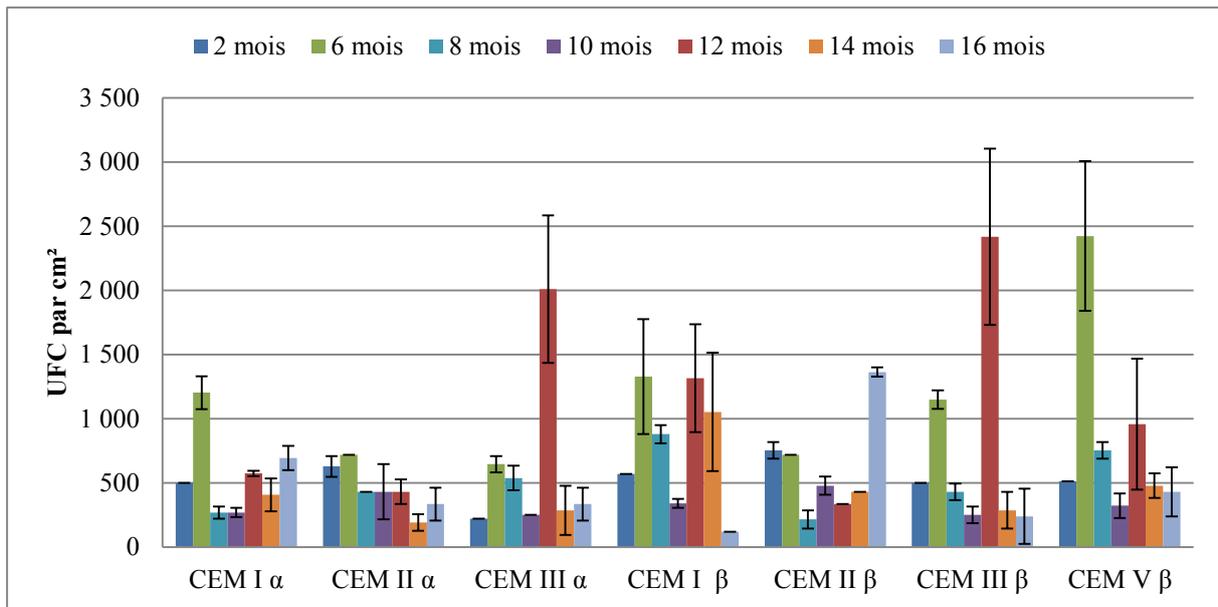


Figure III-2 : Population de BSR en UFC (unité formant colonie), en fonction de la durée d'exposition *in-situ* et de la base cimentaire.

Bien que des populations de BSR soient physiquement présentes sur les échantillons et dans le milieu naturel, la teneur en oxygène dissout dans l'eau de la Moselle étant importante tout au long de l'année inhibe leurs métabolismes. De ce fait, l'étude plus approfondie de l'influence spécifique des BSR sur les matériaux cimentaires devient alors peu pertinente dans le cadre de cette étude.

2.2. Milieu de laboratoire

L'étude en milieu contrôlé permet de s'affranchir des facteurs environnementaux (flux, température, etc.) du milieu naturel et ainsi de se concentrer sur les seules interactions entre bactéries (indifférenciées...) et matériau. Les dénombrements des bactéries cultivables (flore bactérienne totale cultivable) présentes sur les échantillons après 1 et 2 mois d'immersion dans le milieu de culture sont présentés Figure III-3. On observe que les échantillons de pâte de ciment sont rapidement colonisés par les bactéries.

Après un mois d'immersion, des différences notables sont observées : les échantillons des ciments CEM I, CEM III et CEM V d'origine β sont abondamment colonisés par les micro-organismes, avec une densité supérieure à 14 000 UFC/cm². Ceux d'origine α le sont également, mais avec une densité un peu moindre (inférieure à 10 000 UFC/cm²).

Après 2 mois d'exposition, la densité de cellules colonisant les biofilms à fortement diminuée, avec une population comprise entre 2 000 UFC/cm² et 6 000 UFC/cm² environ, toutes nuances cimentaires confondues, mais avec toutefois une densité plus forte pour les ciments d'origine β .

Pour les échantillons de CEM II α et β , la colonisation montre une tendance un peu moindre que pour les autres nuances à un mois. Cette tendance s'estompe après deux mois d'essai.

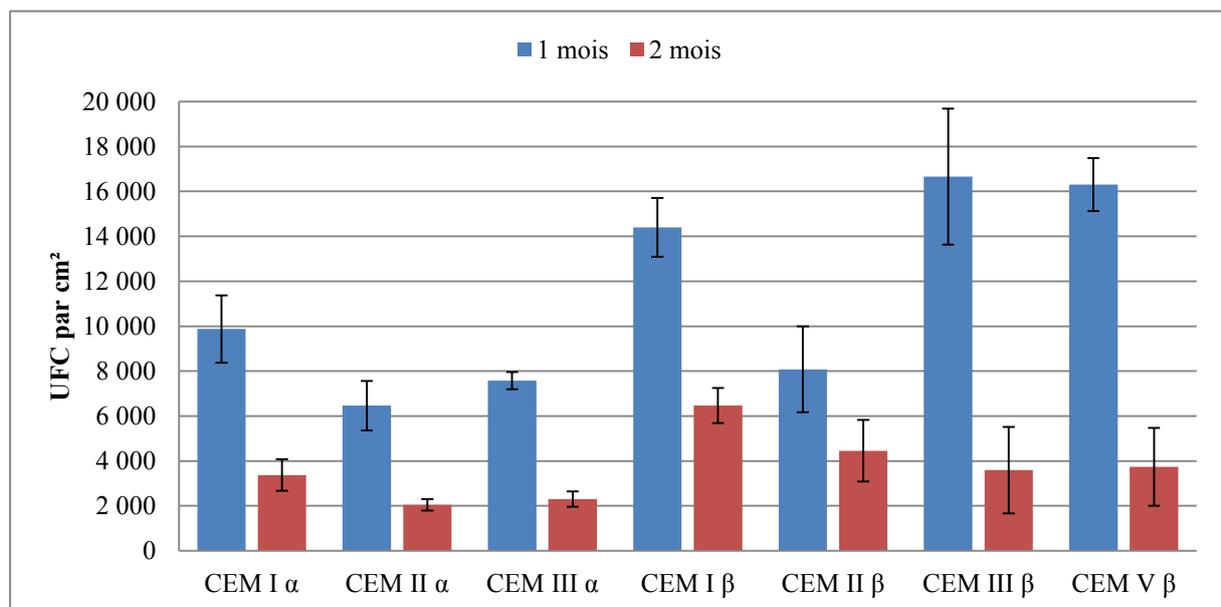


Figure III-3 : Population bactérienne globale cultivable en UFC (unité formant colonie), en fonction de la durée d'exposition et de la nature cimentaire

Les différences de colonisation à un mois peuvent être rapprochées des résultats des mesures de rugosité. En effet, la bioréceptivité des matériaux est conditionnée par différents facteurs topographiques, dont la rugosité de surface (Barberousse, 2007 ; Dubosc, 2000 ; Miller, 2009 ; Tran, 2011). Les graphiques Figure III-4 comparent les paramètres de rugosité (rugosité moyenne Ra, asymétrie Rku et aplatissement Rsk) et la densité de population bactérienne à 1 mois dans le milieu de culture. Pour chacun, une relation apparaît : les échantillons qui présentent les paramètres les plus élevés sont les plus colonisés. C'est le cas par exemple des échantillons de CEM III et CEM V β qui ont les paramètres de rugosité les plus grands et la densité de population la plus élevée ($>16\ 000$ UFC/cm²). A l'inverse les pâtes de ciment qui présentent des paramètres plus faibles sont moins densément colonisés.

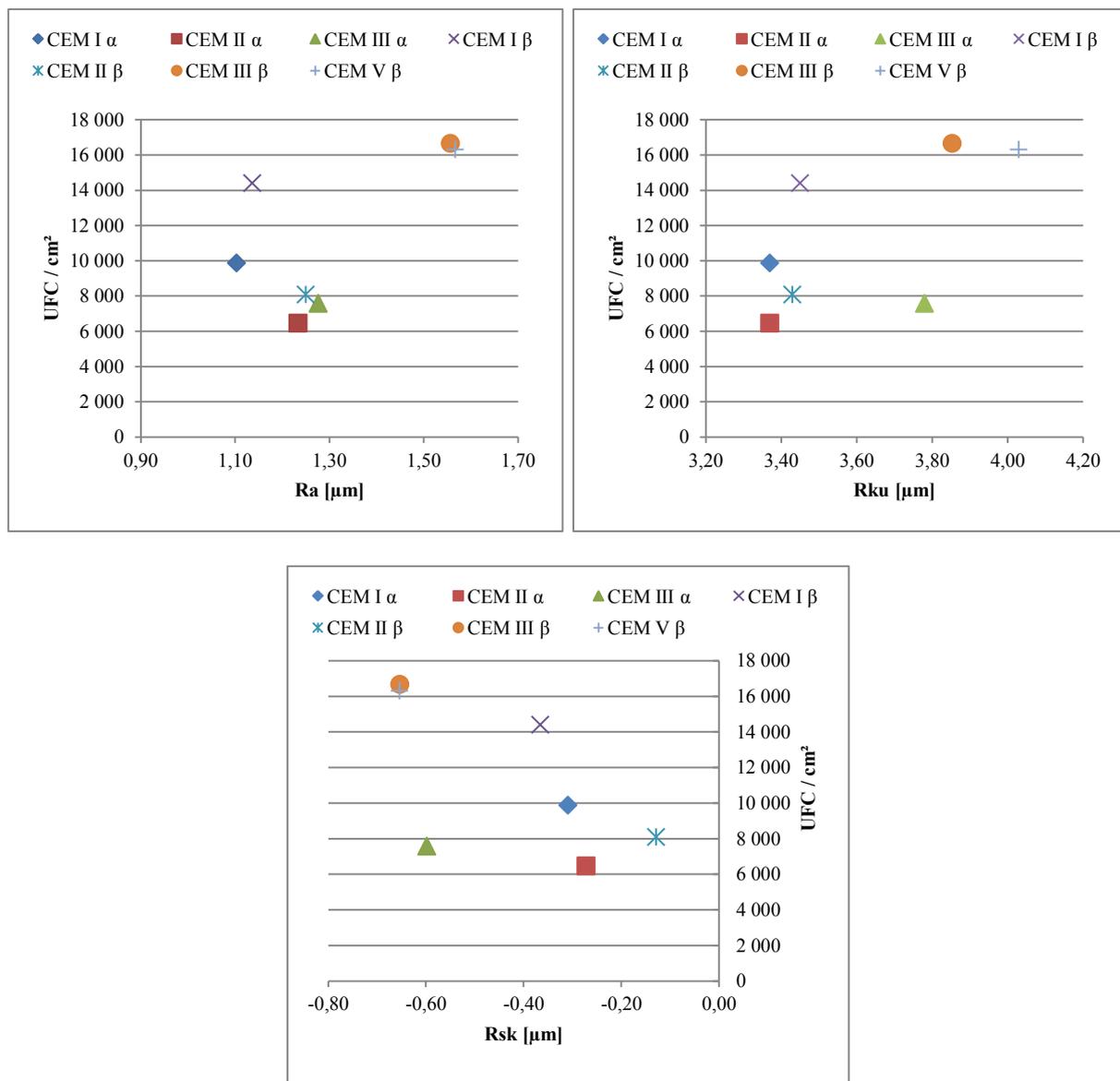


Figure III-4 : Densité de cellules par unité de surface en fonction des paramètres de rugosité.

3. Observations de surface

L'observation des micro-organismes par les techniques conventionnelles de microscopie électronique à balayage (MEB) nécessite de recourir à une importante phase préparatoire (déshydratation, fixation du matériel biologique, réticulation des liaisons chimiques, métallisation). En effet, sans cette préparation, les conditions de vide imposées et le bombardement électronique conduiraient à la destruction des cellules. Il a donc été choisi de travailler sous pression partielle de vapeur d'eau (microscopie électronique à balayage à pression contrôlée - MEB-PC), méthode qui permet l'observation directe des cellules vivantes. A chaque échéance, des clichés de la surface des échantillons ont ainsi été réalisés dès leur sortie du milieu. L'analyse par MEB-PC des échantillons immergés dans la Moselle n'a permis d'observer qu'une très faible présence de bactéries à leur surface (Figure III-5), bien que leur présence ait été confirmée par culture (boîtes de Pétri). Manifestement, la complexité de la topographie de surface, la présence de couches et de dépôts secondaires, minéraux et organiques, créent un effet masque qui empêche leur observation. Toutefois, l'image MEB-PC (Figure III-5) de l'échantillon de CEM III laisse entrevoir en son centre la présence de « particules » pouvant être des bactéries. L'annexe A regroupe une image MEB-PC de la surface de chaque échantillon à chaque échéance.

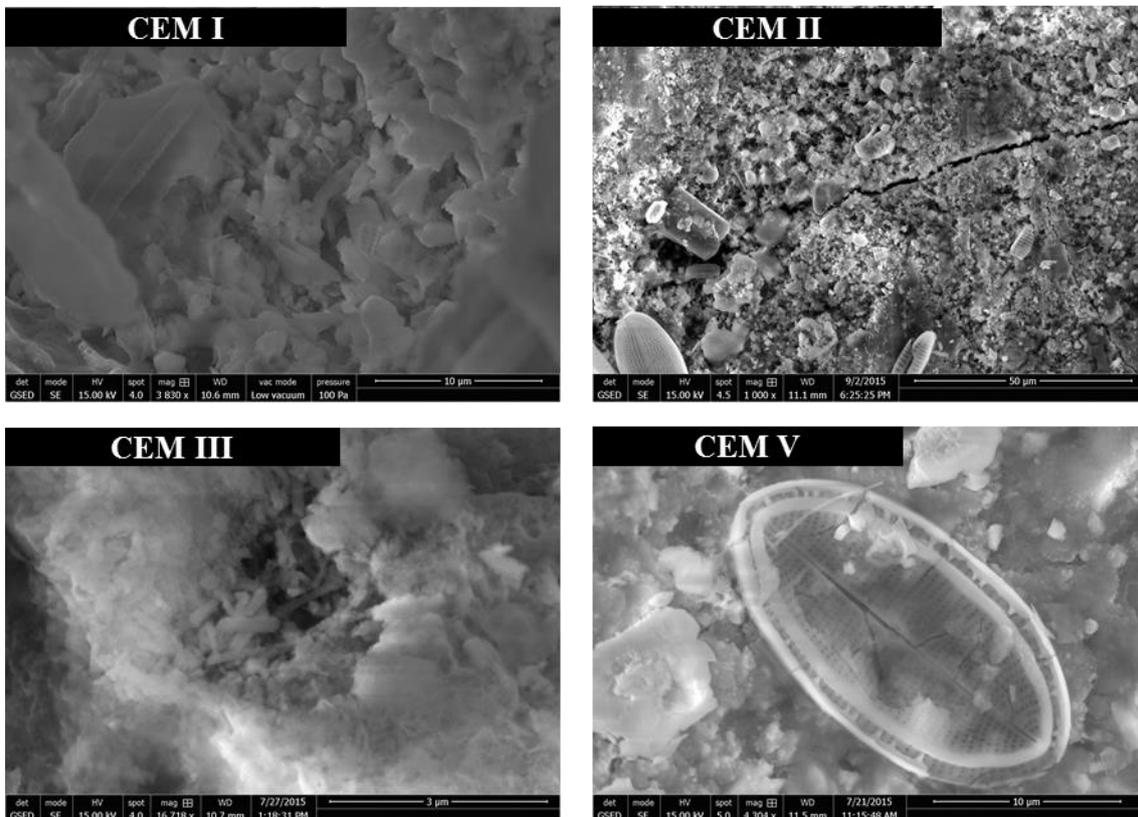


Figure III-5 : Images MEB-PC de la surface des échantillons après 2 mois dans la Moselle.

En revanche, comme attendu suite aux analyses et comptages précédents, l'observation des échantillons immergés dans le milieu de culture bactérien en laboratoire révèle la présence massive de bactéries formant des biofilms. La Figure III-6 présente des images MEB-PC des différentes nuances de ciment. Comme la qualité de surface des différents échantillons est relativement identique, chaque vue retenue présente un grossissement différent. Différents types de bactéries sont identifiables : des coques (sphères) et des bacilles (bâtonnets). De plus, sur les échantillons, il est observé des zones préférentielles de colonisation, comme par exemple celle qui est proche d'une fissure sur l'image du CEM V. L'annexe A regroupe une image MEB-PC de la surface de chaque échantillon à chaque échéance.

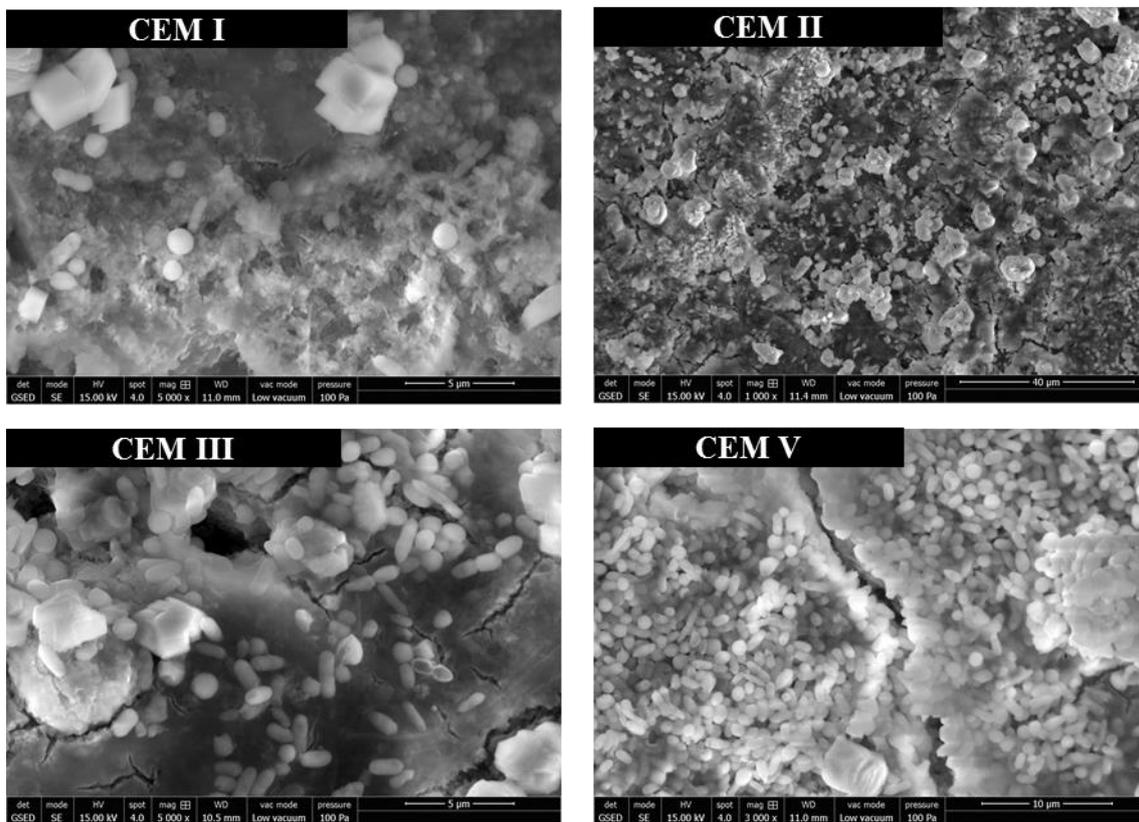


Figure III-6 : Observations par MEB-PC de la surface des échantillons après 1 mois d'exposition dans le milieu de culture bactérien général.

4. Caractérisation de la minéralogie

4.1. Minéralogie de surface des échantillons *in-situ*

L'analyse de la composition minéralogique de surface a été réalisée pour l'ensemble des échantillons et pour chaque échéance. La Figure III-7 présente, à titre d'exemple, les diffractogrammes de la surface des échantillons de CEM I β (tous les

diffractogrammes sont regroupés en Annexe B). Quel que soit l'échantillon considéré, cette analyse révèle la présence :

- de phases majoritaires : calcite et quartz,
- de phases secondaires : polyhalite et oxyde de potassium, deux sels solubles dans l'eau. La polyhalite est un minéral de cristallisation secondaire issu de la transformation progressive du gypse et/ou de l'anhydrite en présence de magnésium ou de sodium (Risachera, 2000). L'apparition de ces 2 phases à la surface des échantillons doit être rapprochée de la physico-chimie de l'eau de Moselle présentée chapitre II, Tableau II-III.

En comparant les diffractogrammes réalisés au cours du temps, on constate que les phases initiales des matériaux (portlandite, ettringite, etc.) ne sont plus observées après 2 mois d'immersion *in-situ*. Mais aucune apparition ou disparition de phases néoformées, qui auraient pu être imputées à la présence des micro-organismes, ne sont clairement distinguées.

La seule évolution notable dans le temps est la diminution de l'intensité des pics caractéristiques de la calcite ($29,4^\circ$ et $31,4^\circ$ en analyse $\theta/2\theta$). L'analyse détaillée de chaque spectre (logiciel EVA®) montre une orientation préférentielle des cristaux de calcite caractérisée par la différence d'intensité de certains pics entre l'échantillon et les caractéristiques données par la fiche pdf® de la calcite, particulièrement marqué pour les raies $29,4^\circ$ et $31,4^\circ$. Les mêmes constatations sont faites pour toutes les nuances cimentaires (voir annexe B).

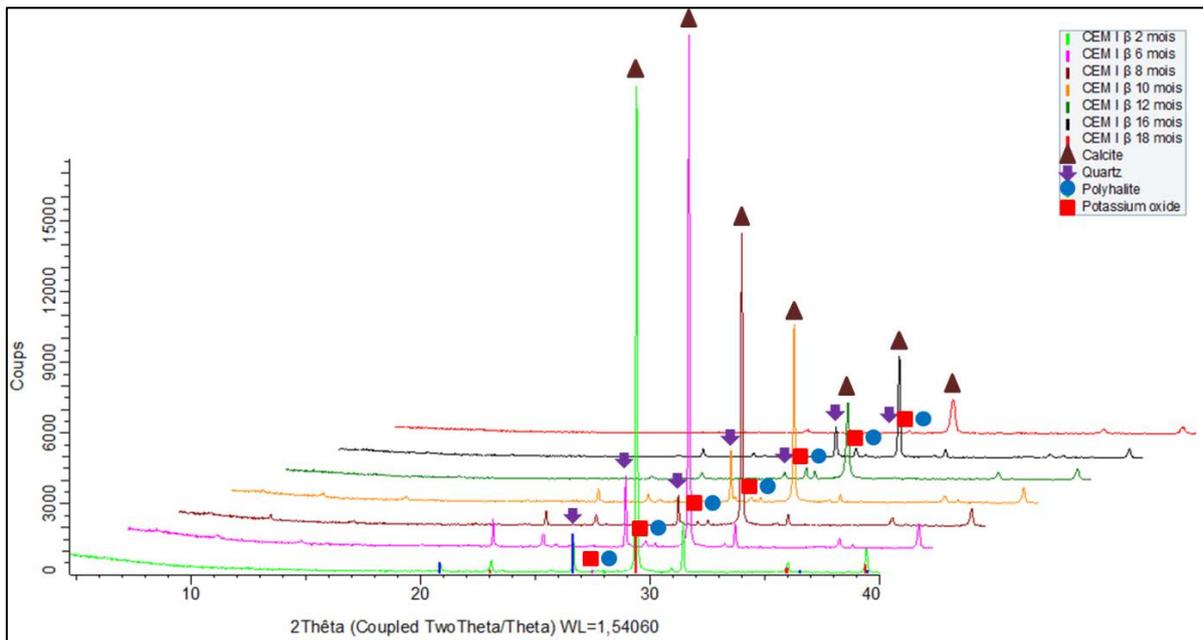


Figure III-7 : Diffraction X de la surface des échantillons de pâte de ciment à base de CEM I β , pour différents temps d'expositions au milieu naturel *in-situ*.

Après 12 mois d'immersion, l'analyse DRX (Figure III-8) montre des diffractogrammes similaires entre les échantillons d'une même nuance, mais avec des raies de la calcite d'intensité différente. Ainsi, le CEM I et le CEM II présentent des pics de calcite ($29,4^\circ$) très intenses (toutes supérieures à 3 000 coups), alors que ceux des échantillons de CEM III et CEM V sont plus faible (toutes inférieures à 2 000 coups), voire indétectables pour le diffractogramme de l'échantillon de CEM III β . Les différences peuvent s'expliquer par la variabilité de la porosité accessible à l'eau des différents échantillons. Les échantillons les plus poreux (CEM III et CEM V) offre donc des surface de réaction plus importante vis-à-vis des phénomènes de lixiviation et carbonatation, sont les échantillons dont les pics sont les moins intenses.

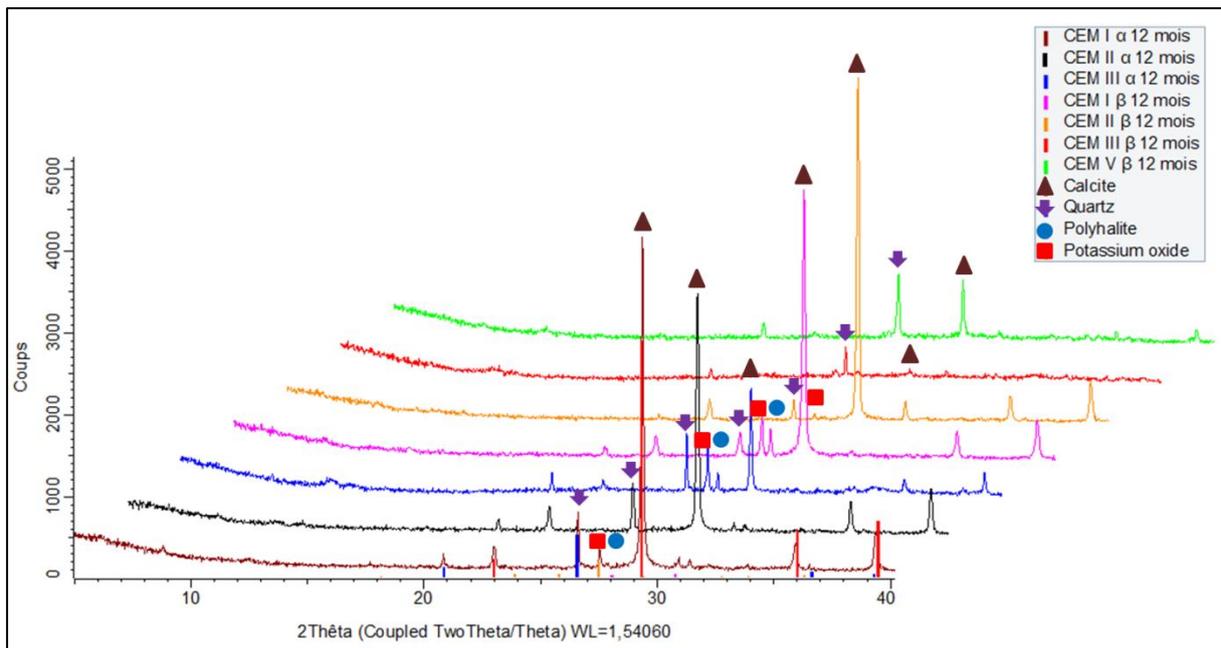


Figure III-8 : Diffractogrammes X de la surface des échantillons de pâte de ciment pour 12 mois d'exposition en milieu naturel.

4.2. Minéralogie de surface des échantillons en milieu général

Après 1 mois d'immersion dans le milieu de culture bactérien général, la surface des échantillons est majoritairement composée de calcite dont l'intensité des pics est plus ou moins importante (figure III-9). On note également que pour une même nuance cimentaire, α ou β , l'intensité des pics principaux de calcite ($29,4^\circ$) sont du même ordre de grandeur. L'étude détaillée de chaque diffractogramme révèle, comme pour les échantillons *in-situ*, une orientation préférentielle des cristaux de calcite. Les rapports d'intensité entre les pics de l'échantillon et ceux d'un échantillon de référence standard (fiche pdf de la calcite) en est le signe caractéristique. La surface des échantillons contient également du quartz et de la vatérite.

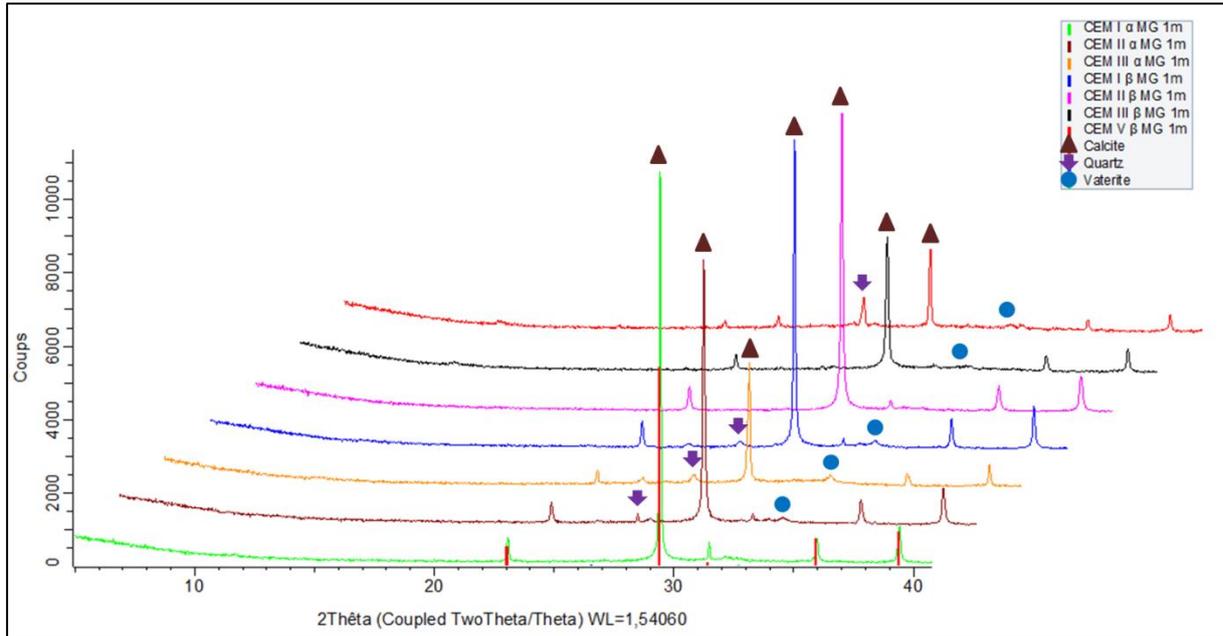


Figure III-9 : Diffractogrammes X de la surface des échantillons de pâte de ciment pour 1 mois d'expositions en milieu général bactérien.

5. Evolution de la porosité et de la structure poreuse

La porosité et la structure poreuse initiales des pâtes de ciment influencent la bioréceptivité du matériau. Cependant, le milieu et les micro-organismes qu'il contient peuvent modifier considérablement le réseau poreux. Ces modifications, notamment de la surface des échantillons, peuvent alors freiner ou, au contraire, accélérer les phénomènes de « vieillissement » des matériaux cimentaires en modifiant leurs propriétés de transferts.

Comme constaté précédemment, il y a peu de différences, du point de vue de la colonisation et de la minéralogie, entre les échantillons α et β . Dans ce chapitre, seuls les échantillons β seront donc étudiés.

5.1. Evolution de la porosité

Après immersion en milieu naturel, les échantillons présentent une porosité accessible à l'eau plus faible qu'à l'état initial. Les échantillons ayant, à l'état initial, la porosité la plus importante sont ceux qui présentent la diminution la plus importante après 3 et 6 mois d'immersion. Ce phénomène peut être dû à différents facteurs :

- chimique : si les échantillons à l'état initial sont plus poreux, ils offrent alors une surface de réaction plus importante avec le milieu naturel, favorisant ainsi la

carbonatation qui est principalement responsable de la diminution de la porosité et/ou de son accessibilité (Ngala, 1997),

- biologique : un lien peut être fait entre la chute de la porosité et le nombre de bactéries dénombrées à la surface des échantillons. En effet, les échantillons les plus colonisés (CEM III et CEM V) sont ceux qui présentent la baisse de porosité la plus importante. La pénétration dans les pores des cellules, de leurs métabolites et des produits de détérioration entre ces métabolites et la matrice cimentaire, peuvent être responsables du colmatage de la porosité et donc d'une diminution de son accessibilité.

En milieu contrôlé (laboratoire), le pourcentage de porosité accessible à l'eau diminue fortement après immersion (figure III-10) : en milieu général, elle passe de 25 - 30% initialement, à moins de 10% après 2 mois. La présence de bactéries a donc une influence importante sur la porosité des échantillons. L'évolution est similaire pour les échantillons immergés 6 mois dans le milieu naturel. Les pâtes à base de CEM II présentent une diminution plus faible de la porosité, comparativement aux autres nuances cimentaires. A l'inverse, le CEM V présente, pour ces échéances, la diminution de porosité la plus forte.

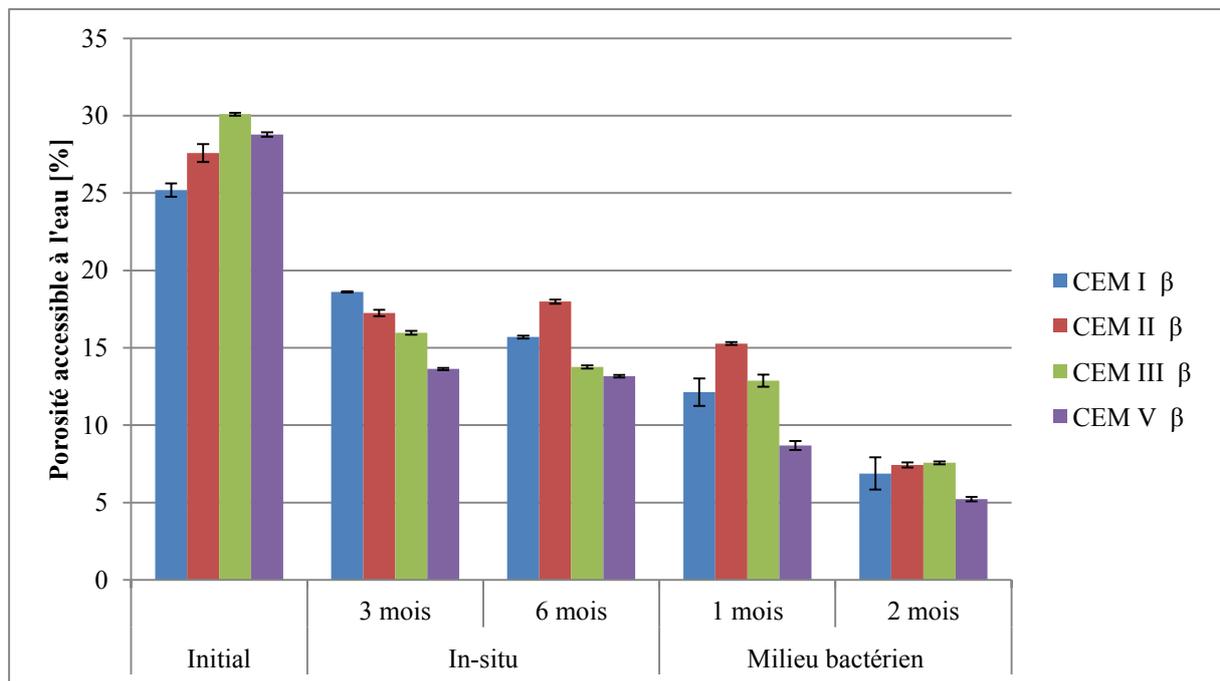


Figure III-10 : Evolution de la porosité accessible à l'eau en fonction du milieu et du temps d'exposition

Dans le cas des essais en laboratoire, le renouvellement mensuel du bouillon ne permet pas un apport suffisant de CO₂ dans le milieu pour expliquer la diminution importante de la porosité par la carbonatation seule. L'hypothèse la plus probable est

donc que les bactéries, de par leur métabolisme, induisent une modification de la minéralogie de surface, entraînant ainsi la diminution de la porosité par colmatage de cette dernière.

Cette hypothèse semble être confirmée au regard de la Figure III-11. En milieu de culture bactérien, les échantillons les plus colonisés, dont la population de bactéries est d'environ 16 000 UFC/cm² (CEM III et CEM V), présentent la plus forte baisse relative de porosité, soit entre 57 et 70% par rapport à leurs porosités initiales. A l'inverse, l'échantillon de CEM II, dont la population est de 8 000 UFC/cm², présente une diminution relative de porosité plus faible de 45%.

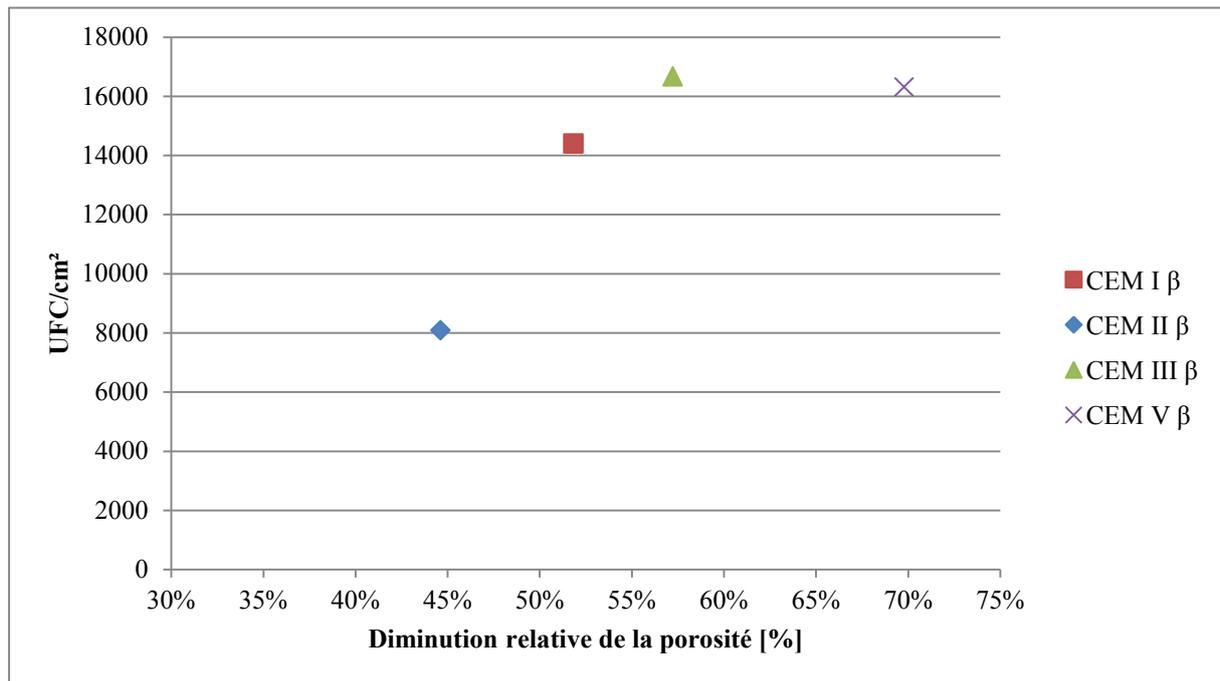


Figure III-11 : Population de bactéries en fonction de la diminution de la porosité accessible à l'eau

5.2. Imbibition capillaire

L'essai d'imbibition capillaire permet de caractériser la structure poreuse d'un matériau : la prise de masse totale donne une information sur la porosité du matériau accessible par capillarité, alors que la vitesse de montée capillaire donne une information sur la tortuosité et la connectivité du réseau poreux.

5.2.1. Imbibition capillaire des échantillons in-situ

La Figure III-12 présente les courbes de prise de masse durant l'essai d'imbibition capillaire des échantillons immergés 3 et 6 mois dans la Moselle (séchés

chimique avant essai). La surface d'imbibition des échantillons étant identique (900 mm²), il n'est pas nécessaire de normaliser les courbes par rapport à cette aire. Les valeurs sont alors exprimées en prise de masse relative par rapport à la masse initiale sèche.

Les échantillons de CEM I et CEM II, exposés 3 mois, arrivent à stabilisation de leur masse à partir de 200 min^{1/2}, caractérisée par un plateau en fin de courbe. En revanche, après 290 min^{1/2} (soit 2 mois d'essais), la masse des échantillons de CEM III et CEM V n'est toujours pas stabilisée. Cela corrobore les mesures de porosité accessible à l'eau (les porosités initiales des échantillons de CEM I et CEM II étant de 25 et 27 %, contre respectivement 30% et 29% pour les échantillons de CEM III et CEM V). Les échantillons les plus poreux renferment manifestement plus de microbulles d'air ; le début de courbe non linéaire et la très lente stabilisation de la masse finale en sont des signes caractéristiques. En revanche, la stabilisation plus rapide de la masse des échantillons de CEM I et CEM II et leur prise de masse plus « linéaire » entre 50 et 150 min^{1/2} d'imbibition (42h et 375h) révèle a priori une connectivité plus importante du réseau poreux, qui favorise les transferts hydriques vers le cœur du matériau.

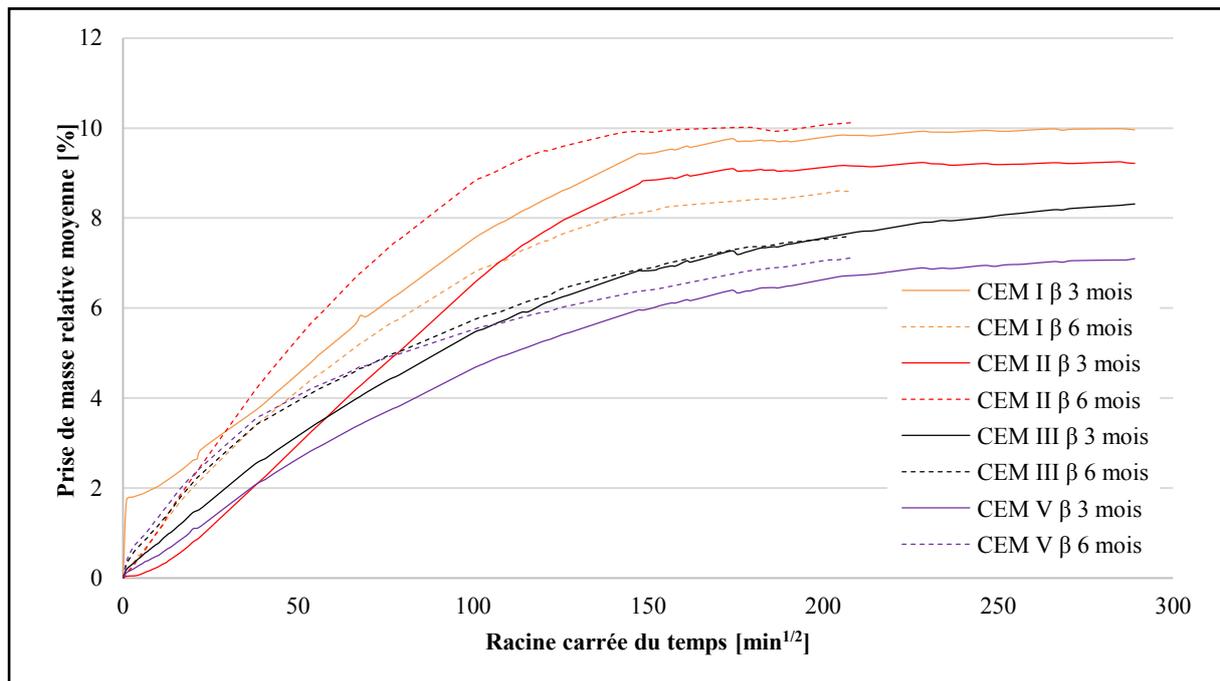


Figure III-12 : Prise de masse relative en fonction de la racine carrée du temps des échantillons immergés 3 et 6 mois dans la Moselle

La Figure III-13 présente les premières minutes des essais d'imbibition capillaire menés sur les échantillons immergés *in-situ*. Hormis le comportement singulier de l'échantillon de CEM I probablement dû à un remplissage de la porosité de peau plus

rapide (Bur, 2010 ; Roux 2008). Les courbes présentent une vitesse de prise de masse plus importante pour les échantillons exposés 6 mois en milieu naturel. Selon l'équation de Washdurn (Chapitre II, équation II-3), cette prise de masse plus rapide correspond à la présence de capillaires de rayon plus grand. L'augmentation de la taille des capillaires pourrait être due à des phénomènes de lixiviation.

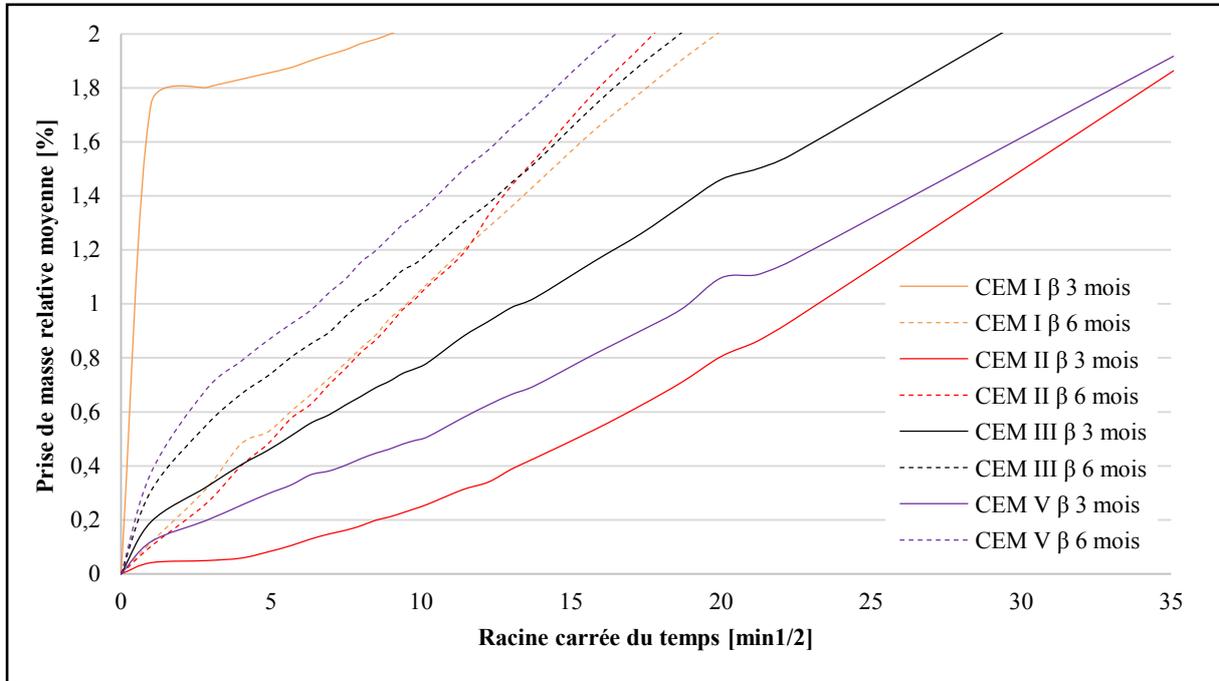


Figure III-13 : Détail de la prise de masse relative en fonction de la racine carrée du temps des échantillons immergés 3 et 6 mois dans la Moselle

5.2.2. Imbibition capillaire des échantillons en milieu de culture

Les mesures d'imbibition capillaire faite sur les échantillons immergés en milieu de culture bactérien donnent des allures de courbes relativement similaires pour les 2 échéances (un et deux mois d'immersion en milieu général). Cela montre que la structure poreuse n'évolue pas ou peu malgré une diminution de porosité, et confirme l'hypothèse de l'influence des bactéries sur la modification du réseau poreux. En effet, après deux mois d'immersion, la densité de cellules bactériennes présentes à la surface des échantillons diminue fortement, passant de plus 14 000 UFC/cm² à moins de 6 000 UFC/cm² pour les nuances de ciment CEM I, CEM III et CEM V et de 8 000 à 4 000 UFC/cm² pour l'échantillon de CEM II.

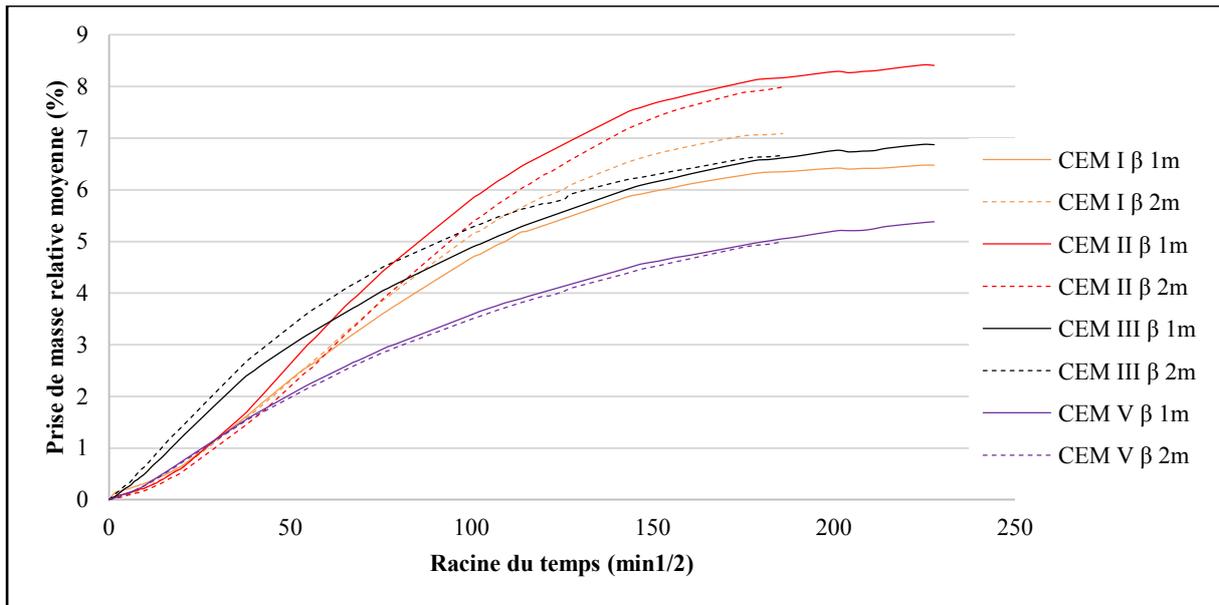


Figure III-14 : Prise de masse relative en fonction de la racine carrée du temps des échantillons immergés 1 et 2 mois en milieu général

La Figure III-15 présente, à titre d'exemple, les résultats d'imbibition capillaire des échantillons de CEM I avant et après 1 et 2 mois d'exposition au milieu de culture bactérien. En annexe C sont réunies toutes les courbes comparatives d'imbibition en fonction des nuances cimentaires. L'évolution de la structure poreuse entre l'initial et après exposition est caractérisée par une prise de masse plus lente et une pente en début de courbe plus faible. Cela traduit une complexification du réseau (connectivité tortuosité ...) et une diminution du diamètre des capillaires.

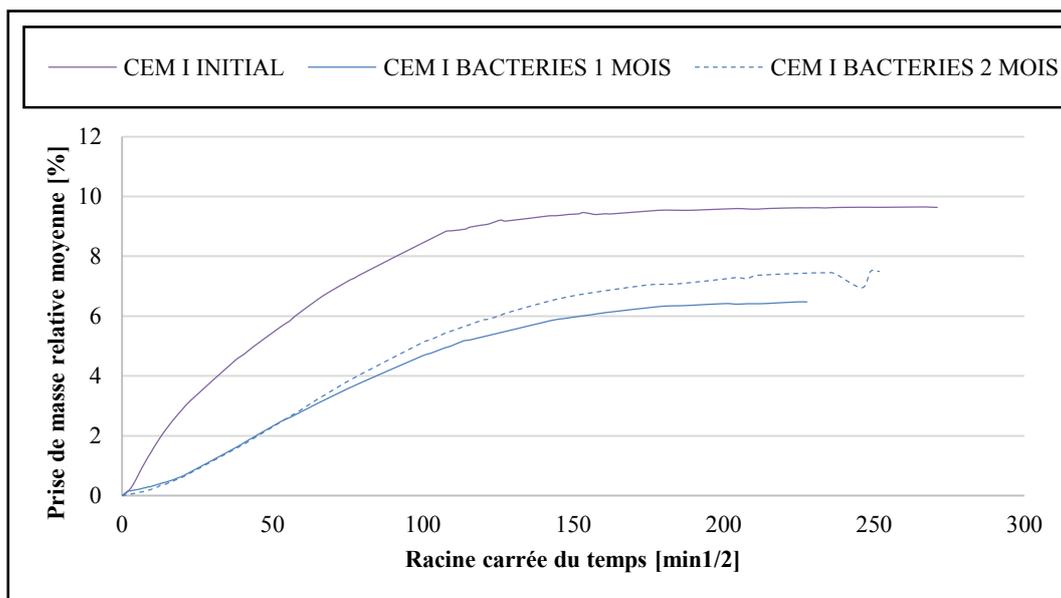


Figure III-15 : Prise de masse relative en fonction de la racine carrée du temps des échantillons de CEM I β initial et immergés 1 et 2 mois dans le milieu de culture bactérien

6. Lixiviation de la pâte de ciment

Les matériaux cimentaires soumis à un flux aqueux subissent des phénomènes plus ou moins prononcés de lixiviation de la Portlandite (phase la plus soluble), et, dans une moindre mesure, de la décalcification des silicates de calcium hydratés (Guetari, 2012). Ce phénomène engendre l'apparition sur les échantillons d'un liseré décoloré sur les faces en contacts avec le milieu (Adenot, 1997). La Figure III-16 présente des photos de tranches d'échantillons immergés dans le milieu naturel et dans le bouillon de culture bactériologique (milieu bactérien général). Les échantillons immergés dans ces deux milieux présentent cette décoloration, qui est au demeurant plus marquée sur les échantillons de CEM III et CEM V.

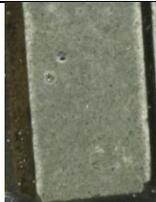
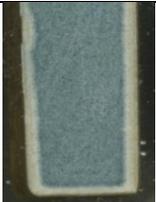
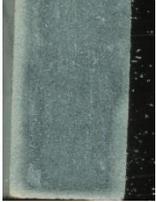
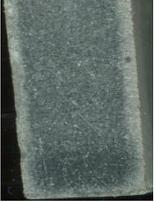
Nuance	CEM I β	CEM II β	CEM III β	CEM V β
Milieu naturel (6mois)	 0,24 mm	 0,19 mm	 0,61 mm	 0,58 mm
Milieu bactérien (2 mois)	 0,62 mm	 0,58 mm	 0,66 mm	 0,59 mm

Figure III-16 : Photographies des échantillons sur tranche coupée et polie après 6 mois d'exposition in-situ et en milieu général bactérien, valeur en millimètres de profondeur de lixiviation

Les courbes de la Figure III-17 présentent le suivi dans le temps de la profondeur de lixiviation réalisée sur des cassures polies des échantillons immergés dans la Moselle. Un mince liseré apparaît sur tous les échantillons dès 2 mois d'immersion. L'épaisseur de ce bandeau est relié à la densité de colonisation bactérienne (Figure III-1), puisque la pâte CEM III qui présente, à cette échéance, la population bactérienne la plus importante ($14\,920\text{ UFC/cm}^2$) est également la nuance dont la profondeur de lixiviation est la plus importante (0,49 mm). A l'inverse, la pâte CEM II, qui présente la densité bactérienne la plus faible à 2 mois ($4\,263\text{ UFC/cm}^2$) est celle dont de bandeau est le plus mince (0,3 mm). A partir de 14 mois d'immersion, les liserés des échantillons de CEM II et CEM III semblent atteindre un pallier (respectivement 0,83 mm et 0,88 mm), contrairement aux nuances CEM I et CEM V pour lesquels l'épaisseur du liseré continue d'augmenter.

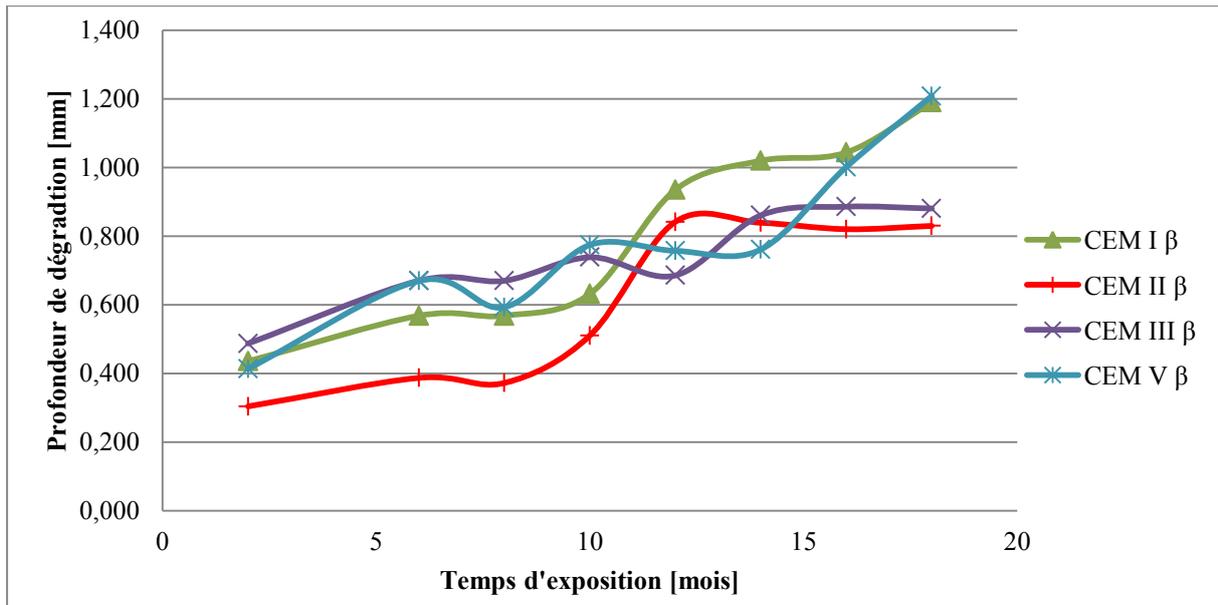


Figure III-17 : Evolution de la profondeur de lixiviation (épaisseur du liseré) des échantillons immergés dans le milieu naturel en fonction du temps

7. Synthèse des résultats

Les matériaux cimentaires sont des matériaux très complexes à étudier car de nombreux paramètres conditionnent leurs caractéristiques physico-chimiques initiales et leurs évolutions dans le temps. Ces caractéristiques contribuent de façon déterminante à la colonisation bactérienne (Guillitte, 1995) etc. Pour appréhender les mécanismes de biodétérioration, donc l'influence des bactéries sur la matrice cimentaire, il est nécessaire d'avoir une approche globale et de maîtriser le maximum de paramètres afin d'en évaluer les interférences. Il existe des méthodes mathématiques, telles l'analyse en composante principale (ACP) et l'analyse en *neural network* pour trouver les meilleures corrélations. Cependant, ce type de méthode n'a pu être appliquée ici au regard du nombre important de paramètres dont la majeure partie est non maîtrisable et difficilement évaluable dans le temps, notamment en milieu naturel ouvert (flore microbienne réel, composition chimique variable du milieu ouvert sensible à la moindre pollution, etc.). Les constats formulés ci-après n'en sont pas moins avérés.

✓ Que ce soit en milieu naturel ou en milieu de laboratoire, la colonisation de la surface des échantillons par des bactéries est effective pour toutes les nuances cimentaires. En milieu naturel, cette colonisation initiale importante (supérieure à $10\ 000\ \text{UFC}/\text{cm}^2$) est suivie d'une diminution significative durant les 10 premiers mois d'études (mesurée du moins après 6 mois) puis d'une augmentation modérée en période estivale. Les investigations menées en laboratoire en milieu général bactérien

suggèrent que cette diminution est principalement induite par la modification de la physico-chimie de surface des échantillons : en effet, à 2 mois les échantillons présentent eux aussi des densités de colonisation significativement réduites.

✓ Quel que soit le milieu considéré, les échantillons de CEM II se distinguent par une colonisation primaire plus faible que celle des autres nuances. Les caractérisations initiales (avant immersion), en termes de porosité, rugosité et minéralogie, ne présentent pas de singularités notables pour ce ciment, excepté pour l'imbibition capillaire qui montre une prise de masse plus rapide et plus linéaire ainsi qu'une stabilisation plus rapide. La structure poreuse plus « grossière » de ce ciment serait la cause de la « désaffection » bactérienne.

✓ Les différences de population bactérienne constatées entre les différentes nuances cimentaires s'atténuent et se confondent avec le temps d'immersion, que ce soit en milieu naturel ou en milieu de culture en laboratoire. Les différences initialement observées étant principalement dues aux différences de rugosité de surface des échantillons (Figure III-4).

✓ Le liseré décoloré à la périphérie des échantillons (*in-situ* et en milieu bactérien, Figure III-18 et Figure I-5), observable à l'œil nu, est similaire aux observations faites par Adenot et Faucon (Adenot *et al.*, 1997) sur la lixiviation accélérée en eau déminéralisée d'échantillons de pâte de ciment formulée avec un rapport E/C=0,4 (Figure III-17). Ce phénomène est confirmé par les diffractogrammes X de surface des échantillons après immersion, où les pics de l'ettringite et de la Portlandite ne sont plus détectés (Figure III-7, Figure III-8 et Figure III-9).

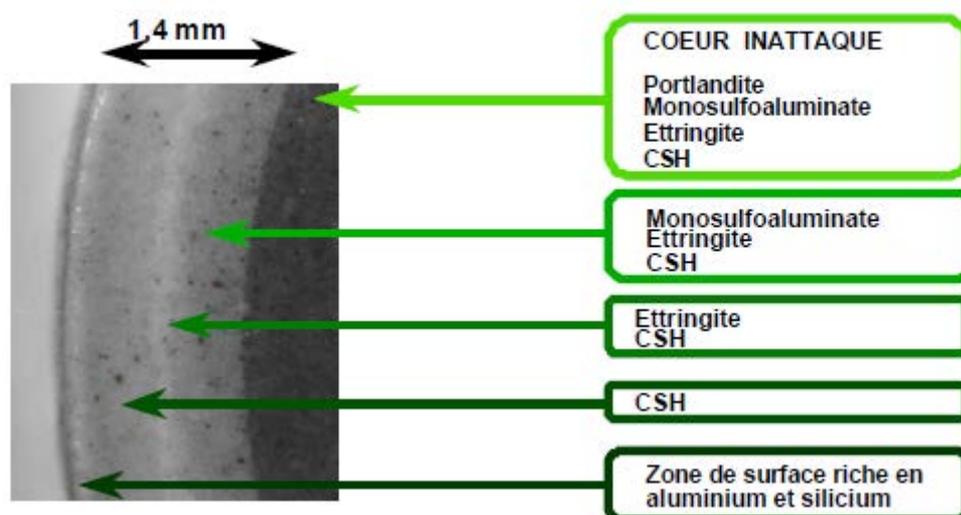


Figure III-18 : Zonation d'une pâte de de ciment après 3 mois de lixiviation (Adenot, 1997)

✓ En milieu naturel (Moselle), le renouvellement constant de l'eau peut aussi expliquer la lixiviation des échantillons. Toutefois, selon Adenot, les couches superficielles des échantillons lixiviés sont composées d'une zone riche en aluminium, silicium et CSH, mais pas en calcite. Cette hypothèse n'explique donc pas la présence abondante de calcite sur l'ensemble des échantillons (détectée par DRX). Les observations faites sur les échantillons en milieu général bactérien ne corroborent pas non plus l'hypothèse d'un liseré induit uniquement par la lixiviation. En effet, le faible volume de bouillon (1 litre) et le renouvellement mensuel du milieu n'offre pas les conditions favorables à une lixiviation rapide et profonde d'une pâte de ciment. Les bactéries auraient donc un rôle important dans cette décoloration/lixiviation, comme l'indique la relation constatée entre profondeur de lixiviation et population bactérienne (Figure III-17 et décrite dans le paragraphe III-6).

✓ Les travaux de Lajili *et al.* (Lajili, 2008) et Leeman *et al.* (Leeman, 2010a ; Leeman, 2010b) ont montré que dans des milieux spécifiques, la lixiviation de la matrice cimentaire était induite par les micro-organismes. Les travaux de Lajili ont porté sur l'étude à long-terme de pâtes de ciment formulées à base de CEM I, exposées à *Aspergillus niger*. Leeman *et al.* présentent une étude sur l'influence de biofilms nitrifiants présents dans les stations de traitement des eaux usées. Ils démontrent que la présence d'un biofilm à la surface des échantillons entraîne une modification, plus ou moins profonde, de la physico-chimie de surface de ces derniers. Dans ces différents travaux, la présence du biofilm induit une modification superficielle de la matrice cimentaire décomposée en 3 zones de minéralogies spécifiques différentes. La Figure III-19 présente les diffractogrammes de ces différentes zones (ou couches) (Lajili, 2008) :

- les zones les plus superficielles (zone 1 et zone 1 bis sur la figure) ont des minéralogies similaires. Elles sont principalement composées d'une phase amorphe (caractérisée par le bombement centré sur 25°), de quartz et de calcite,
- la zone 2 est principalement caractérisée par une proportion importante de calcite et d'ettringite,
- la zone 3 présente une minéralogie proche de celle du matériau sain, excepté qu'elle est dépourvue de Portlandite (complètement dissoute).

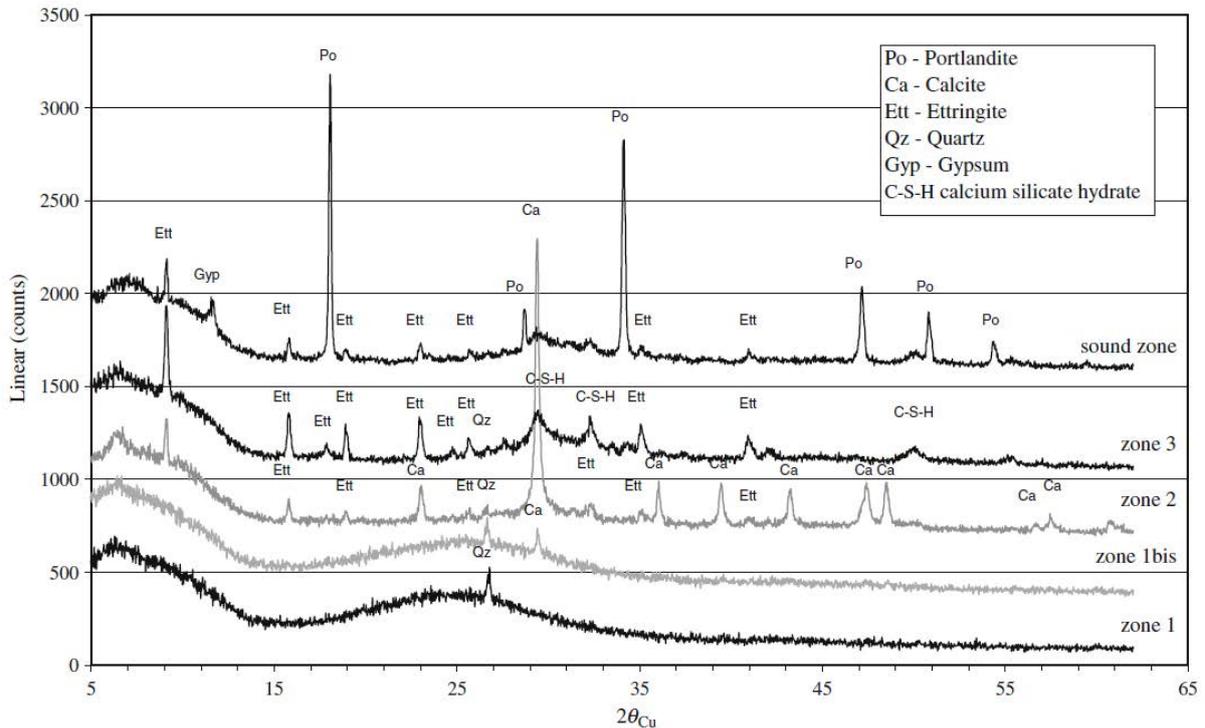


Figure III-19 : Analyse par diffraction des rayons X d'une pâte de ciment formulée avec un CEM I dégradée après 15 mois de biolixiviation fongique – *Aspergillus Niger* (Lajili, 2008)

✓ Après 12 mois d'exposition *in-situ*, le diffractogramme de l'échantillon de CEM III β (Figure III-20) présente plusieurs similitudes avec la zone 1 décrite par Lajili *et al.*. La surface est composée de phases amorphes (identifiables par le bombement entre 17° et 37°), de quartz et de calcite. Outre ces phases, l'analyse DRX révèle la présence de dolomite, de gypse et d'aragonite. Ces minéraux peuvent être issus du dépôt de matières en suspension dans la Moselle, ou être des précipitations secondaires issues de réactions entre les ions en présence dans le milieu et la matrice cimentaire lixiviée.

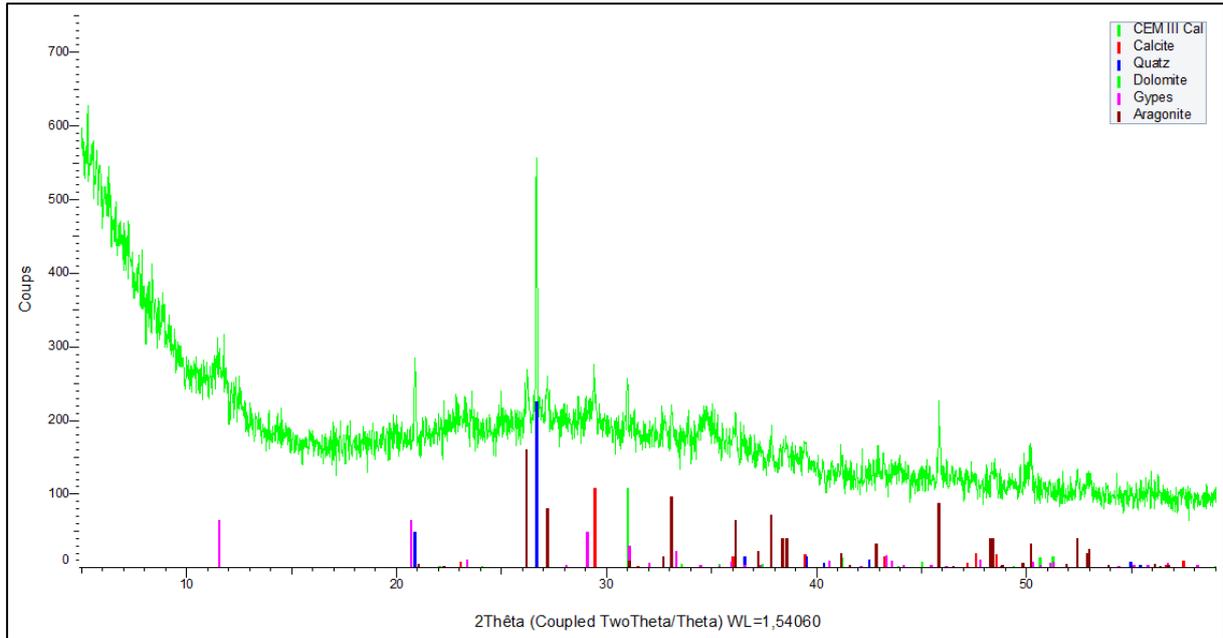
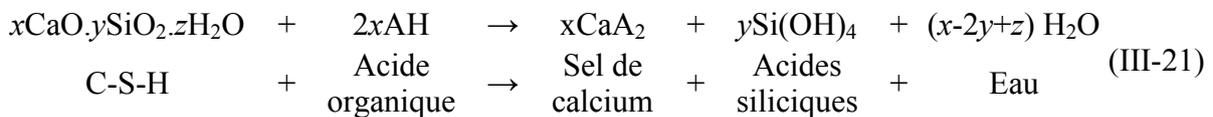
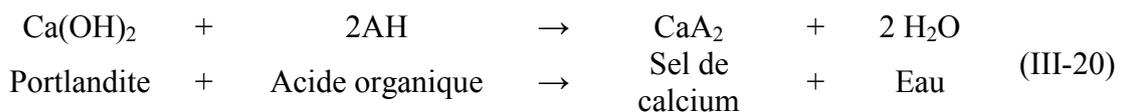


Figure III-20 : Diffractogramme X de la surface des échantillons de pâte de ciment CEM III β après 12 mois d'exposition *in-situ*.

✓ L'ensemble de ces résultats semble alors montrer que le liseré décoloré à la surface des échantillons en milieu naturel et en milieu de culture bactérien général serait dû, du moins pour partie, à la biolixiviation de la pâte de ciment induit par les métabolites sécrétés par les microorganismes. Les travaux de Bayoux *et al.* (Bayoux, 1990) posent les différentes étapes de l'attaque de la pâte de ciment Portland par des acides organiques, conduisant à la décomposition des hydrates, principalement la Portlandite et les CSH, selon les équations suivantes où les acides organiques sont représentés par la formule générique AH et les sels de calcium produits par CaA_2 .



Les sels ainsi produits ont des solubilités variables et vont être dissouts en fonction du pH du milieu et de leurs seuils de solubilités. Parmi ces différents acides organiques, les principaux sont l'acide acétique, l'acide lactique, l'acide oxalique ou l'acide butyrique. L'attaque chimique due à l'acide oxalique pourrait être considérée comme négligeable ou même bénéfique car elle entraîne la formation d'un sel de calcium insoluble. Les cristaux d'oxalate, qui s'accumulent dans les pores de la pâte de ciment, peuvent bloquer les transferts hydriques et agir comme barrière de diffusion, limitant

ainsi la lixiviation du calcium. Dans le cas où les sels de calcium sont solubles, les ions Ca^{2+} vont réagir avec le CO_2 soluble dans le milieu ou produit par le biofilm pour former de la calcite.

Les travaux de Leeman *et al.* (Leeman, 2010a) expliquent les transferts chimiques qui se déroulent au sein de la surface du béton formulé à base de CEM I (Figure III-21) : une petite partie du CO_2 produit par le biofilm pénètre dans l'échantillon, où il réagit avec la couche de calcite pour former des ions Ca^{2+} et HCO_3^- qui sont ensuite absorbés dans le biofilm. A l'inverse à l'intérieur de l'échantillon la Portlandite et les CSH sont déstabilisés et libèrent des ions Ca^{2+} et OH^- qui vont également réagir avec le CO_2 en présence pour former de la calcite.

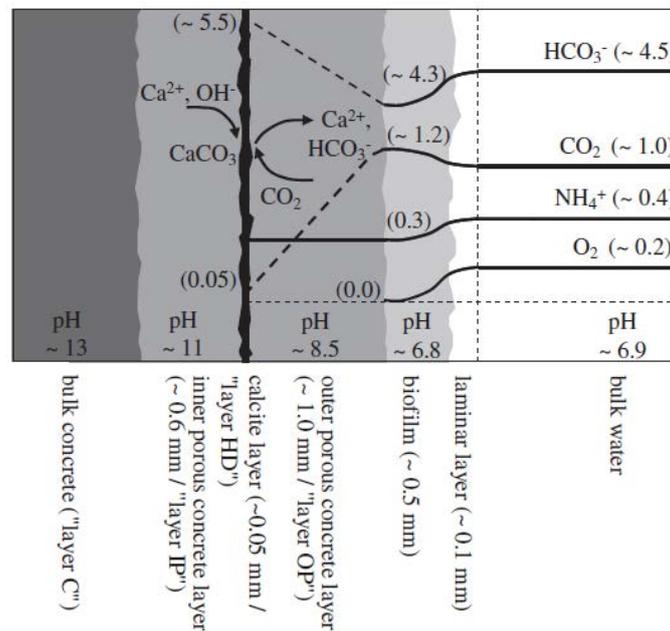


Figure III-21 : Épaisseur des couches dans le béton formulé à base de CEM I après deux ans d'exposition et les transferts chimiques entre elles (Leeman, 2010a)

Par microscopie électronique à balayage, Leeman *et al.* ont estimé, par différence de contraste en imagerie d'électrons rétrodiffusés (contraste chimique) le profil de porosité superficielle des échantillons biolixiviés (Leeman, 2010b). Les trois principales couches, qui forment la zone biolixiviée présentent des porosités spécifiques (Figure III-22) :

- couche C : au matériau sain,
- couche IP : couche interne avec une porosité accrue par rapport à la pâte non modifiée,
- couche HD : couche mince plus dense, composée principalement de calcite,

- couche OP : couche externe à la surface du béton avec une grande porosité.

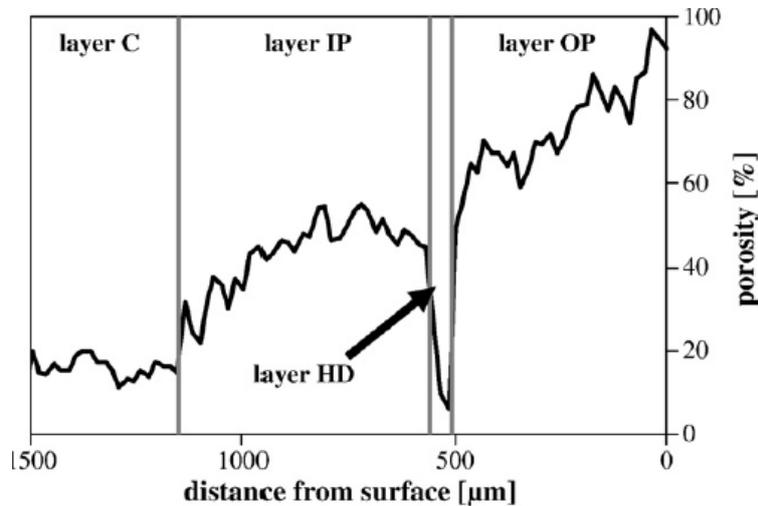


Figure III-22 : Distribution de la porosité à la surface des échantillons biolixiviés (Leeman, 2010b)

Une analogie peut être faite entre les interprétations de Lajili *et al.* (Lajili, 2008) et Leeman *et al.* (Leeman, 2010a ; Leeman, 2010b) et Bayoux *et al.* (Bayoux, 1990) et les résultats obtenus dans ces travaux de thèse. En milieu naturel, les matériaux cimentaires subissent des modifications de leurs surfaces matérialisées par un liseré décoloré sur le pourtour des échantillons. La présence de ce même bandeau sur les échantillons immergés en milieu de culture bactérien général montre l'influence des bactéries dans ces modifications. De par leur métabolisme, elles vont engendrer la dissolution de la Portlandite et la décalcification des silicates de calcium hydratés pour former des sels de calcium plus ou moins solubles et un gel siliceux amorphe. Dans le cas où ces sels se dissolvent, les ions Ca^{2+} ainsi libérés vont réagir avec le CO_2 , dissout dans le milieu ou généré par le biofilm, pour former de la calcite à la surface des échantillons. La calcite ainsi formée superficiellement est détectable par diffraction des rayons X, et ce quel que soit le milieu considéré et le temps d'immersion (Figure III-7, Figure III-8 et Figure III-9). Dans le temps, le front de dégradation progresse et produit, sur l'échantillon le plus poreux (CEM III β), une couche superficielle composée d'une phase amorphe et de quartz détecté par DRX (Figure III-20), identique à celle décrite par Lajili *et al.* (Lajili 2008).

La seconde influence notable liée à la biolixiviation de la pâte de ciment est la diminution importante de la porosité et la modification des propriétés de transferts par capillarité. La précipitation des sels de calcium dans le réseau poreux tend à le colmater, expliquant ainsi l'évolution du comportement des échantillons observés lors des essais d'imbibition capillaire. De plus, la formation d'une couche de calcite très

faiblement poreuse, déjà signalée par Leeman *et al.* (Leeman, 2010b), génère le colmatage des pores qui diminue alors le taux de porosité accessible à l'eau.

8. Conclusion

Les essais en laboratoire comme en milieu naturel ont permis de montrer que la colonisation bactérienne des échantillons de toutes les nuances cimentaires est effective et importante dès les temps les plus courts d'incubation. Toutefois, les échantillons de nuance CEM II α et CEM II β se distinguent des autres échantillons par une densité de colonisation plus faible dans chacun des deux milieux d'étude.

Bien que les topographies des différents échantillons soient proches, une relation a été établie entre les paramètres de rugosité, notamment R_{sk} et R_{ku} et la densité de bactéries à leur surface après 1 mois en milieu de culture bactérien général confirmant ainsi l'influence de la géométrie de surface sur la bioréceptivité.

Les essais en laboratoire ont permis de mettre en évidence une différence de colonisation entre les pâtes de ciments α et β . Les pâtes de ciments β sont systématiquement plus colonisées par les bactéries que les pâtes α . Le clinker utilisé pour la fabrication des ciments d'étude étant dépendant du cimentier (α et β), cette analyse montre que la composition clinker influence la bioréceptivité des échantillons.

Quelle que soit la nuance cimentaire, la densité de population bactérienne diminue fortement après deux mois d'exposition *in-situ* avant de se stabiliser après environ un an d'essai. En milieu naturel cette diminution peut être en partie imputée aux modifications des conditions environnementales : augmentation du débit de la Moselle (intempéries automnales, fonte des neiges) et diminution de la température. Les essais en laboratoire ont permis de confirmer la biolixiviation des échantillons de pâte de ciment par les bactéries. Le matériau réagit avec les métabolites sécrétés par la flore bactérienne présente dans le biofilm ce qui s'accompagne de modifications de la minéralogie et de la porosité de surface. Dans ce milieu et quelle que soit la nuance, la profondeur de dégradation est toujours du même ordre de grandeur, entre 0,58 et 0,66 mm, après 2 mois de culture. Ces modifications génèrent notamment la formation d'une couche très dense de calcite clairement identifiable par DRX. Cette couche limite l'accessibilité à la porosité des échantillons.

Comme lors de l'étude en laboratoire, l'analyse des échantillons *in-situ* a permis l'identification d'une lixiviation potentiellement induite par les bactéries. Dans le temps, le front de dégradation tend à se stabiliser entre 0,8mm et 0,9mm de profondeur pour les nuances de CEM II et CEM III, alors que pour les nuances de CEM I et CEM V cette dégradation atteint 1,2 mm après 18 mois dans le Moselle.

Chapitre IV :

Effet de la colonisation de pâte de ciment par des diatomées

Ce chapitre est consacré à l'étude des interactions entre un genre d'algue unicellulaire, les diatomées, et des échantillons de pâte de ciment durcie. La première partie traite de la mise au point d'un protocole d'essais permettant la culture des diatomées. La seconde partie présente l'analyse et l'interprétation des modifications physico-chimiques des échantillons exposés à un milieu de culture « diatomées » et au milieu naturel de la Moselle.

1. Mise au point d'un protocole d'essais

La mise au point d'un protocole d'essais accéléré est nécessaire pour isoler et étudier dans un temps court l'influence de micro-organismes sur les matériaux cimentaires. Pour cela, il faut connaître parfaitement les besoins physiologiques et nutritifs de la cellule visée pour optimiser sa vitesse de développement. Les diatomées ont principalement trois besoins : des nutriments, du dioxyde de carbone et de la lumière (Sialve *et al.*, 2013).

1.1. Milieu de culture pour diatomées

Le milieu retenu pour la culture des diatomées est le « milieu de culture général » présenté par Dauta (Dauta, 1982). Sa composition pour un litre de bouillon est donnée dans le Tableau IV-I. Elle est principalement minérale et, de ce fait, est moins propice au développement bactérien (Dauta, 1982). Pour les cultures réalisées lors de cette étude, le milieu a été préparé à base d'eau de Moselle stérilisée dans laquelle sont ajoutés à la fois les composants du milieu de base et les nutriments (voir tableau IV-I). Le mélange est ensuite stérilisé par autoclavage. Parallèlement, la solution d'oligo-éléments (voir Tableau IV-II) est préparée séparément, stérilisée par filtration (filtre seringue 0,45 µm et 0,22 µm), puis ajoutée au bouillon.

Produits	Quantité
<i>Milieu de base</i>	
Sulfate de magnésium heptahydraté : $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	25 mg
Sulfate de fer heptahydraté : $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	1 mg
Chlorure de calcium dihydraté : $CaCl_2 \cdot 2H_2O$	25 mg
EDTA de sodium : $Na_2 EDTA$	1 mg
Bicarbonate de sodium : $NaHCO_3$	50 mg
Carbonate de sodium : Na_2CO_3	5 mg
<i>Nutriments</i>	
Nitrate de potassium : KNO_3	200 mg
Monohydrogénophosphate de potassium : K_2HPO_4	25 mg
Métasilicate de sodium pentahydraté : $SiO_2 \cdot Na_2O \cdot 5H_2O$	212 mg
Solution d'oligo-élément	0.5 ml

Tableau IV-I : Composition du milieu de culture diatomée pour un litre de bouillon (Dauta, 1982)

Produit	Quantité
Sulfate de zinc heptahydraté : $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	20 mg
Chlorure de cuivre dihydraté : $CuCl_2 \cdot 2H_2O$	20 mg
Chlorure de manganèse tetrahydrate : $MnCl_2 \cdot 4H_2O$	400 mg
Chlorure de cobalt hexahydraté : $CoCl_2 \cdot 6H_2O$	10 mg
Acide borique : BO_3H_3	1 mg
Molybdate de sodium dihydraté : $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	41 mg
Eau déminéralisée	500 ml

Tableau IV-II : Composition de la solution d'oligo-éléments pour diatomée pour 500 ml de solution (Dauta, 1982)

1.2. Chambre d'incubation

Les cultures ont été faites dans des flacons en verre borosilicate bouchés par un septum en silicone. Ce matériel a été stérilisé à l'autoclave à 120 °C et 200 KPa de pression pendant 20 minutes afin de prévenir toute contamination microbienne. Les échantillons (plaque de verre, pâtes de ciment) ont été suspendus dans le flacon à l'aide d'un fil de nylon. Après inoculation, les flacons ont été placés dans une chambre d'incubation (Figure IV-1).

Pendant toute la durée des essais, un bullage continu des bouillons de culture a été assuré par de l'air filtré. Il a été réalisé à l'aide d'un réseau d'air comprimé. Avant d'alimenter le bioréacteur, l'air est stérilisé à l'aide d'une unité de filtration Atlas Copco DDp+/PDp+ composé de deux filtres, d'ouverture 1 μm et 0,01 μm respectivement. Le bullage dans le milieu de culture permet de remplir différentes fonctions :

- assurer un apport constant en dioxyde de carbone, indispensable au métabolisme photosynthétique des diatomées
- favoriser les échanges gazeux entre le milieu de culture et l'atmosphère,
- assurer un flux continu permettant à la fois d'empêcher la stagnation et la sédimentation des micro-algues, d'homogénéiser le milieu et de rendre disponible les nutriments,
- permettre un mouvement aléatoire des échantillons et de créer ainsi des conditions hydrodynamiques proches des conditions naturelles.



Figure IV-1 : Photo de la chambre d'incubation expérimentale pour la culture des diatomées

Dans le bioréacteur, l'éclairage a été assuré par une rampe LED spécifique pour la culture d'algue, composé de 504 LED de couleurs différentes permettant de reproduire fidèlement le spectre de la lumière naturelle. Son flux lumineux est de 2580 Lux (lampe Fluval® Aqualife & Plant Full Spectrum Performance LED Strip Light A3991). Ce système est placé de façon à obtenir un éclairement lumineux au droit des flacons de cultures. Les caractéristiques de la source lumineuse sont données Tableau IV-III et Figure IV-2. Son spectre coïncide parfaitement avec ceux des pigments qui permettent aux diatomées de réaliser les réactions photosynthétiques (Chapitre I, figure 13). Le montage a été relié à un programmeur permettant d'alimenter et de couper le circuit selon des cycles jour/nuit de 12 heures /12 heures.

Le montage a été isolé de toute source de lumière extérieure pouvant perturber le cycle lumineux, et il a été placé dans une pièce régulée à $20 \pm 1^\circ\text{C}$.

Désignation	Fluval® Aqualife & Plant Full Spectrum Performance LED Strip Light A3991
Puissance [W]	35
Nombre de LED	504
Flux lumineux [lm]	2580
Eclairement [Lux]	5952
Température de couleur équivalent corps noirs [K]	5200

Tableau IV-III : Caractéristiques de la source de lumière utilisée dans la chambre d'incubation

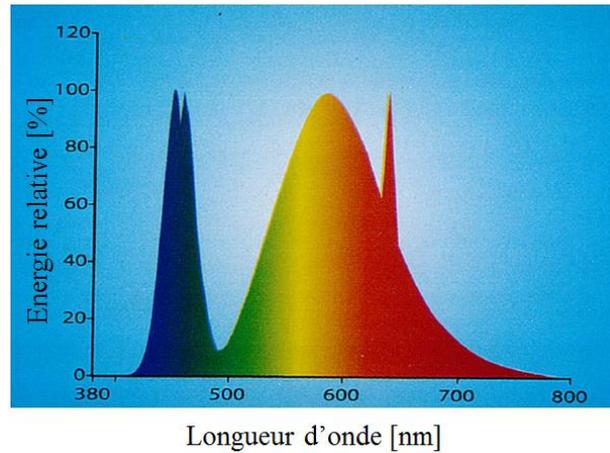


Figure IV-2 : Spectre de la source lumineuse

1.3. Récupération, isolement et culture des diatomées

Le protocole de récupération, d'isolement et de culture des diatomées est inspiré des méthodes de culture employées dans les travaux de Debenest, Leitão *et al.* et Dauta (Debenest, 2007 ; Leitão *et al.*, 2005 et Dauta, 1982). Ici cependant, une attention particulière a été apportée à la stérilité des cultures. En effet, pour limiter au maximum la contamination du milieu par d'autres micro-organismes, l'ensemble des manipulations a été réalisé en atmosphère stérile sous PSM, avec du matériel à usage unique ou stérilisé à l'autoclave ou à l'éthanol :

- 1- Récupération des souches : les souches de diatomées utilisées sont des souches environnementales provenant de biofilms récupérés au niveau de la zone d'immersion des paniers, dans la Moselle (zone d'étude *in-situ*). Elles ont été prélevées sur les cordes en nylon maintenant les paniers immergées.
- 2- Isolement des diatomées : pour limiter le développement d'autres espèces de micro-organismes dans le bouillon d'essai, les souches de diatomées ont été préalablement isolées. La technique a consisté tout d'abord à prélever le biofilm présent sur les cordes, par mise en suspension par ultrason, dans de l'eau de Moselle stérile. Cette suspension a ensuite été utilisée pour inoculer un premier bouillon de culture où sont suspendues des lames de verres. Les diatomées étant les premiers micro-organismes à coloniser les surfaces d'échantillon (Sekar *et al.*, 2004), les lames de verres ont alors été retirées après 14 jours de culture, et le biofilm s'étant développé à leur surface a été mis à son tour en suspension par ultrason dans de l'eau de Moselle stérile. Cette suspension a été utilisée par la suite pour inoculer les bouillons d'essais.
- 3- Culture des diatomées : après la mise en place des échantillons (de pâte de ciment) dans les flacons contenant le bouillon de culture, lesdits flacons ont

été fermés pas un bouchon avec un septum. Ce matériel permet de maintenir la stérilité du milieu tout en y introduisant l'arrivée d'air destiné au bullage et l'évent permettant d'évacuer l'air après bullage. Sitôt les flacons mis en place dans la chambre d'incubation, les arrivées d'air ont été mises en action. Les essais ont duré 28 et 56 jours. Chaque semaine, du « bouillon neuf » a été ajouté dans les flacons, à raison de 120 ml en moyenne, introduit à travers le septum avec une seringue. Cette dose a permis de compenser les pertes dues au bullage et de renouveler les nutriments.

2. Interactions diatomées - matériaux

2.1. Interactions en milieu naturel

En milieu naturel, les échantillons de pâte de ciment sont rapidement et massivement colonisés par les diatomées. La Figure IV-3 présente, à titre d'exemple, la colonisation de la surface d'échantillons immergés 2 mois dans la Moselle.

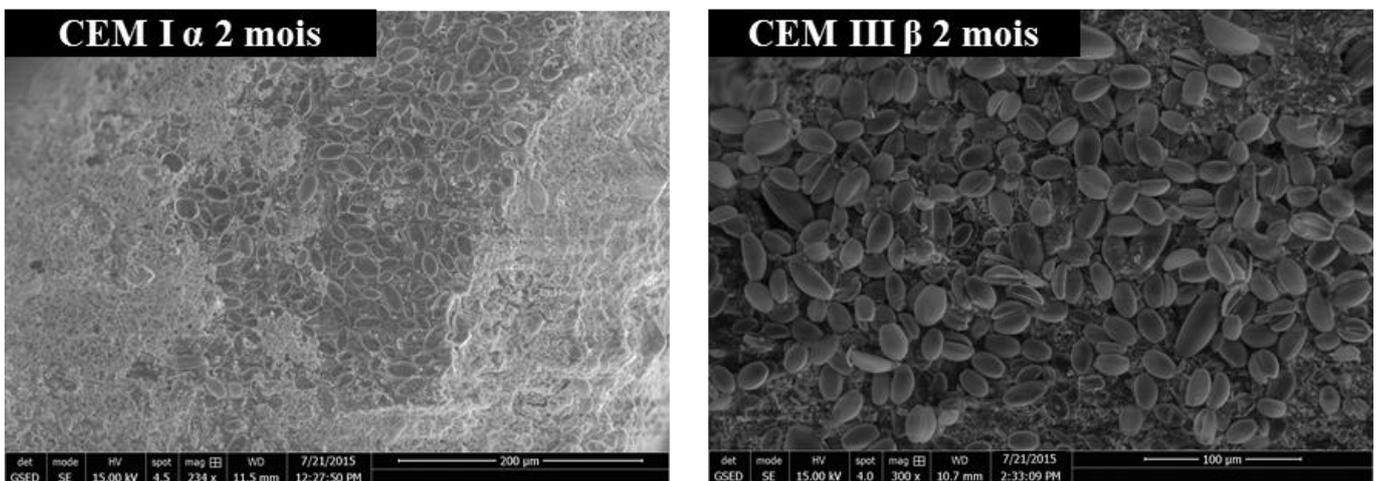


Figure IV-3 : Images MEB-PC de la surface des échantillons après 2 mois d'immersion dans la Moselle

Dans la plupart des cas, les diatomées sont enclavées et associées aux concrétions qui se développent à la surface des échantillons. La Figure IV-4 présente des images MEB montrant des pâtes de ciment de différentes nuances et après différents temps d'exposition, où les diatomées sont recouvertes par une gangue minérale.

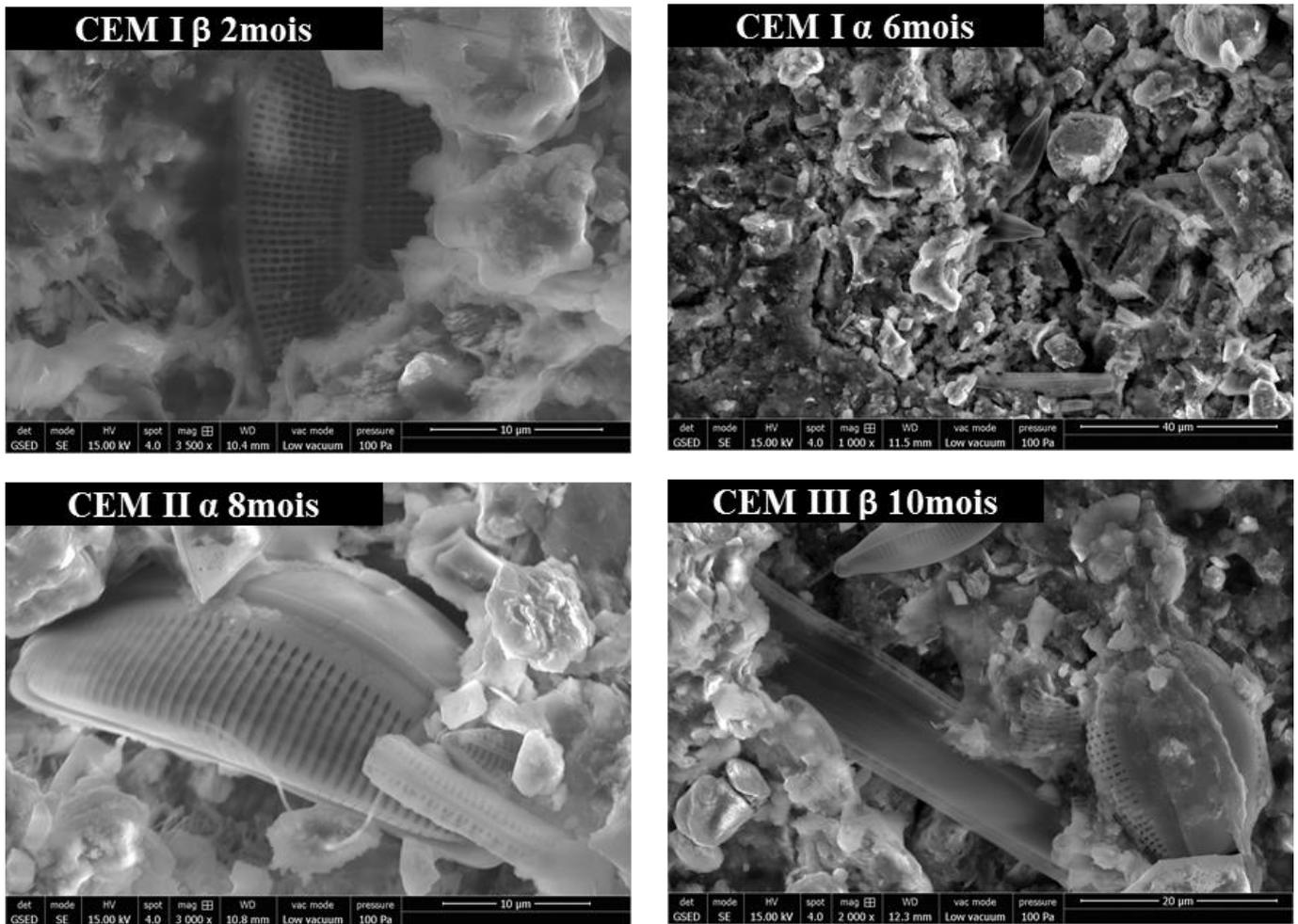


Figure IV-4 : Image MEB-PC de diatomées présent dans la concrétion.

L'observation MEB de différents matériaux immergés pendant 6 mois, au même endroit que les échantillons de pâte de ciment, montre également une colonisation massive de leur surface (Figure IV-5). L'échantillon repéré « acier inoxydable » est un fragment de l'un des paniers de protection. Celui repéré « corde en nylon » a été prélevé sur une corde de maintien des paniers. Bien que ces matériaux présentent une colonisation importante de diatomées, aucune gangue minérale n'est observable à leur surface. Cette différence par rapport aux échantillons de ciment montre qu'il existe vraisemblablement une interaction entre diatomées et matrice cimentaire.

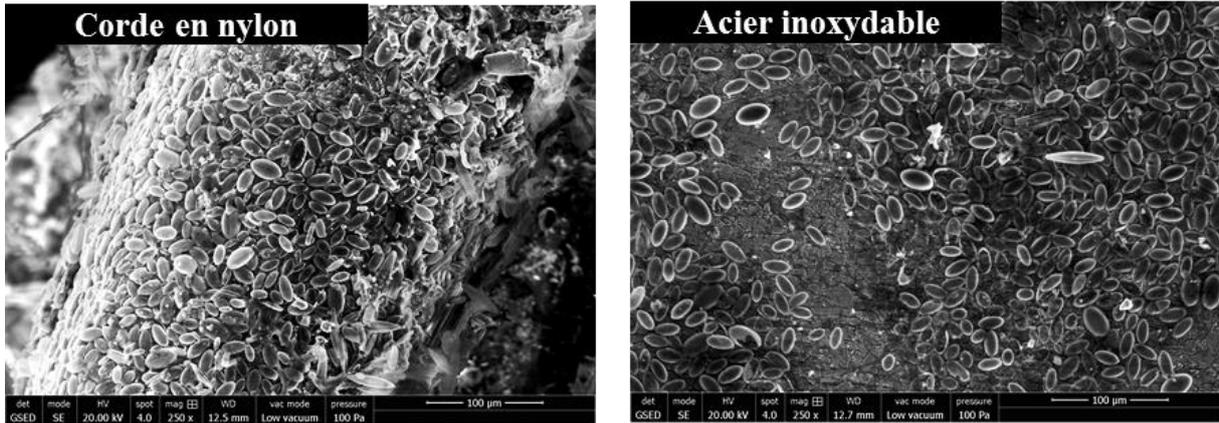


Figure IV-5 : Image MEB-PC d'échantillons de corde en nylon et d'acier inoxydable immergés 6 mois dans la Moselle,

Des analyses EDS ciblées sur l'encroûtement et sur la pâte de ciment (Figure IV-6), révèlent par différence une proportion plus faible de calcium et plus importante de silicium, d'aluminium et de potassium dans l'encroûtement. Le silicium peut être apporté pour partie par les frustules des diatomées. Rappelons en effet que ces derniers sont composés de silice opaline polymérisée hydratée, de formule $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, enchâssée dans la matrice organique (Debenest, 2007). Après la mort, cette silice peut alors potentiellement réagir avec la chaux issue de la matrice cimentaire (Fragoulis *et al.*, 2002).

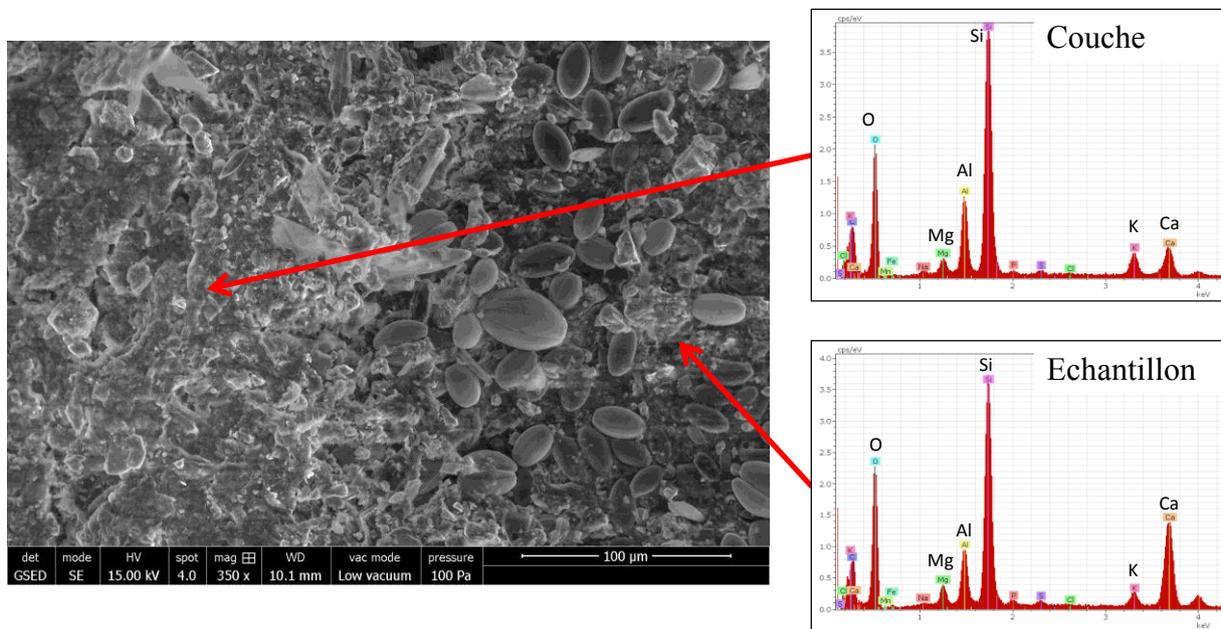


Figure IV-6 : Image MEB-PC et analyse EDS d'échantillon de CEM I β exposé 6 mois dans le milieu naturel.

Plusieurs études se sont intéressées à la réactivité des frustules des diatomées (Goudon *et al.*, 1997 ; Mechling, 2000). Le plus souvent ces recherches se sont intéressées à la réactivité de la terre de diatomée ou diatomite, roche sédimentaire formée par l'accumulation des tests siliceux (ou frustules) de diatomées. Selon les conditions de sédimentation, ces dépôts sont plus ou moins pollués par des lignites et des argiles (Bignot, 1982). En milieu très basique ($12 < \text{pH} < 13,5$), ces recherches ont montré que l'opale qui compose les frustules se dissout et passe en solution. En présence de chaux, l'opale dissoute réagit pour former des silicates de calcium hydratés (Goudon *et al.*, 1997).

Dans l'eau de Moselle, bien que le pH soit plus faible (7,91) les frustules en contact avec les pâtes de ciment (où le pH de surface est très probablement supérieur à 7,9) peuvent probablement aussi réagir avec la chaux lixiviée de la pâte de ciment, pour former des hydrates cimentaires (CSH...). Cette hypothèse pourrait expliquer pour partie le piégeage des frustules dans la couche de concrétion visible uniquement sur les échantillons de pâte immergés dans la Moselle, et leur partielle dissolution comme souvent observé au MEB (Figure IV-7).

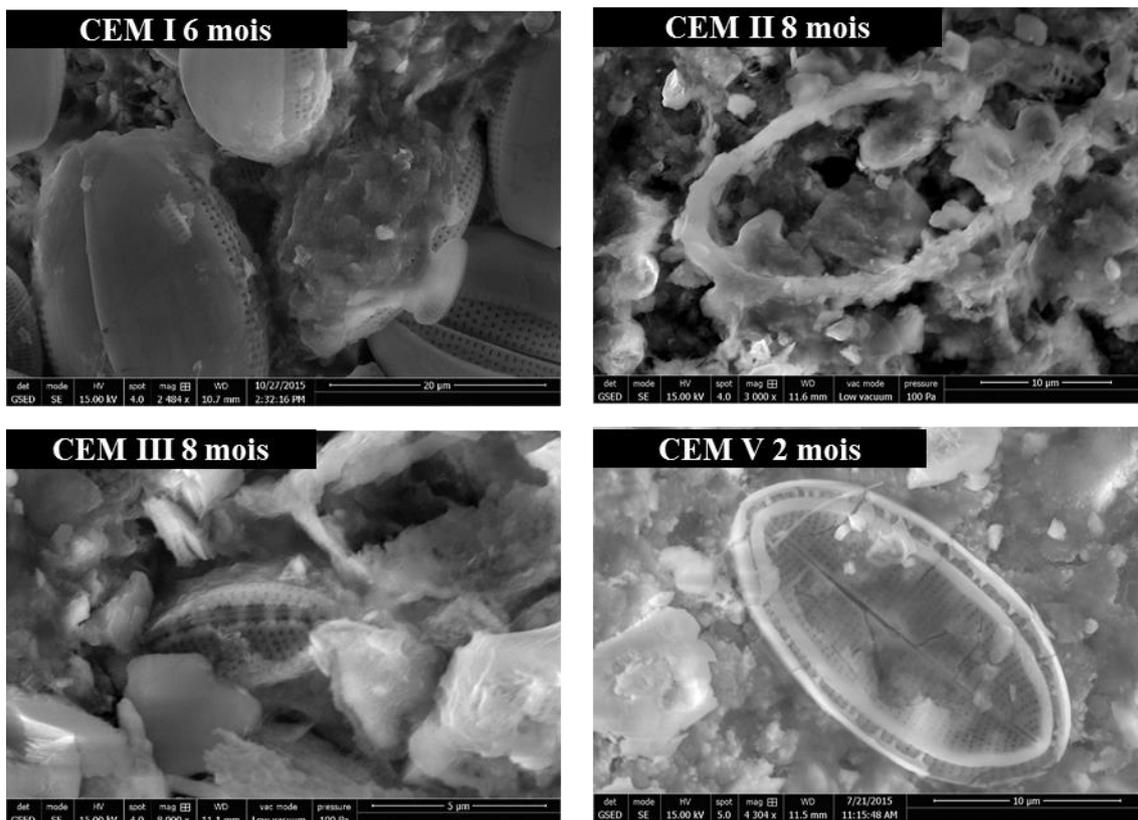


Figure IV-7 : Image MEB-PC de frustules de diatomée partiellement dégradés

Enfin, en milieu naturel, il a été très difficile d'estimer la densité de frustules déposée à la surface des échantillons, et d'en distinguer l'importance selon la nuance cimentaire, en raison de leur forte « immersion » dans la couche de concrétion minérale.

2.2. Interactions en milieu de culture

2.2.1. Colonisation

En laboratoire, les échantillons exposés au milieu de culture diatomées présentent des densités de cellules plus facilement caractérisables, différentes selon la nuance cimentaire considérée (Figure IV-8). L'estimation du nombre de diatomées par unité de surface est faite par comptage sur images MEB. Lorsque la colonisation est très importante, comme par exemple pour le CEM III, le chevauchement des diatomées rend l'exercice de comptage plus complexe et moins précis.

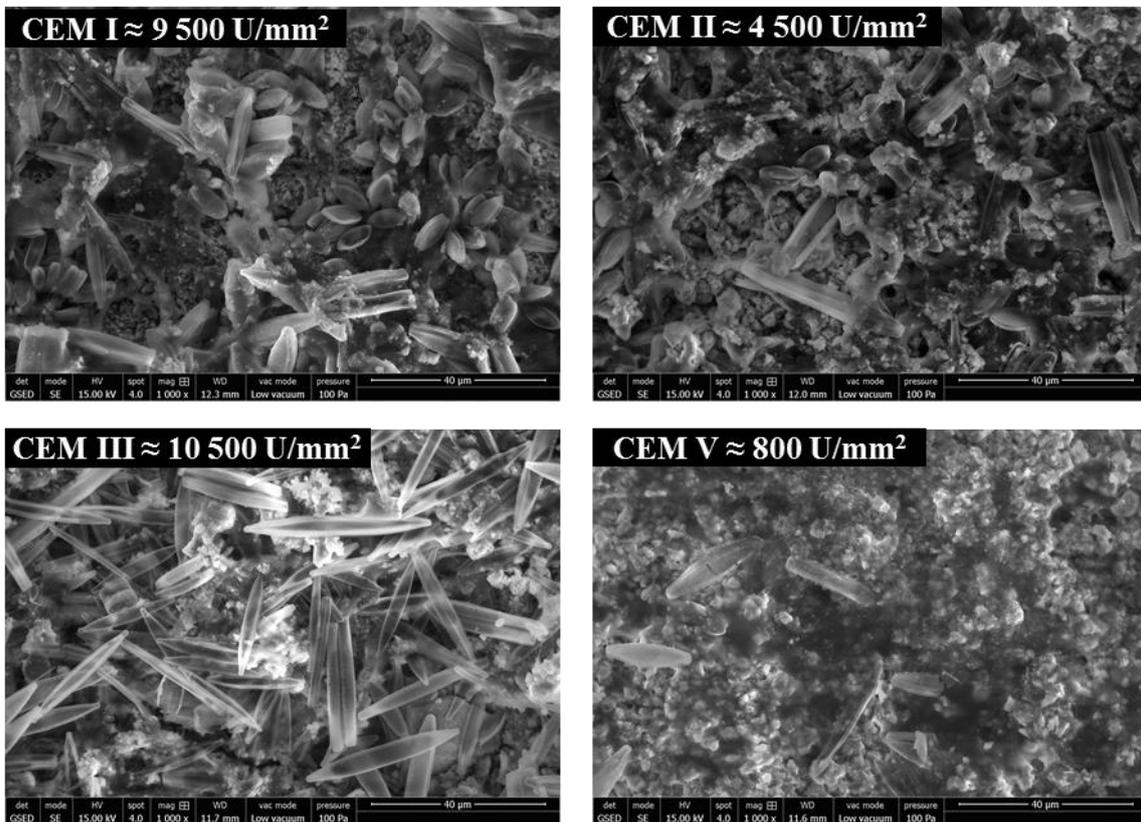


Figure IV-8 : Observations par MEB-PC de la surface des échantillons après 1 mois dans le bouillon de culture diatomée.

On note de fortes disparités de densité et de morphologie des cellules recouvrant la surface des échantillons, en fonction de la nuance cimentaire. Les échantillons de CEM I et de CEM III sont recouverts par d'importantes quantités de diatomées, qui, dans le cas des CEM I ($9\,500\text{ U/mm}^2$) sont principalement en forme d'amande de

petites tailles, alors que dans le cas du CEM III ($10\,500\text{ U/mm}^2$) elles sont plutôt allongées et fines. Les échantillons de CEM II sont moins colonisés ($4\,500\text{ U/mm}^2$) et les diatomées sont de tailles et de formes variées. Enfin, l'échantillon de CEM V présente la densité de cellule la plus faible, de l'ordre de 800 U/mm^2 .

Après 2 mois d'exposition, on observe une modification de la surface des échantillons, avec formation de concrétions minérales qui ont tendance à recouvrir les frustules. La Figure IV-9 présente, à titre d'exemple, des images MEB où des diatomées sont partiellement recouvertes par la formation minérale (plus claire sur les images).

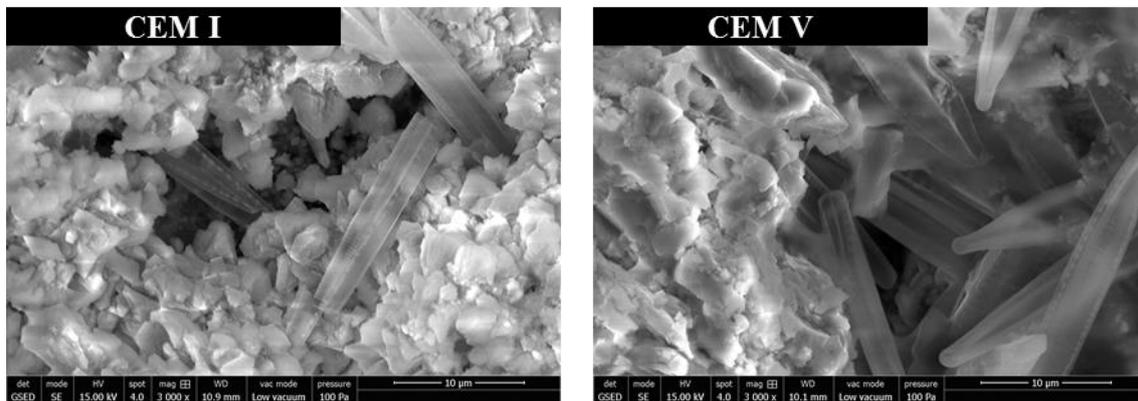


Figure IV-9 : Observations par MEB-PC de frustules de diatomées recouvertes par une couche, après 2 mois dans le bouillon de culture diatomée de laboratoire.

Les observations après 2 mois d'immersion révèlent aussi que la colonisation préférentielle de certaines nuances a évolué avec le temps (Figure IV-10). Ainsi, les échantillons les plus colonisés à 1 mois d'exposition (CEM I et CEM III) sont ceux qui possèdent à 2 mois la population la plus faible (respectivement 625 U/mm^2 et $1\,205\text{ U/mm}^2$)... A l'inverse, le CEM V présente, à 2 mois, la densité la plus élevée ($2\,320\text{ U/mm}^2$ contre 800 U/mm^2 à 1 mois). Quant à l'échantillon de CEM II, sa densité de population diminue de $4\,500\text{ U/mm}^2$ à un mois à $2\,565\text{ U/mm}^2$ à 2 mois

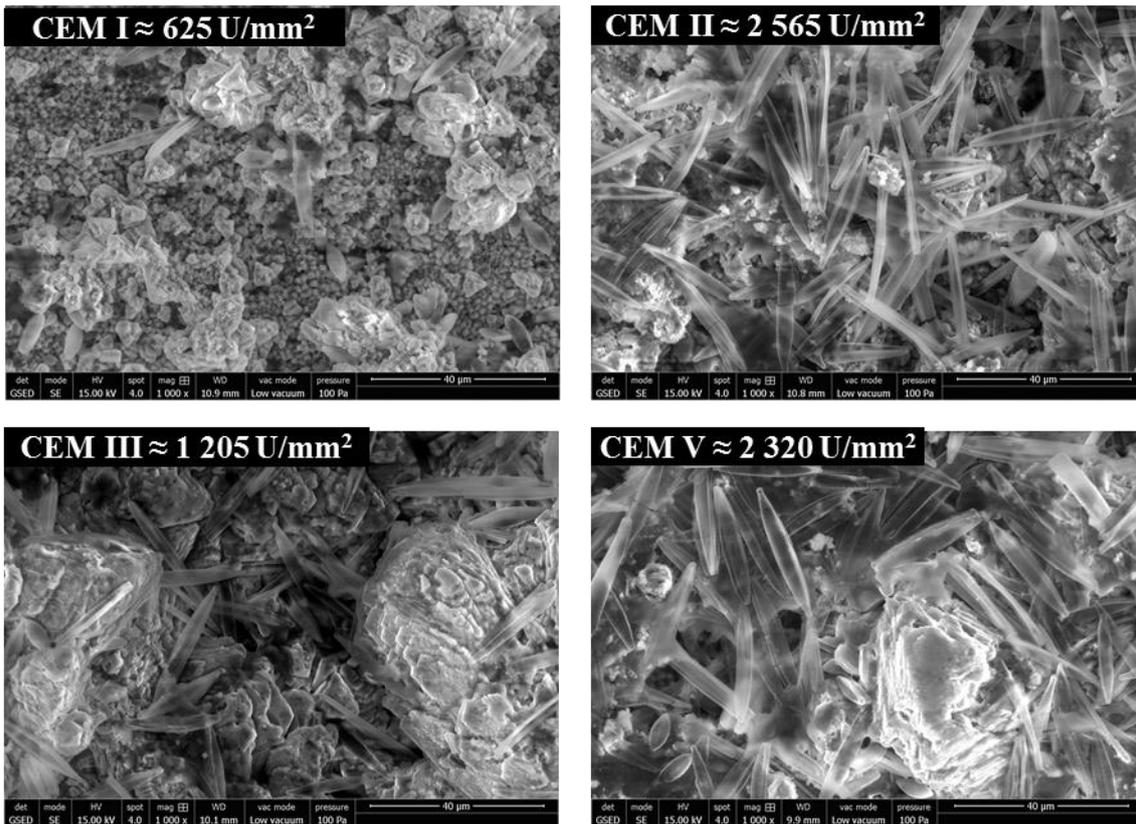


Figure IV-10 : Observations par MEB-PC de la surface des échantillons après 2 mois d'immersion dans le bouillon de culture diatomée de laboratoire.

Ces évolutions sont difficiles à expliquer... Sont-elles attribuables à l'évolution de l'état de surface des échantillons, induites par la présence des concrétions (et des frustules). Selon la nuance cimentaire, ces évolutions rendraient alors la surface des échantillons plus ou moins accueillante au cours du temps, pour les différentes variétés de diatomées.

2.2.2. Minéralogie de surface

Après 1 mois d'exposition dans le milieu de culture diatomée, l'analyse DRX montre que la surface des échantillons est majoritairement composée de calcite (Figure IV-11), quelle que soit la nuance cimentaire. Le diffractogramme du CEM V montre également la présence de vatérite et de quartz. Le squelette des diatomées (frustule), de par sa nature amorphe, n'est pas détectable par DRX. Mais il peut toutefois « masquer » les cristaux qu'il recouvre... Ce « écran » expliquerait les raies moins intenses de la calcite sur le diffractogramme du CEM III, l'échantillon le plus densément colonisé par les diatomées.

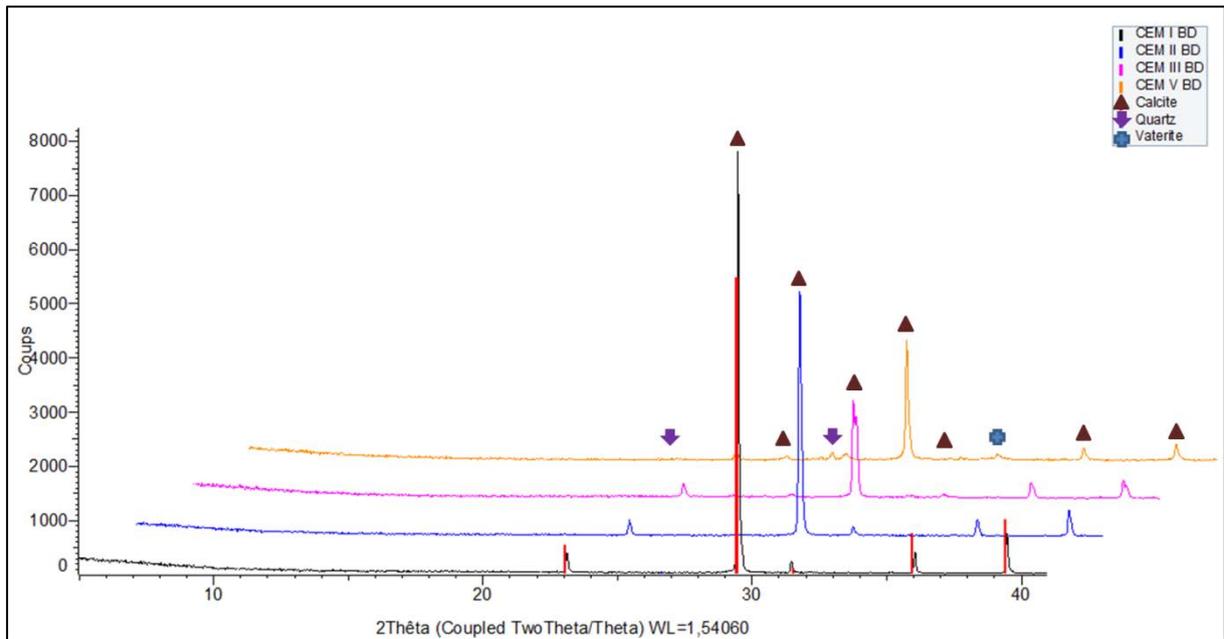


Figure IV-11 : Diffractogrammes X de la surface des échantillons de pâtes de ciment, après 1 mois d'exposition au milieu diatomée.

Après 2 mois d'immersion, l'analyse DRX (Figure IV-12) révèle que la surface des échantillons est uniquement composée de calcite, excepté pour l'échantillon de CEM I où des raies du quartz sont (encore) présentes. La couche de concrétion serait alors devenue assez épaisse pour isoler le matériau mère.

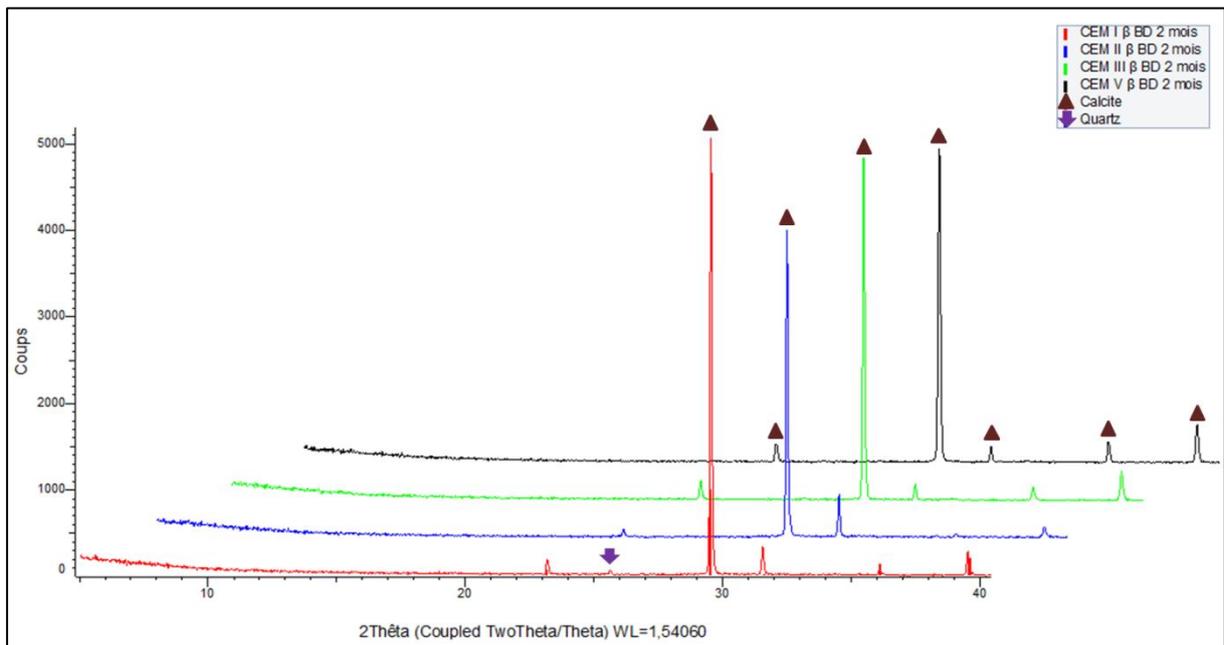


Figure IV-12 : Diffractogrammes X de la surface des échantillons de pâtes de ciment, après 2 mois d'exposition au milieu diatomée.

2.2.3. Porosité et structure poreuse

L'immersion dans le milieu diatomée induit des modifications de la porosité accessible à l'eau des échantillons (Figure IV-13). Après 1 mois d'exposition, la porosité chute de 15 points en moyenne (la porosité résiduelle se situant encore entre 10 et 15 %). Après 2 mois d'exposition, la porosité résiduelle tombe à environ 5%, quelle que soit la nuance considérée, ce qui correspond à une chute de 20 à 25 points de la porosité initial. Ce phénomène peut être dû à différents facteurs :

- chimique : le fort bullage à l'air des bouillons de culture de diatomée assure un apport constant de CO_2 dans le milieu favorisant ainsi la carbonatation des échantillons. Cette carbonatation conduit à la réduction des diamètres de seuil d'accès, voire au colmatage de la porosité (Ngala *et al.*, 1997).
- biologique : la pénétration dans les pores des métabolites, ainsi que des produits de détérioration de la matrice cimentaire, peuvent être responsables du colmatage de la porosité et donc d'une diminution de son accessibilité,
- physique : de par leur taille (quelque dizaines de micromètres), les frustules des diatomées peuvent se déposer dans les porosités ouvertes et ainsi les obturer.

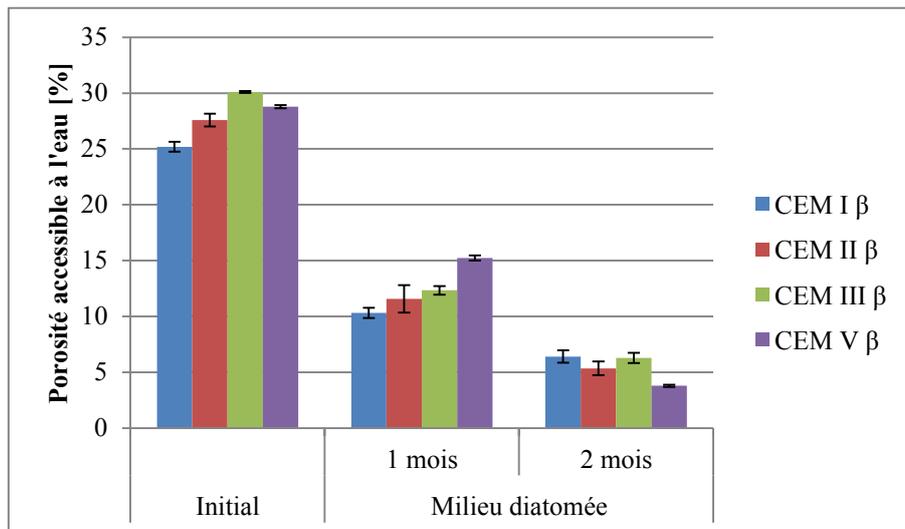


Figure IV-13 : Evolution de la porosité accessible à l'eau en fonction du temps dans le milieu diatomée

La Figure IV-14 présente, à titre d'exemple, les résultats d'imbibition capillaire des échantillons de CEM I avant et après 1 et 2 mois d'exposition dans le « bouillon diatomée ». En annexe C sont réunies toutes les courbes comparatives d'imbibition en fonction des nuances cimentaires. Les courbes montrent une lente prise de masse des échantillons immergés, comparativement à l'échantillon avant essai. De même, la pente des courbes en début d'essai est plus faible, ce qui traduit une diminution

conséquente du diamètre des capillaires en contact avec la surface d'essai. La stabilisation de la masse des échantillons immergés n'est pas atteinte après $230 \text{ min}^{1/2}$ (soit environ 40 jours) d'essais, contrairement à l'échantillon de référence où la masse se stabilise (à une valeur élevée) après $180 \text{ min}^{1/2}$ (soit environ 22 jours d'essais). Ces constats montrent que le réseau poreux se complexifie ou s'obstrue (seuils d'accès) avec le temps d'immersion.

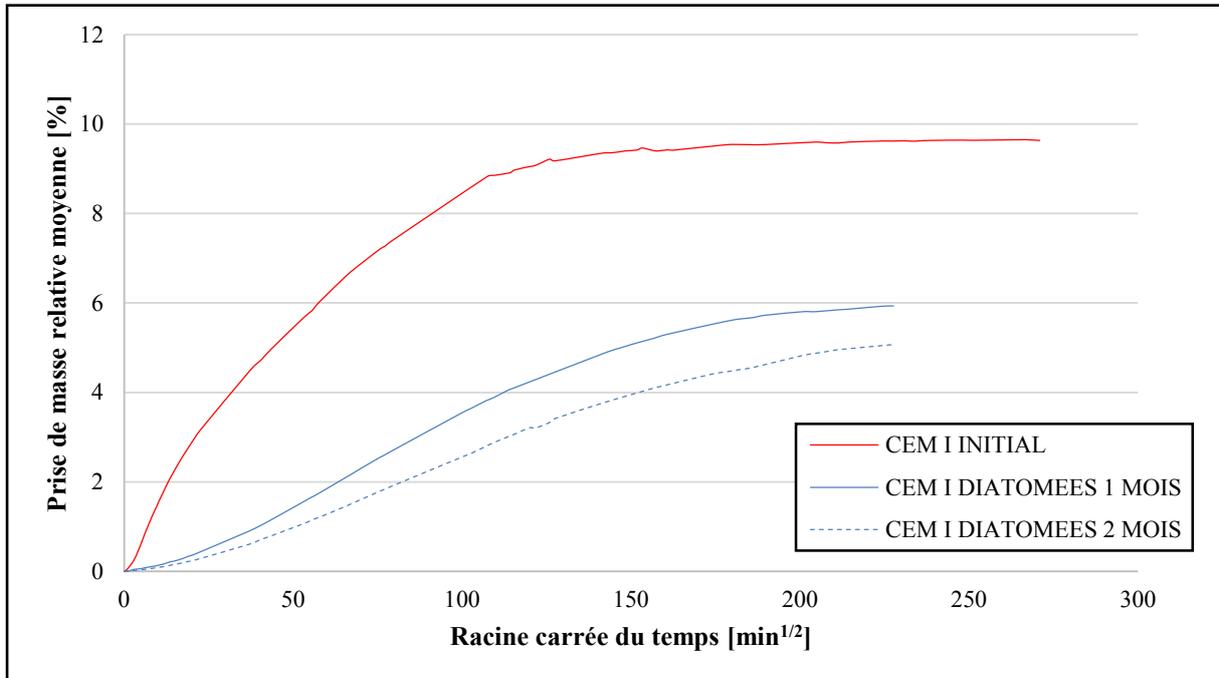


Figure IV-14 : Prise de masse relative en fonction de la racine carrée du temps des échantillons de CEM I β initial et immergés 1 et 2 mois dans le bouillon diatomée

La Figure IV-15 rassemble l'ensemble des courbes de prise de masse par imbibition capillaire des échantillons après qu'ils aient été placés 1 et 2 mois dans le système d'incubation. La différence constatée précédemment se retrouve quasi-systématiquement (excepté pour l'échantillon de CEM II). La prise de masse après 2 mois d'exposition est plus faible et plus lente qu'après 1 mois d'exposition.

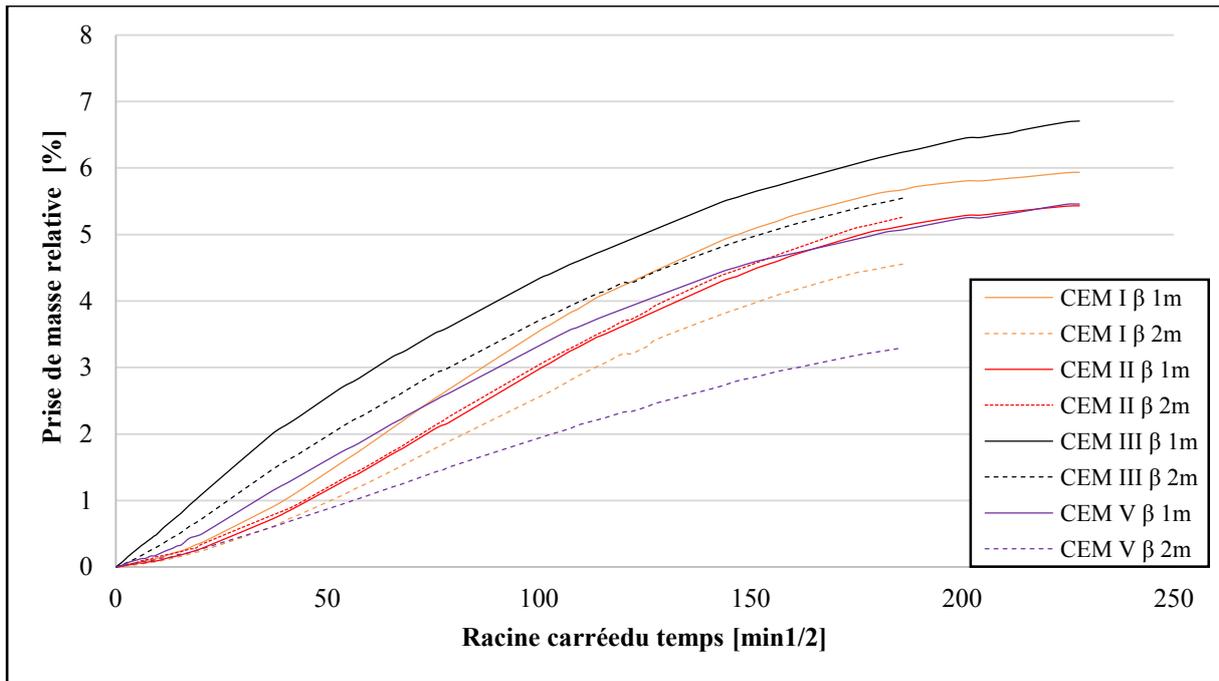


Figure IV-15 : Prise de masse relative en fonction de la racine carrée du temps des échantillons immergés 1 et 2 mois dans le bouillon diatomée

3. Synthèse

Les essais menés en laboratoire ont permis de montrer tout d'abord qu'après un mois d'immersion, tous les échantillons sont rapidement colonisés par les diatomées, excepté l'échantillon de CEM V. Il existe cependant des différences de densité et de morphologie des diatomées, qui peuvent être reliées à différentes hypothèses. Il est fait référence ici à la théorie du point d'attachement liée à la topographie de surface (Miller *et al*, 2012 ; Tran, 2011 ; Ben Ahmed, 2016) et/ou à celle de l'influence de la minéralogie sur la colonisation (Krejci et Lowe, 1986).

La théorie du point d'attachement repose sur le fait que la topographie de surface et les aspérités présentes fournissent des points d'attaches particuliers aux microorganismes (Miller *et al*, 2012 ; Tran, 2011). Cette notion de point d'attachement est aussi tributaire de la forme et de la taille des cellules. La Figure IV-16 donne une illustration de cette théorie.

Les analyses de la rugosité de surface des échantillons ont montré que celle-ci est principalement composée de plateaux et de rayures ($R_{sk} < 0$) avec des sommets éloignés ($R_{ku} > 3$). Les plateaux vont former des plus longues surfaces de contacts entre l'échantillon et la diatomée comme c'est le cas Figure IV-16 (c) si la cellule a une taille adaptée à l'espacement entre des sommets, les aspérités vont former des butées comme c'est le cas Figure IV-16 (b).

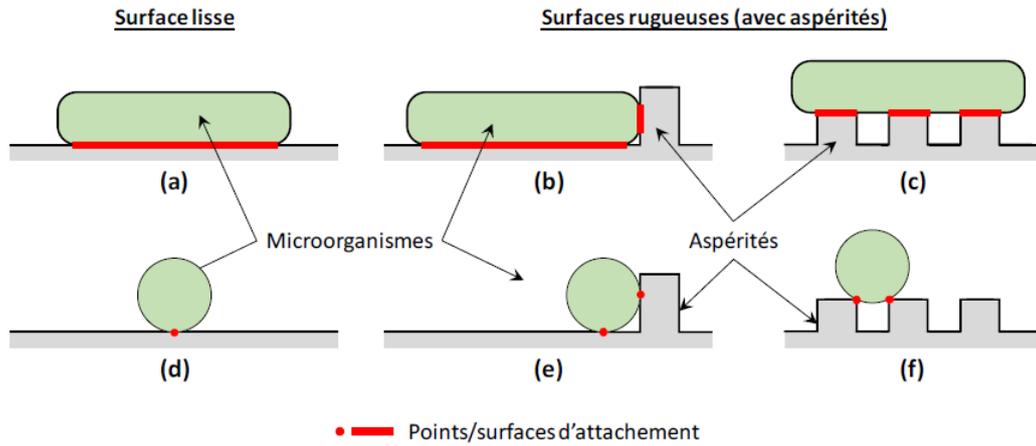


Figure IV-16 : Illustration de l'influence des aspérités sur les points d'attache (Ben Ahmed, 2016)

La Figure IV-17 présente la relation entre la densité de diatomées et les différents paramètres de rugosité. Un lien semble apparaître entre population de diatomées et les paramètres Rku et Rsk . Elle validerait l'hypothèse de la théorie du point d'attache...

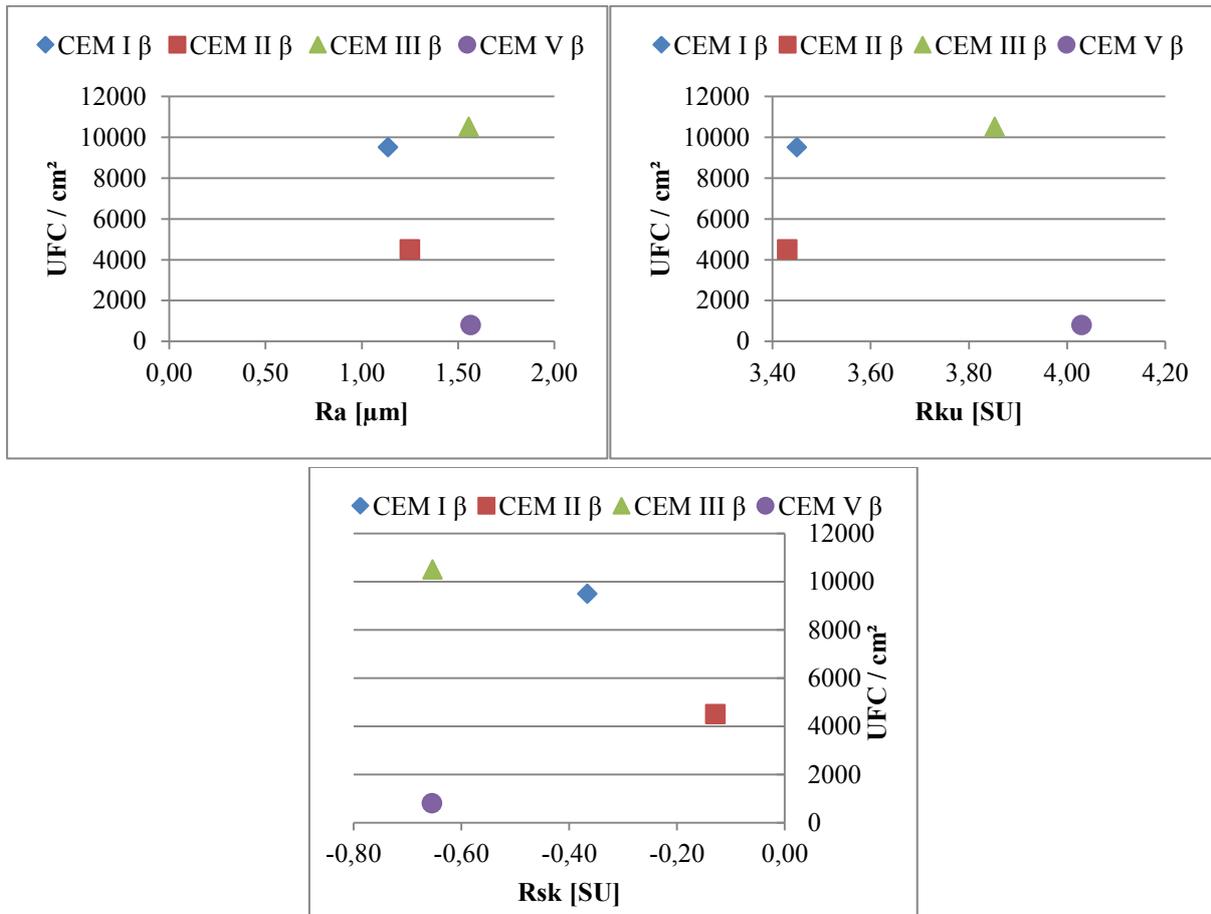


Figure IV-17 : Densité de diatomée par unité de surface en fonction des paramètres de rugosité

Toutefois, du point de vue de la colonisation, l'échantillon de CEM V fait exception (population à 1 mois ≈ 800 U/mm²) car ses paramètres de rugosité en font, a priori, l'échantillon le plus propice à la colonisation par les diatomées (Rku et Rsk les plus élevés). Cette contradiction suggère que la théorie du point d'attache ne serait pas suffisante pour expliquer la colonisation des surfaces cimentaires par les diatomées. Les travaux menés par Krejci et Lowe (Krejci et Lowe, 1986) sur la colonisation de grain de sable de différentes natures par les diatomées ont montré que la minéralogie avait une influence sur la proportion de diatomées présentes à leur surface. Dans cette étude, trois sables de nature minéralogique différentes ont été étudiés : grains de quartz, grains de feldspaths et grains d'hornblende (silicate de la famille des amphiboles). Aucune différence n'a été observée entre la colonisation des grains de quartz et de feldspaths (colonisation importante), alors que ceux d'hornblende n'étaient que rarement colonisés par les diatomées. La nature minéralogique joue donc bien un rôle sur la colonisation des supports par les diatomées. Ce résultat peut alors être rapproché de la faible proposition de cellules à la surface de l'échantillon de CEM V après 1 mois d'essai. En effet, les échantillons de CEM V sont les seuls formulés à base de ciment composé de cendre volante.

Les deux hypothèses peuvent également s'appliquer aux différences de colonisation observées à 2 mois d'essais. Les modifications physico-chimiques de la surface des échantillons auraient rendu cette dernière moins propice à la colonisation. La Figure IV-18 présente des images MEB des échantillons de CEM I et CEM III. On y observe des différences de topographie de surface importantes, avec une partie sombre correspondant à la pâte et des zones plus claires attribuées à la calcite identifiée par DRX. On peut observer une colonisation préférentielle, par les diatomées, dans la phase sombre, au détriment des phases claires. Les zones de cristallisations secondaires présentent une topographie plus irrégulière (comme Figure IV-16 (c)) par rapport à l'échantillon qui semble plus lisse (comme Figure IV-16 (a) (b)) ce qui réduit les surfaces de points d'attache pour les diatomées. La différence de minéralogie entre les formations de calcite et l'échantillon peut également expliquer cette différence de colonisation.

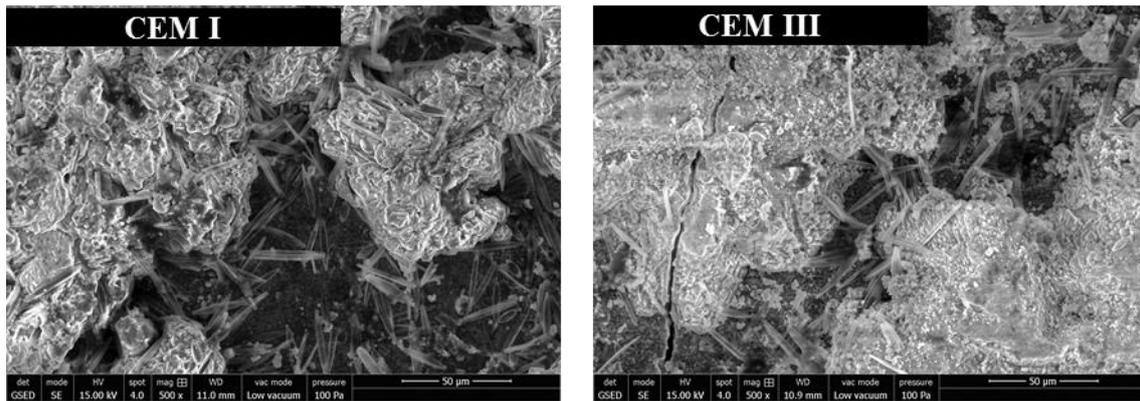


Figure IV-18 : Observations par MEB-PC illustrant la colonisation préférentielle des diatomées après 2 mois dans le bouillon de culture diatomée de laboratoire.

Les propriétés de surface et leurs évolutions dans le temps jouent un rôle important pour la colonisation par les diatomées. Ces évolutions sont dues à la carbonatation de la pâte de ciment favorisée par le bullage constant du milieu de culture, à la lixiviation de la franche périphérique des échantillons, et à la présence des diatomées qui semblent jouer un rôle sur l'évolution de la porosité des échantillons. En effet, la Figure IV-19 présente l'évolution de la porosité rapportée à la porosité initiale en fonction de la densité de diatomées colonisant la surface des échantillons après 1 mois dans le milieu de culture. L'échantillon le moins colonisé (CEM V ≈ 800 U/mm²) présente la baisse de porosité accessible à l'eau la plus faible (diminution de 47% de la porosité initiale), alors que les échantillons de CEM I (9 500 U/mm²) et de CEM III (10 500 U/mm²) ont une diminution relative de porosité de 59%.

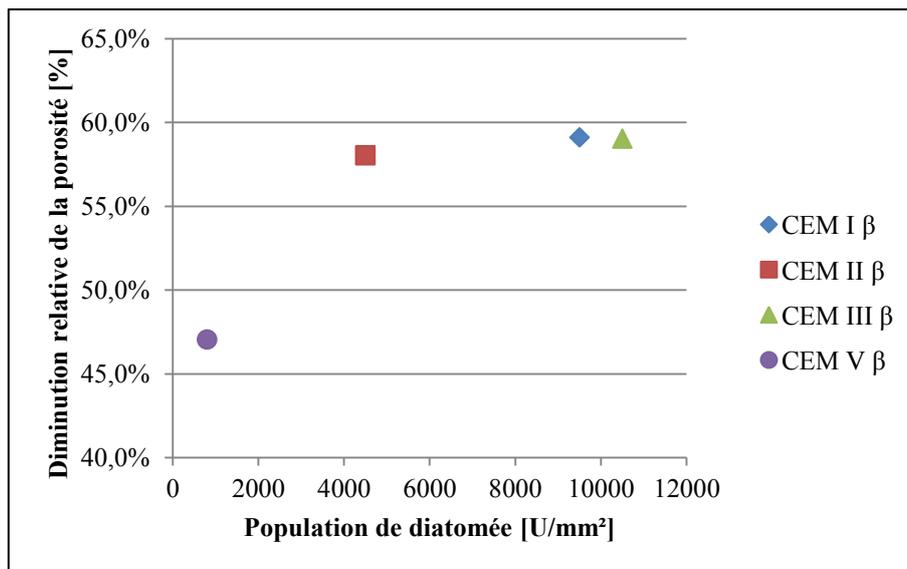


Figure IV-19 : Diminution relative de la porosité par rapport à la densité de diatomée après 1 mois de culture

Les mêmes observations peuvent être faites sur l'évolution de la porosité des échantillons placés dans le bouillon entre 1 et 2 mois. La Figure IV-20 compare l'évolution de la porosité entre 1 et 2 mois de culture rapportée à la porosité à 1 mois, à l'évolution de la population entre les deux échéances. L'échantillon de CEM V est le seul à avoir une augmentation de population de diatomées (de ≈ 800 à ≈ 2320 U/mm²), alors qu'il présente la plus forte diminution de sa porosité (75% par rapport à la porosité à 1 mois). Pour les autres nuances cimentaires, la densité de cellules diminue entre les deux échéances (-8875 U/mm² et -9295 U/mm² pour les échantillons de CEM I et CEM III, respectivement), alors que la porosité baisse relativement moins que pour le CEM V.

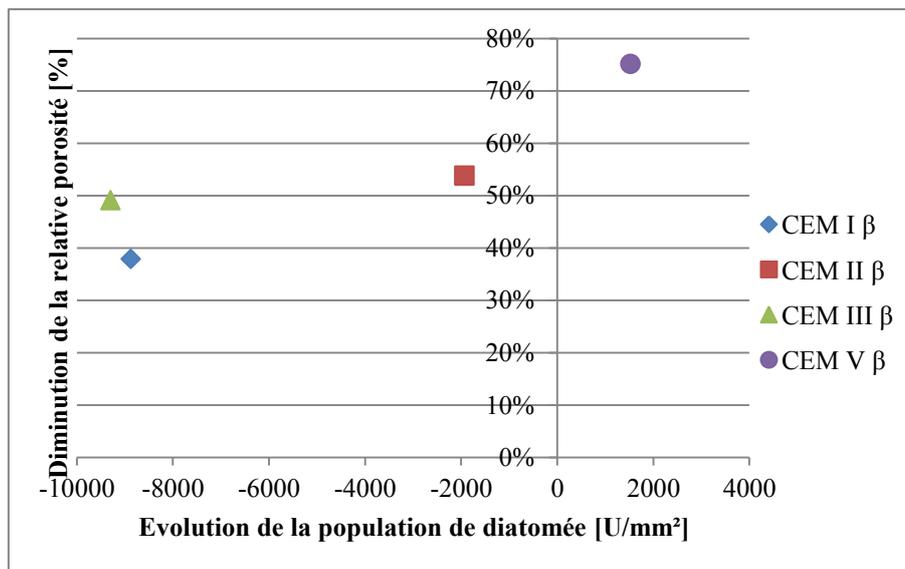


Figure IV-20 : Diminution relative de la porosité par rapport à l'évolution de la population de diatomée entre 1 et 2 mois de culture des échantillons β

Le même lien peut être établi entre l'évolution du réseau poreux, entre 1 et 2 mois de culture, et la proportion de diatomées colonisant la surface des échantillons. L'échantillon de CEM V présente une prise de masse importante entre 1 et 2 mois d'essais (Figure VI-21), alors que les échantillons de CEM I et CEM III, à l'instar de la porosité, présentent une évolution plus modérée. L'échantillon de CEM II ne montre que peu de différences, tant au niveau de l'imbibition que de la porosité. Le fait que la courbe de prise de masse des échantillons de CEM II change peu montre que la géométrie et la connectivité de la structure poreuse évoluent peu dans le temps, mais que seuls les accès à la porosité se bouchent et entraînent une diminution de la valeur de porosité.

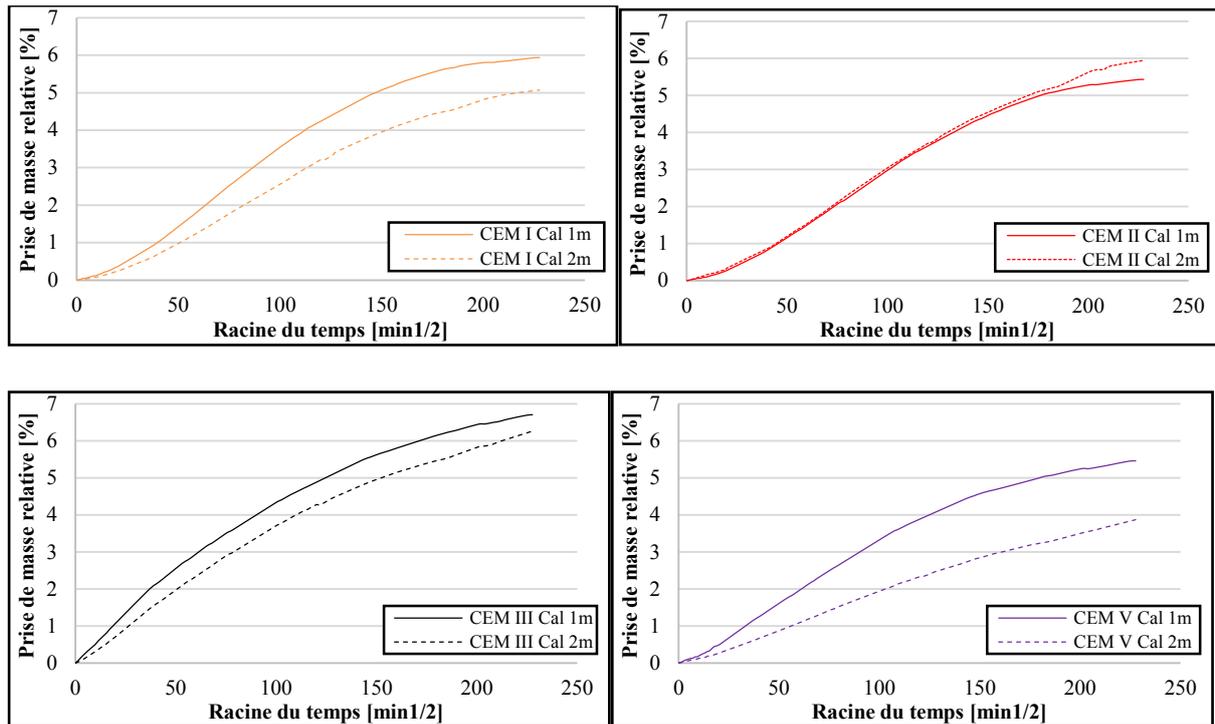


Figure VI-21 : Prise de masse relative en fonction de la racine carrée du temps des échantillons β immergés 1 et 2 mois dans le bouillon diatomée

L'effet des diatomées sur les propriétés de porosités et d'imbibition des pâtes cimentaires peut être de nature :

- biologique : la pénétration dans les pores des métabolites peut provoquer leur colmatage et réduire la porosité
- physique : de par leurs petites tailles (quelque dizaines de microns), les frustules des diatomées peuvent se déposer dans les pores ouverts et les combler partiellement.

4. Conclusion

Les travaux entrepris ont montré que les diatomées colonisaient assez rapidement la plupart des supports qu'elles rencontraient, tant en milieu naturel qu'en laboratoire, avec des affinités qui pouvaient varier, a priori selon la morphologie de surface et la nature chimique du support.

Par ailleurs, sur les échantillons de pâte de ciment immergés dans la Moselle, les frustules s'intègrent à l'encroutement qui se forme à la surface. De par leur nature amorphe, ils sont alors potentiellement réactifs et participent pour certaines à la formation de cette couche secondaire (attaque, dissolution...). Des analyses EDS comparatives de cette couche et de l'échantillon sain montrent qu'elle est plus riche en

silicium et plus pauvre en calcium. Ce constat va dans le sens d'une réaction des frustules avec la pâte cimentaire et de leur association minéralogique à la formation de cette couche secondaire.

En laboratoire, après 1 mois d'immersion dans un milieu de culture spécifique, les échantillons immergés sont aussi recouverts par les diatomées, principalement les échantillons de CEM I et CEM III, mais la formation de la couche secondaire n'est pas observée. La colonisation préférentielle du CEM I et du CEM III est attribuée à la rugosité de surface de ces nuances. Après 2 mois dans le bioréacteur, la surface des échantillons montre l'apparition d'une cristallisation secondaire qui tend, comme dans le milieu naturel, à recouvrir les diatomées. Les cristaux identifiés par l'analyse DRX sont de la calcite, qui résulte de l'apport constant de CO₂ (solubilisé) dans le milieu dû au fort bullage imposé. La présence combinée des diatomées et de la calcite à la surface des échantillons engendre alors une forte diminution de la porosité et modifie significativement la structure poreuse, du moins sur la périphérie des échantillons. Même si l'action des diatomées n'est pas clairement établie, ces résultats montrent qu'elles ont une influence très probable sur les modifications minéralogiques et physiques qui se produisent à la surface des pâtes de ciment immergées.

Chapitre V :

Les bétons du barrage Méréville

La France métropolitaine est riche de près de 625 000 km de cours d'eau autour et dans lesquels ont été construits de nombreux ponts, barrages, passe à poissons, centrales hydroélectriques et autres ouvrages en béton.

Ce chapitre s'intéresse plus particulièrement au barrage de Méréville, site d'immersion des échantillons. Cet ouvrage a été construit en plusieurs phases (structure initiale reconstruite après la seconde guerre mondiale, vanne de crue et microcentrale électrique construites en 1987, mise aux normes de la passe à poissons réalisée en 2006) et ses bétons sont soumis à différentes conditions hydriques (totalement immergés, zone de marnage, à l'air).

1. Prélèvements réalisés sur le barrage

Les prélèvements ont consisté en des carottages de 4 à 5cm de profondeur et 3 à 4cm de diamètre, en différents endroits de l'ouvrage. Ils ont permis d'étudier l'état des bétons et d'analyser l'influence des microorganismes.

Différentes zones ont été retenues en fonction de l'âge des bétons. Pour chacune, deux ou trois prélèvements ont été réalisés sur le béton toujours immergé (par une équipe de plongeurs spécialisés), sur les bétons sans contact direct avec l'eau (dans l'air) et sur le béton situé dans la zone de marnage. Le repérage des zones de prélèvement est donné sur la Figure V-22. Elles se situent :

- sur la partie amont de l'échelle à poissons, au droit de la zone d'immersion des paniers contenant les échantillons fabriqués en laboratoire (Repère 1). Les prélèvements immergés ont été réalisés à une profondeur de -2 m, au même niveau que les paniers immergés. Il s'agit du béton de l'ouvrage initial (le plus vieux),
- dans l'une des piles latérales de la vanne de crues, en amont, sous l'eau, pour étudier des bétons continuellement immergés (Repère 3). Le prélèvement de l'échantillon immergé a été réalisé à environ -2m. L'échantillon dans la zone de marnage a été réalisé au même niveau que les échantillons dans l'eau. Cette procédure permet de s'assurer que ces différents échantillons sont issus du même béton (composition, date de fabrication, etc.).
- sur la partie la plus récente de l'échelle à poissons, en aval du barrage (Repère 2). Le prélèvement immergé été réalisé à environ -1m de profondeur, ceux dans l'air et dans la zone de marnage ont été réalisés dans un même élément (même phase de coulage).

Les prélèvements ont été conservés dans des boîtes stériles hermétiques.



Figure V-22 : Zones de carottage sur le barrage de Méréville

2. Analyse microbiologique

Après récupération, les carottes ont été fendues sous atmosphère stérile en quatre quartiers. Deux des quartiers ont servi à constater la présence ou l'absence de bactéries dans la profondeur à partir d'éclats prélevés tous les centimètres environ. Ces prélèvements ont été placés dans des pots stériles remplis de bouillons de culture générale bactérienne. Les deux autres quartiers ont servi à des analyses chimiques (pH) et aux observations MEB réalisées sur tout le profil de profondeur.

Après 3 jours de culture, la présence de bactéries a été constatée sur toutes les carottes. Cependant, leur présence n'est pas détectée sur toute la profondeur. En effet, elle varie selon le béton (âge) et l'exposition, comme indiqué dans le Tableau V-IV. A noter que parfois des bactéries ont été détectées sur la base des carottes, alors qu'elles sont absentes à des profondeurs moindres. Dans ce cas, cette présence n'a pas été considérée car attribuée à une pollution accidentelle lors du carottage.

Pour les bétons immergés en permanence, on constate, comme déjà rapporté par Guillitte et Gomes (Guillitte, 1995b ; Gomes, 2014) que tous les bétons sont colonisés en surface par des bactéries. Nos observations montrent cependant que les bétons sont aussi colonisés plus en profondeur, puisque l'on retrouve des bactéries sur le premier centimètre (voire 2 cm pour la passe à poissons aval). Selon Leeman (Leeman, 2010b) la couche de calcite générée par la biolixiviation des matériaux

cimentaires est peu poreuse. Elle limiterait alors la colonisation des zones plus profondes.

Pour les bétons prélevés en zone de marnage, on constate qu'ils sont colonisés par les bactéries sur toute leur profondeur. Les conditions hydriques particulières de cette zone engendrent une succession d'humidification et de séchage des bétons, qui à priori n'est pas favorable à la formation de la couche superficielle de calcite. Les bactéries pénètrent alors plus profondément dans la porosité ouverte du béton, profitant de la succion capillaire en phase d'humidification et stoppant leur progression en phase sèche (entrée en état végétatif). Ce régime expliquerait alors la non formation de la couche de calcite attribuée aux phénomènes de biodégradations et biolixiviation.

Pour les bétons prélevés dans l'air, on constate des profondeurs de colonisation différentes en fonction de la zone de prélèvement (âge). On attribue ces différences à des différences de porosité des bétons, une porosité plus importante permet plus facilement l'intrusion des bactéries (Barberousse, 2007 ; De Belie, 2004).

Zone du barrage	Condition d'exposition	Profondeur [cm]
Passe à poissons amont	eau	1
	air	3
Vanne de crue	eau	1
	zone de marnage	4
Passe à poissons aval	eau	2
	zone de marnage	4
	air	1

Tableau V-IV : Profondeur à partir de laquelle les bactéries ne sont plus détectées.

3. Analyses MEB

Les observations MEB-PC faites sur les quartiers issus des carottages pratiqués sur le barrage de Méréville révèlent :

- la présence de bactéries sur le premier centimètre du prélèvement réalisé sur la vanne de crue dans l'eau (Figure V-23).

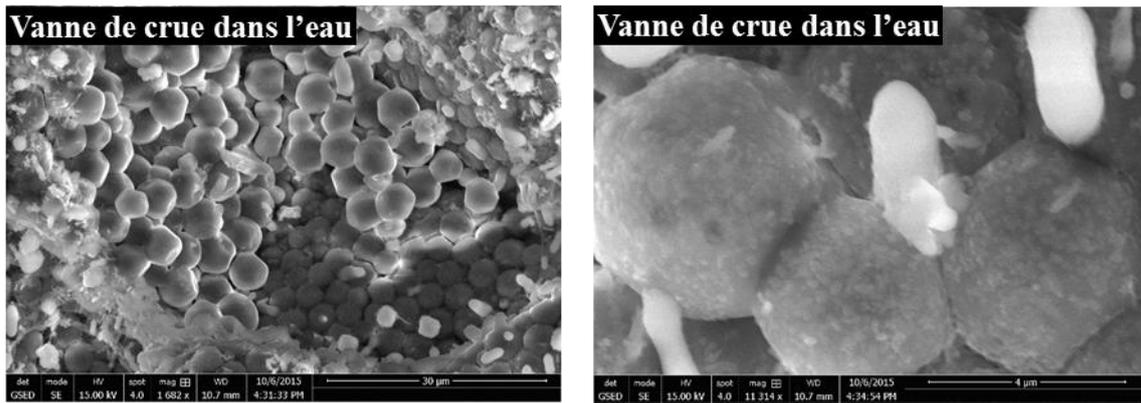


Figure V-23 : Images MEB-PC du prélèvement de béton réalisé sur la vanne de crue dans l'eau, observation d'une tranche sciée

- la présence abondante de diatomées à la surface du prélèvement réalisé sur la passe à poissons aval dans l'eau. La Figure V-24 présente des images MEB-PC de ce prélèvement où l'on observe une forte présence des diatomées, comparable à celle observée à la surface des échantillons de pâte de ciment immergés dans la Moselle et dans le milieu de culture diatomées (Chapitre IV, paragraphes 2.1 et 2.2).

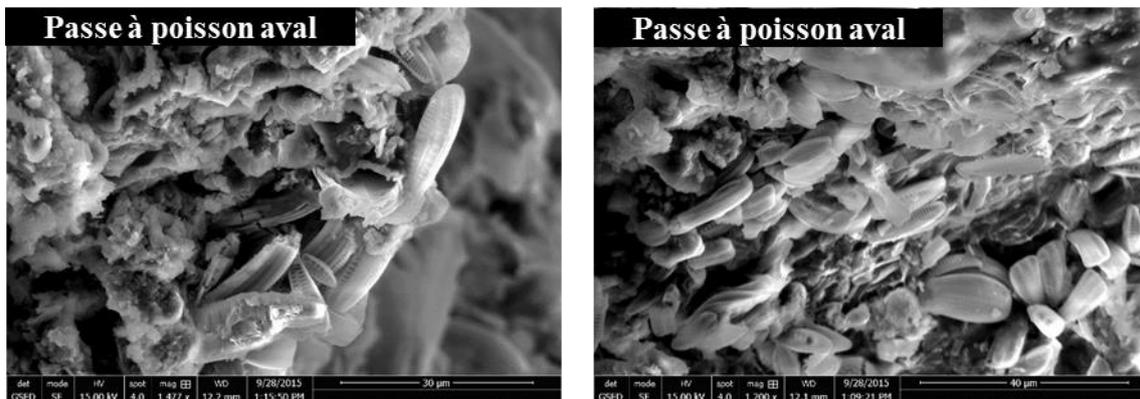


Figure V-24 : Images MEB-PC du prélèvement de béton réalisé sur la passe à poissons dans l'eau, observation d'une tranche sciée

- la présence d'une couche de frustules de diatomées recouvertes par une couche secondaire, sur les prélèvements de la passe à poissons réalisés dans la zone de marnage. Sur la Figure V-25, on observe, de gauche à droite, l'échantillon, les frustules de diatomées et une couche secondaire en contact avec le milieu. Cette observation corrobore l'hypothèse du recouvrement des diatomées par une couche secondaire, comme déjà observé sur les échantillons de pâtes immergés dans la Moselle (Chapitre IV, paragraphes 2.1 et 2.2). Les frustules sont souvent fracturés (preuve de la mort des diatomées),

sans pour autant être particulièrement dégradés. En revanche, ceux présents dans la couche la plus superficielle sont souvent détériorés (dissouts ?), comme observé sur les échantillons de pâte immergés dans le milieu naturel (Chapitre IV, paragraphes 2.1).



Figure V-25 : Images MEB-PC du prélèvement de béton réalisé sur la passe à poissons dans la zone de marnage, observation d'une tranche sciée

4. Carbonatation / biolixiviation des bétons du barrage

Comme présenté dans le chapitre I, la carbonatation des échantillons constitue un conditionnement de surface nécessaire à leur colonisation par des microorganismes. C'est pourquoi des mesures de profondeur de carbonatation ont été réalisées sur les tranches de carotte avec un indicateur coloré (phénolphthaléine). Cet indicateur vire au violet quand le pH dépasse 9,2 (reste incolore pour une valeur de pH inférieure). Le Tableau V-V présente les profondeurs de changement de pH des différents prélèvements de béton. Pour tous, il se manifeste dès les premiers millimètres, et les différences sont reliées à l'âge des bétons, quelque que soit la zone de prélèvement (conditions d'exposition). Dans le détail :

- entre 4 et 5 mm pour la partie amont de l'échelle à poissons (re)construite après la seconde guerre mondiale,
- entre 2 et 3 mm pour les bétons de la vanne de crue construite en 1987,
- 2 mm pour les échantillons de béton de l'échelle à poissons aval, construite en 2006. Seul le prélèvement dans l'air fait exception en présentant une profondeur

de carbonatation de l'ordre de 10mm. Ce phénomène peut sans doute être relié à la nature du ciment composant ce béton, qui est un CEM III (archives MGN). Cette nuance à la réputation d'avoir une vitesse de carbonatation élevée (Osborne, 1986). Les conditions environnementales – alternance de séchage et d'humidité – sont réputées favorables à la carbonatation rapide de ce type de béton (Ollivier, 2008).

Prélèvement		Profondeur de changement de pH [mm]
Echelle à poissons amont	Dans l'eau	5
	Dans l'air	4
Vanne de crue	Dans l'eau	2
	Zone de marnage	3
Echelle à poissons avale	Dans l'eau	2
	Zone de marnage	2
	Dans l'air	10

Tableau V-V : Profondeur de changement de pH des prélèvements de béton

5. Analyse et conclusion

Les observations faites sur les prélèvements de béton réalisés sur le barrage de Méréville tendent à confirmer certaines hypothèses posées dans les chapitres III et IV.

Hypothèses de l'action des bactéries sur la pâte de ciment.

La diminution du pH de surface observée sur tous les prélèvements peut être dû à :

- la carbonatation naturelle des bétons pour les prélèvements dans l'air et dans la zone de marnage ; la carbonatation engendre une diminution de pH (Thiery, 2005),
- la biolixiviation de la matrice cimentaire lorsqu'elle est immergée, qui engendre également une diminution du pH à 8,5 de la zone lixiviée, comme signalé par Leeman et al. (Leeman et al. 2010a).

Cette hypothèse est cohérente avec nos essais biologiques et nos observations MEC-PC, qui ont révélé la présence de bactéries à la surface et dans tous les prélèvements de bétons.

Hypothèses de l'action des diatomées.

Les observations MEB-PC faites sur les prélèvements de béton issus du barrage tendent à confirmer que les diatomées recouvrent rapidement la surface des matériaux cimentaires exposés en milieu aquatique et en zone de marnage ; et qu'elles sont ensuite recouvertes par une formation secondaire, comme décrit dans le chapitre IV.

La présence d'une couche de frustules de diatomées simplement brisés et non dissouts sous cette couche secondaire n'est apparemment pas cohérente avec l'hypothèse du chapitre IV qui suggère que leur dissolution est liée à leur proximité avec la pâte de ciment saine. Dans le cas de ces échantillons, la couche secondaire recouvrant la couche de frustules, apparemment compacte et donc peu poreuse, pourrait limiter le passage de l'eau et des réactifs potentiels présents dans le milieu, empêchant ainsi la dissolution des frustules

La présence de frustules partiellement dissouts dans la couche secondaire peut ainsi :

- être issus du dépôt de frustules partiellement dissouts présent dans le milieu, déposés pendant la formation de cette couche.
- être issus du dépôt de cellules vivantes sur cette couche puis dégradées du fait de la physico-chimie de cette dernière.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Dans le but d'étudier l'influence des micro-organismes présents dans une eau douce naturelle sur les matériaux cimentaires, des échantillons de pâte de ciment formulés avec 7 nuances différentes de ciment ont été immergés dans différents milieux.

Les phénomènes de vieillissement des matériaux bio-induits sont des processus complexes, dépendants de nombreux paramètres et qui évoluent avec le temps. Les paramètres d'influence sont liés à la fois au matériau, au milieu et aux microorganismes. En milieu naturel ouvert, les phénomènes de biodégradation des matériaux cimentaires sont lents et généralement combinés à d'autres types et facteurs d'altérations et de dégradations. De ce fait, l'utilisation de milieux de culture en laboratoire est nécessaire pour isoler et accélérer les développements biologiques. Toutefois, il n'est pas possible de recréer en laboratoire la complexité de la flore microbienne naturelle, c'est pourquoi il est important de comparer les résultats obtenus en laboratoire avec des observations *in-situ*.

Ainsi, différents lots d'échantillons ont été immergés, pour une durée de 18 mois, dans le milieu naturel, au niveau du barrage de Méréville sur la Moselle.

Parallèlement, des échantillons ont été immergés, 1 et 2 mois, dans des milieux contrôlés de laboratoire:

- un milieu de culture bactérien général favorisant le développement de l'ensemble de la flore bactérienne cultivable,
- un milieu de culture dédié à la culture des diatomées, dont la méthode de culture conventionnelle a été adaptée afin de limiter la contamination des bouillons par d'autres micro-organismes.

Les bactéries ont un rôle important dans la modification des propriétés physico-chimiques des matériaux cimentaires. En effet, outre une diminution importante de la porosité accessible à l'eau, un liseré décoloré, plus ou moins marqué, apparaît à la périphérie des échantillons, quelle que soit la nuance cimentaire considérée.

L'utilisation de milieux sélectifs de laboratoire a permis de montrer que la flore bactérienne est à l'origine d'un phénomène de biolixiviation de la pâte de ciment. Cette biolixiviation induit des modifications de la minéralogie de surface caractérisées par la formation d'une couche de calcite très dense recouverte d'une couche principalement composée de phases amorphes et de quartz. Dans le temps, le front de dégradation tend à se stabiliser entre 0,8mm et 0,9mm de profondeur pour les échantillons de nuances CEM II et CEM III, alors que pour ceux de nuances CEM I et CEM V, la profondeur de dégradation atteint 1,2 mm après 18 mois dans la Moselle.

Les analyses faites sur les prélèvements de béton réalisés sur le barrage permettent d'aboutir aux mêmes conclusions : l'observation d'une zone superficielle, dont la l'épaisseur coïncide avec le temps d'exposition, avec un pH plus faible que pour le reste du matériau, est un indicateur d'une potentielle biolixiviation des bétons immergés.

La couche de calcite qui précipite à la surface des échantillons, particulièrement compacte, réduit l'accessibilité des bactéries au réseau poreux. Ces modifications des propriétés de surface des échantillons immergés, en milieu naturel comme en milieu de culture, semblent conduire à des conditions de surface défavorables à la colonisation bactérienne. Cette hypothèse est confirmée par les dénombrements des bactéries se développant à la surface des échantillons *in-situ* et en laboratoire. La densité de cellules colonisant les surfaces, importante au début de l'immersion, chute rapidement jusqu'à se stabiliser, ce quelle que soit la nuance cimentaire considérée.

Les dénombrements réalisés sur les échantillons en milieux contrôlés ont montré que la nature du clinker influe sur la colonisation bactérienne. Les pâtes de ciment réalisés avec les ciments du fournisseur α sont systématiquement moins colonisées que celles réalisées avec les ciments du fournisseur β . Les échantillons de CEM II présentent une colonisation nettement moins importante en début d'immersion, due notamment à une rugosité plus faible et à un réseau poreux composé de capillaire plus gros.

Les travaux entrepris ont montré que les diatomées colonisent assez rapidement la plupart des supports qu'elles rencontrent, tant en milieu naturel qu'en laboratoire. Toutefois, des différences sont relevées en fonction de la nuance cimentaire. Après 1 mois de culture, les échantillons de CEM I et CEM III sont plus massivement colonisés que les autres nuances. Cette différence de colonisation est principalement attribuée, selon la théorie du point d'attachement, aux faibles différences de géométrie de surface de ces 2 échantillons qui offrent plus de points de contact entre la cellule et la surface que les autres échantillons. La particularité de l'échantillon de CEM V, peu colonisé à 1 mois, et les modifications importantes de densité de diatomée après 2 mois de culture, montrent que la nature minéralogique joue également un rôle important sur la colonisation.

Après 2 mois d'immersion, la surface des échantillons se recouvre d'une cristallisation secondaire de calcite qui a tendance à enrober les diatomées. Des observations identiques sont faites sur les échantillons immergés dans la Moselle. La formation de calcite à la surface des échantillons immergés dans le milieu de culture peut être, en partie, due au fort bullage en air du bouillon de culture. Ce bullage engendre une diminution de porosité de surface par précipitation de cristaux de calcite

dans la porosité ouverte. Toutefois les résultats d'essais de laboratoire ont montré que les diatomées interagissent avec la pâte de ciment. En effet, l'évolution des densités de population de diatomées coïncide avec l'évolution des caractéristiques de porosité (taux de porosité, propriétés de transferts).

La présence combinée des diatomées et de la calcite à la surface des échantillons engendre alors une forte diminution de la porosité accessible à l'eau et modifie significativement les transferts hydriques au sein du réseau poreux du matériau, du moins sur la périphérie des échantillons. Même si l'action des diatomées n'est pas clairement établie, ces résultats montrent qu'elles ont une influence sur les modifications minéralogiques et physiques qui se produisent à la surface des pâtes de ciment immergées. Les échantillons les plus colonisés à 1 mois (CEM I et CEM III) présentent des diminutions de porosité relative plus importantes. De même pour l'échantillon de CEM V, entre 1 et 2 mois dans la chambre d'incubation, qui voit sa population passer de ≈ 800 à $\approx 2\,320$ U/mm², alors que sa porosité diminue de 75% par rapport à sa porosité à 1 mois. A l'inverse, les autres nuances voient leur population fortement diminuer (surtout celle des échantillons de CEM I et CEM III) concomitamment à la diminution de la porosité relative entre les deux échéances.

Du point de vue bactérien, les analyses réalisées dans cette étude n'ont pas permis l'observation des phases cristallisées caractéristiques des attaques biologiques imputées aux bactéries (gypse, ettringite, nitrate de calcium, bicarbonate de calcium, etc.) référencées dans la littérature. Les bactéries présentes dans la Moselle ne semblent ainsi pas rencontrer des conditions environnementales favorisant un développement suffisamment important pour induire la dégradation des matériaux cimentaires. Une étude biologique de la flore présente dans l'eau de la Moselle et/ou des biofilms présents sur les bétons pourrait confirmer ou infirmer la présence des bactéries responsables des biolixiviations décrites dans la littérature. Si tel était le cas, des échantillons de pâte pourraient être placés dans des bouillons de culture en laboratoire de façon à étudier l'évolution dans le temps de la biolixiviation.

L'identification des genres de diatomées colonisant les surfaces et la connaissance précise de leur métabolisme permettrait de confirmer ou d'infirmer les hypothèses énoncées au cours de ces travaux. Tout d'abord, en immergeant des échantillons de pâte de ciment dans une solution de métabolite, ou une forme analogue, afin d'observer et d'analyser leur influence directe sur les échantillons. De même, l'immersion dans le bouillon d'échantillons déjà carbonatés permettrait de vérifier l'influence de la formation de calcite sur la colonisation par les diatomées, si, par exemple, les modifications de surface induites par la carbonatation réduisent la colonisation des échantillons par les diatomées. L'immersion dans des milieux de culture diatomées d'échantillons de pâtes de ciment formulées avec des nuances

cimentaires différentes (ciment sulfo-alumineux, ciment d'aluminate de calcium etc.) permettrait d'étudier l'influence effective des hydrates formés sur la colonisation bactérienne, comme cela a été observé sur les échantillons de CEM V. De même l'immersion d'échantillons formulés avec différentes cendres volantes de chimie connue permettrait de vérifier si les cendres sont effectivement responsables de la colonisation différente des échantillons de CEM V.

Références bibliographiques et normes

Références bibliographiques

- Adenot, F., 1992. *Durabilité du béton : caractérisation et modélisation des processus physiques et chimiques de dégradation du ciment*. Thèse de doctorat, Université d'Orléans, 240.
- Adenot, F., Richet, C., Faucon, P., 1997. *Long-term prediction of concrete durability in radioactive waste management: Influence of the pH of the aggressive solution*. International Conference on Engineering Materials, Ottawa, Canada 2.
- Alexandre, J., Sébilleau, J.-L., 1988. *Le laitier de haut fourneau: élaboration, traitements, propriétés, emplois*. CTPL, Paris, France, 340.
- Barberousse, H., Ruot, B., Yéprémian, C., Boulon, G., 2007. *An assessment of façade coatings against colonisation by aerial algae and cyanobacteria*. Building and Environment 42 (7), 2555–2561.
- Batté, M., Appenzeller, B.M.R., Grandjean, D., Fass, S., Gauthier, V., Jorand, F., Mathieu, L., Boualam, M., Saby, S., Block, J.C., 2003. *Biofilms in drinking water distribution systems*. Reviews in Environmental Science and Biotechnology 2 (204), 147–168.
- Bayoux, J.P., Letourneux, J.P., Marcdargent, S., 1990. *Acidic corrosion of high alumina cement. Calcium aluminate cements, Proceedings of the International Symposium*. Held at Queen Mary and Westfield College, University of London. Mangabhai RJ, 30–240
- Béchet, Q., Shilton, A., Guieysse, B., 2013. *Modeling the effects of light and temperature on algae growth: State of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation*. Biotechnology advances 31 (8), 1648–1663.
- Ben Ahmeb, K., 2016. *Etude de l'encrassement biologique de matériaux cimentaires en eau de rivière. Analyse de l'influence des paramètres de surface des pâtes cimentaires*. Thèse de doctorat, Université de Strasbourg, 228.
- Benouis, A., Khaldi, N., Cherait, Y., 2007. *Comparaison des résistances des bétons déterminées par écrasement et par scléromètre : influence de la composition*. Afrique science 3 (3), 305–314.

- Berger, S., 2009. *Etude des potentialités des ciments sulfo-alumineux bélitiques pour le conditionnement du zinc de l'hydratation à la durabilité*. Thèse de doctorat, Université des Sciences et Technologie de Lille - Lille I, 277.
- Bignot, G., 1982. *Les microfossiles*. Dunod Université, 212.
- Block, J.-C., 2008. *Chapitre V - Espace intercellulaire des biofilms : structure et réactivité, Biodétérioration des matériaux, dans Action des microorganismes de l'échelle nanométrique à l'échelle macroscopique*, Fritz-Feugas, F., Cornet, A., Tribollet, B.. Ellipses, 45–58.
- Bourissai, M., 2010. *Comportement thermo-chimio-hydro-mécanique d'un ciment pétrolier au très jeune âge en conditions de prise HP/HT : approche expérimentale et analyse par changement d'échelle*. Thèse de doctorat, Université Paris-Est, 221.
- Bur, N., Roux, S., Delmas, L., Géraud, Y., Feugas, F., 2010. *Porosité des mortiers et bioréceptivité*. *Matériaux & Techniques* 98 (1), 31–40.
- Chen, J.J., Thomas, J.J., Taylor, H.F.W., Jennings, H.M., 2004. *Solubility and structure of calcium silicate hydrate*. *Cement and Concrete Research* 34 (9), 1499–1520.
- Chen, Y.C., 2007. *Immobilization of twelve benthic diatom species for long-term storage and as feed for post-larval abalone *Haliotis diversicolor**. *Aquaculture* 263 (1-4), 97–106.
- Collier, N.C., Sharp, J.H., Milestone, N.B., Hill, J., Godfrey, I.H., 2008. *The influence of water removal techniques on the composition and microstructure of hardened cement pastes*. *Cement and Concrete Research* 38 (6), 737–744.
- Crumbie A.K., Scrivner K.L., Pratt P.L., 1998. *The relationship between the porosity and permeability of the surface layer of concrete and ingress of aggressive ions*. *Materials research society symposium proceeding* 137, 279–284,
- Dall'Agnol, L.T., Moura, J.J.G., 2014. *Chapitre IV - Sulphate-reducing bacteria (SRB) and biocorrosion*, dans *Understanding Biocorrosion*. Woodhead, Oxford, 77–106.
- Dalod, E., 2015. *Influence de la composition chimique de mortiers sur leur biodétérioration par les algues*. Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, 184.

- Daskalakis, M.I., Rigas, F., Bakolas, A., Magoulas, A., Kotoulas, G., Katsikis, I., Karageorgis, A.P., Mavridou, A., 2015. *Vaterite bio-precipitation induced by Bacillus pumilus isolated from a solutional cave in Paiania, Athens, Greece*. International Biodeterioration & Biodegradation 99, 73–84.
- Dauta, A., 1982. *Chapitre I - Détermination des paramètres de croissance en fonction de la lumière et de la température. Conditions de développement du phytoplancton: Étude comparative du comportement de huit espèces en culture*. Annales de Limnologie, International Journal of Limnology 18 (3), 217–262.
- De Belie, N., Monteny, J., Beeldens, A., Vincke, E., Van Gemert, D., Verstraete, W., 2004. *Experimental research and prediction of the effect of chemical and biogenic sulfuric acid on different types of commercially produced concrete sewer pipes*. Cement and Concrete Research 34 (12), 2223–2236.
- De Belie, N., 2010. *Microorganisms versus stony materials: a love–hate relationship*. Mater Structures 43 (9), 1191–1202.
- Debenest, T., 2007. *Caractérisation de l'impact des pollutions agricoles sur les diatomées benthiques*. Thèse de doctorat, Ecole des sciences et environnements Université Bordeaux 1, 220.
- Deng, S., Dong, H., Lv, G., Jiang, H., Yu, B., Bishop, M.E., 2010. *Microbial dolomite precipitation using sulfate reducing and halophilic bacteria: Results from Qinghai Lake, Tibetan Plateau, NW China*. Chemical Geology 278 (3-4), 151–159.
- De Windt, L., Devillers, P., 2010. *Modeling the degradation of Portland cement pastes by biogenic organic acids*. Cement and Concrete Research 40 (8), 1165–1174.
- Diercks, M., Sand, W., Bock, E., 1991. *Microbial corrosion of concrete*. Experientia 47 (6), 514–516.
- Dubosc, A., 2000. *Etude du développement de salissures biologiques sur les parements en béton : mise au point d'essais accélérés de vieillissement*. Thèse de doctorat, INSA Toulouse, 252.
- Dupont-Morrall, I., 2005. *De la microbiologie dans la compréhension des phénomènes de corrosion microbienne: un exemple : étude de l'inter-influence entre la flore sulfurogène et la protection cathodique*. Mémoire d'Habilitation à diriger des Recherches, Université des Sciences et Technologies de Lille, 104.

- Emtiazi, G., Habibi, M. h., Setareh, M., 1990. *Isolation of some new sulphur bacteria from activated sludge*. Journal of Applied Bacteriology 69, 864–870.
- Ficker, T., Martišek, D., Jennings, H.M., 2011. *Surface Roughness and Porosity of Hydrated Cement Pastes*. Acta Polytechnica 51 (3).
- Flemming, H.-C. 1998, *Biofilms*. C. Lemaitre, N. Pébère, D. Festy., 17 avenue Hoggar Parc d'activité de Courtaboeuf B.P. 112 91944 Les Ulis Cedex A, FRANCE: EDP Science 71-88.
- Flemming, H.-C., Neu, D.T.R., Wingender, D.J., 2016. *The Perfect Slime: Microbial Extracellular Polymeric Substances (EPS)*. IWA Publishing.
- Flemming, H.-C., Neu, T.R., Wozniak, D.J., 2007. *The EPS Matrix: The “House of Biofilm Cells”*. Journal of Bacteriology 189 (22), 7945–7947.
- Fragoulis, D., Stamatakis, M., Papageorgiou, D., Pentelenyi, L., Csirik, G., 2002. *Diatomaceous earth as a cement additive: A case study of deposits from North-eastern Hungary and Milos island, Greece*. ZKG international 55 (1), 80–85.
- Friedrich, C.G., 1997. *Physiology and Genetics of Sulfur-oxidizing Bacteria*. Advances in Microbial Physiology 39, 235–289.
- Fritz-Feugeas, F., 2008. Chapitre VII - *Béton : bioaltération et biodégradation, Biodétérioration des matériaux - Action des microorganismes de l'échelle nanométrique à l'échelle macroscopique*, Fritz-Feugeas, F., Cornet, A., Tribollet. Ellipses, 85–100.
- Gagné, R., Aïtcin, P.-C., 1993. *Superplasticizers for durable concrete*, Comptes rendus de la conférence internationale sur la durabilité du béton, Monterrey, Mexique, 200-217
- Gaudon, P., Eterradosi, O., Yan, Y., Benhassaine, A., Dusausoy, Y., Tekely, P., 1997. *Évolution d'une silice de type opale en milieu basique*. Journal de Chimie Physique 94, 799–812.
- Gaylarde, C., Silva, M.R., Warscheid, T., 2003. *Microbial impact on building materials: an overview*. Materials and Structures 36 (5), 342–352.
- Giannantonio, D., Kurth, J., Kurtis, K., Sobecky, P., 2009. *Effects of concrete properties and nutrients on fungal colonization and fouling*. International Biodeterioration & Biodegradation 63 (3), 252–259.

- Gomes, I.B., Simões, M., Simões, L.C., 2014. *An overview on the reactors to study drinking water biofilms*. Water Research 62, 63–87.
- Guetari, Z., 2013. *L'effet de la dégradation chimique sur le comportement mécanique des bétons*. Mémoire de Magister, Université Badji Mokhtar, Annaba 55.
- Guillitte, O., 1995. *Bioreceptivity: a new concept for building ecology studies*. Science of The Total Environment, The Deterioration of Monuments 167, 215–220.
- Guillitte, O., Dreesen, R., 1995. *Laboratory chamber studies and petrographical analysis as bioreceptivity assessment tools of building materials*. Science of The Total Environment, The Deterioration of Monuments 167(1-3), 365–374.
- Hermann, K., 1995. *Substances chimiques exerçant une action sur le béton*. Bulletin du ciment 63.
- Hoek, C. van den, Mann, D., Jahns, H.M., 1996. *Algae: An Introduction to Phycology*. Cambridge University Press.
- Hostomsky, J., Jones, A.G. 1991. *Calcium carbonate crystallization, agglomeration and form during continuous precipitation from solution*. Journal of Physics D: Applied Physics 24 (2), 165–170.
- Jacob-Lopes, E., Scoparo, C.H.G., Lacerda, L.M.C.F., Franco, T.T., 2009. *Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors*. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification 48 (1), 306–310.
- Joseph, A.P., Keller, J., Bustamante, H., Bond, P.L., 2012. *Surface neutralization and H₂S oxidation at early stages of sewer corrosion: Influence of temperature, relative humidity and H₂S concentration*. Water Research 46 (13), 4235–4245.
- Krejci, M.E., Lowe, R.L., 1986. *Importance of Sand Grain Mineralogy and Topography in Determining Micro-Spatial Distribution of Epipsammic Diatoms*. Journal of the North American Benthological Society 5, 211–220.
- Lajili, H., Devillers, P., Grambin-Lapeyre, C., Bournazel, J., 2008. *Alteration of a cement matrix subjected to biolixiviation test*. Materials and Structures 41 (10), 1633–1645.

- Langumier, M., 2011. *Biodétérioration des structures portuaires en acier : synergie entre la physico-chimie du fer en milieu marin et les micro-organismes sulfurogènes*. Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, 176.
- Leemann, A., Lothenbach, B., Siegrist, H., Hoffmann, C., 2010a. *Influence of water hardness on concrete surface deterioration caused by nitrifying biofilms in wastewater treatment plants*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 64 (6), 489–498.
- Leemann, A., Lothenbach, B., Hoffmann, C., 2010b. *Biologically induced concrete deterioration in a wastewater treatment plant assessed by combining microstructural analysis with thermodynamic modeling*. *Cement and Concrete Research* 40 (8), 1157–1164.
- Leitão, M., Couté, A., 2005. *Guide pratique des Cyanobactéries planctoniques du Grand Ouest de la France*, Agence de l'eau Seine Normandie.
- Lors, C., Feugeas, F., Tribollet, B., 2017. *Interactions Matériaux-Microorganismes : Bétons et métaux plus résistants à la biodétérioration*. EDP Sciences.
- Loubinoux, J., *Les bactéries sulfato-reductrices humaines: caractérisation et pouvoir pathogène*. Thèse de doctorat, Universidade Nova de Lisboa, Université de Nancy 1, 150.
- Lowenstam, H.A., Abbott, D.P., 1975. *Vaterite: a mineralization product of the hard tissues of a marine organism (Ascodiaceae)*. *Science* 188, 363–365
- Magniez, M., 2014. *Méthode de dénombrement des micro-organismes en milieu liquide (Méthode dite du nombre le plus probable)*. Biotechnologie.
- Magot, M., 2008. *Chapitre IV - Micro-organismes et métabolisme, Biodétérioration des matériaux - Action des microorganismes de l'échelle nanométrique à l'échelle macroscopique*, Fritz-Feugeas, F., Cornet, A., Tribollet. *Ellipses Marketing*, 45–58.
- Magot, M., 1998. *Chapitre II - Introduction à la microbiologie des bactéries, Biodétérioration des métaux* Lemaitre, C., Pébère, N., Festy, D.. EDP Sciences, 27–46.
- Malier, Y., 2007. *De Marcus Vitruvius aux nanomatériaux ou l'apport de la singulière histoire du béton à une réflexion prospective sur la recherche universitaire en Génie Civil*. 25^e rencontres universitaires du génie civil, Bordeaux, France, 1–13.

- Mazouak, A., Sharrock, P., Guendouz, F., Morarech, M., Azmani, A., 2001. *Cendres volantes issues de l'incinération des déchets solides d'une papeterie Caractérisation, lixiviation et valorisation*. Déchets sciences et techniques 22, 12–16.
- Mechling, J.M., 2000. *Formation de bétons courants avec les Grès du Luxembourg et les kieselguhrs usagés des brasseries*. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré, Nancy I, 268.L
- Miller, A.Z., Dionísio, A., Laiz, L., Macedo, M.F., Saiz-Jimenez, C., 2009. *The influence of inherent properties of building limestones on their bioreceptivity to phototrophic microorganisms*. Annals of Microbiology 59 (4), 705–713.
- Miller, A.Z., Sanmartín, P., Pereira-Pardo, L., Dionísio, A., Saiz-Jimenez, C., Macedo, M.F., Prieto, B., 2012. *Bioreceptivity of building stones: A review*. Science of the total environment 426, 1–12.
- Molle, P., Noury, A., 2013. *Chapitre I – Le phytoplankton, dans le manuel du plancton*. Charles Léopold Mayer, 25–92.
- Monteny, J., De Belie, N., Vincke, E., Verstraete, W., Taerwe, L., 2001. *Chemical and microbiological tests to simulate sulfuric acid corrosion of polymer-modified concrete*. Cement and Concrete Research 31 (9), 1359–1365.
- Monteny, J., Vincke, E., Beeldens, A., De Belie, N., Taerwe, L., Van Gemert, D., Verstraete, W., 2000. *Chemical, microbiological, and in situ test methods for biogenic sulfuric acid corrosion of concrete*. Cement and Concrete Research 30 (4), 623–634.
- Ngala, V.T., Page, C.L., 1997. *Effects of carbonation on pore structure and diffusional properties of hydrated cement pastes*. Cement and Concrete Research, 27 (7), 995–1007.
- Ollivier, J.P., Vichot, A., Durabilité des bétons, Presses des ponts, 2008.
- Osborne, G.J., 1986. *Carbonation of blast-furnace slag cement concretes*, Durability of Building Materials 4 (1), 81–96.
- Parker, C., 1945. *The corrosion of concrete, Isolation of species of bacterium associated with the corrosion of concrete exposed to atmospheres containing hydrogen sulfide*. Australian Journal Experimental Biology Medical Science 23, 81–90.

- Paule, A., 2012. *Dynamique des communautés microbiennes des biofilms phototrophes à différents niveaux d'intégration biologique : des successions écologiques aux réponses à l'exposition à un herbicide*. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse 3, 296.
- Pelmont, J., 2008. *Glossaire de biochimie environnementale*. EDP Science.
- Percheron, G., Bernet, N., Moletta, R., 1997. *Start-up of anaerobic digestion of sulfate wastewater*. *Bioresource Technology* 61 (1), 21–27.
- Reviere, B. de, 2002. *Biologie et phylogénie des algues*. Tome 1. Belin.
- Rousset Tournier, B., 2001. *Transferts par capillarité et évaporation dans des roches - rôle des structures de porosité*, Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur, Sciences de la terre et de l'univers, pétrophysique, 203.
- Roux, S., 2008. *Évaluation des risques de biodégradation des bétons en contact avec une eau douce naturelle*. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg 1, 153.
- Sahu, S., Badger, S., Thaulow, N., Lee, R.J., 2004. *Determination of water–cement ratio of hardened concrete by scanning electron microscopy*. *Cement and Concrete Composites, Scanning electron microscopy of cements and concretes* 26 (8), 987–992.
- Sekar, R., Venugopalan, V.P., Nandakumar, K., Nair, K.V.K., Rao, V.N.R., 2004. *Early stages of biofilm succession in a lentic freshwater environment*. *Hydrobiologia* 512, 97–108.
- Sialve, B., Steyer, J.-P., 2013. *Les microalgues, promesses et défis*. *Innovations Agronomiques* 26, 25–39.
- Stevenson, R.J., Bothwell, M.L., Lowe, R.L., 1996. *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystem*. Academic Press.
- Souchu, A., 2009. *Hydratation du ciment Portland*. Site documentaire du Lerm.
- Tai, C.Y., Chen, P.-C., 1995. *Nucleation, agglomeration and crystal morphology of calcium carbonate*. *American Institute of Chemical Engineers Journal* 41 (1), 68–77.

- Tran, T.H., 2011. *Influence des caractéristiques intrinsèques d'un mortier sur son encrassement biologique*. Thèse de doctorat, Ecole nationale supérieure des Mines de Saint-Etienne, 254.
- Trtik, P., Dual, J., Muench, B., Holzer, L., 2008. *Limitation in obtainable surface roughness of hardened cement paste: "virtual" topographic experiment based on focussed ion beam nanotomography datasets*. *Journal of Microscopy* 232 (2), 200–206.
- Van Lith, Y., Warthmann, R., Vasconcelos, C., McKenzie, J., 2003. *Microbial fossilization in carbonate sediments: a result of the bacterial surface involvement in dolomite precipitation*. *Sedimentology* 50 (2), 237–245.
- Vicat, L.J., 1818. *Recherches expérimentales sur les chaux de construction, les bétons et les mortiers ordinaires*. Goujon.
- Vishniac, W., Melvin, S., 1957. *The Thiobacilli*. *Bacteriological Reviews* 21 (3), 195–213.
- Vonshak, A., 1993. *Microalgae: laboratory growth techniques and the biotechnology of biomass production*, Photosynthesis and Production in a Changing Environment. Springer, Dordrecht, 337–355.
- Watnick, P., Kolter, R., 2000. *Biofilm, City of Microbes*. *Journal of Bacteriology*, 182 (10), 2675–2679.
- Wiktor, V., Grosseau, P., Guyonnet, R., Garcia-Diaz, E., Lors, C., 2010. *Accelerated weathering of cementitious matrix for the development of an accelerated laboratory test of biodeterioration*. *Materials and Structures* 44 (3), 623–640.
- Wiktor, V., Jonkers, H.M., 2013. *Bio-repair of cementitious materials: bacteria at the service of cracked mortar*. *Matériaux & Techniques* 101 (4), 401.
- Williams, P.J. le B., Laurens, L.M.L., 2010. *Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: Review & analysis of the biochemistry, energetics & economics*. *Energy & Environmental Science* 3, 554–590.
- Wright, D., 1999. *The role of sulphate-reducing bacteria and cyanobacteria in dolomite formation in distal ephemeral lakes of the Coorong region, South Australia*. *Sedimentary Geology* 126 (1-4), 147–157.

Yuan, H., Dangla, P., Chatellier, P., Chaussadent, T., 2015. *Degradation modeling of concrete submitted to biogenic acid attack*. Cement and Concrete Research 70, 29–38.

Zivica, V., Palou, M.T., Krizma, M., Bagel, L., 2012. *Acidic attack of cement based materials under the common action of high, ambient temperature and pressure*. Construction and Building Materials 36, 623–629.

Norme

Norme française NF EN 1008, 2003. *Eau de gâchage pour bétons - Spécifications d'échantillonnage, d'essais et d'évaluation de l'aptitude à l'emploi, y compris les eaux des processus de l'industrie du béton, telle que l'eau de gâchage pour béton*

Norme française NF EN 197-1, 2012. *Ciment - Partie 1 : composition, spécifications et critères de conformité des ciments courants*.

Norme française NF EN 12620+A1, 2008. *Granulats pour béton*.

Norme française NF P15-317, 2006. *Liants hydrauliques - Ciments pour travaux à la mer*.

Norme française NF P15-319, 2014. *Liants hydrauliques - Ciments pour travaux en eaux à haute teneur en sulfates*.

Norme française NF EN 196-1, 2006. *Méthodes d'essais des ciments - Partie 1 : détermination des résistances mécaniques*.

Norme française NF EN 196-3+A1, 2009. *Méthodes d'essais des ciments - Partie 3 : détermination du temps de prise et de la stabilité*.

Norme française NF P18-459, 2010. *Béton - Essai pour béton durci - Essai de porosité et de masse volumique*.

Norme française NF EN 480-5, 2006. *Adjuvants pour béton, mortier et coulis - Méthodes d'essai - Partie 5 : détermination de l'absorption capillaire*.

Norme française NF EN ISO 4287, 1998. *Spécification géométrique des produits (GPS) - État de surface : méthode du profil - Termes, définitions et paramètres d'état de surface*.

Norme française NF EN ISO 13565-1, 1998. *Spécification géométrique des produits (GPS) - État de surface : méthode du profil - Surfaces ayant des propriétés fonctionnelles différentes suivant les niveaux - Partie 1 : filtrage et conditions générales de mesurage*

Norme française NF EN ISO 12085, 1998. *Spécification géométrique des produits (GPS) - État de surface : méthode du profil - Paramètres liés aux motifs*

Communications et publications

Communication nationale (oral et poster) : V. Georges, S. Roux, A. Lecomte, F. Feugeas, 2016. *Comportement de matériaux cimentaires exposés à une eau douce naturelle*. XIII^{ème} Forum Biodétérioration des Matériaux du CEFRACOR, Toulouse, 29 et 30 mars.

Publication dans une revue nationale (parue) : V. Georges, S. Roux, A. Lecomte, F. Feugeas, 2017. *Colonisation biologique de pâtes de ciment exposées à une eau douce naturelle*. Matériaux & Techniques 105, p.204.

Communication internationale (poster) : V. Georges, S. Roux, A. Lecomte, F. Feugeas, 2016. *Behavior of cementitious materials exposed to natural freshwater*. EUROCORR, the annual event of the European Federation of Corrosion, Montpellier, 11-15 Septembre.

Publication dans une revue internationale (proposée) : V. Georges, S. Roux, A. Lecomte, F. Feugeas, *Microorganisms in natural fresh water, influence on hardened cement pastes*. Construction and Building Materials.

Liste des figures

FIGURE I-1 : REPARTITION DES PORES DANS UN MILIEU POREUX	27
FIGURE I-2 : ECHELLE DES POROSITES DANS LA MATRICE CIMENTAIRE (DELMAS, 2006).....	27
FIGURE I-3 : ILLUSTRATION DE L'INFLUENCE DU RAPPORT E/C SUR LA PATE DE CIMENT A L'ETAT FRAIS ET DURCI (GAGNE, 1993).....	28
FIGURE I-4 : INFLUENCE DU RAPPORT E/C SUR LES PROPORTIONS VOLUMIQUES DES CONSTITUANTS D'UNE PATE DE BETON DURCI (GAGNE 1993).....	29
FIGURE I-5 : ZONATION D'UNE PATE DE CIMENT APRES 3 MOIS DE LIXIVIATION (ADENOT, 1997)	31
FIGURE I-6 : ARBRE PHYLOGENETIQUE DES ETRES VIVANTS (MAGOT, 2008).....	33
FIGURE I-7 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU METABOLISME ENERGETIQUE BACTERIEN (MAGOT, 2008).....	35
FIGURE I-8 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU METABOLISME ENERGETIQUE DES BACTERIES SULFATO-REDUCTRICES (MAGOT, 2008).....	37
FIGURE I-9 : ARBRE PHYLOGENETIQUE METTANT EN EVIDENCE LA DIVERSITE ET LA DISTRIBUTION DES ALGUES (GROUPE EN BOITE, LES COULEURS INDIQUENT LA DIVERSITE DE LA PIGMENTATION) DANS LES DOMAINES DE LA VIE. À TITRE DE COMPARAISON, LES ANIMAUX ET LES PLANTES TERRESTRES SONT ENCEINTES RESPECTIVEMENT EN ROUGE ET EN VERT1.....	38
FIGURE I-10 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA SYSTEMATIQUE DES DIATOMEES (DEBENEST, 2007).....	39
FIGURE I-11 : EVOLUTION SUR UNE ANNEE DES POPULATIONS ALGALES (LEITÃO, 2005).....	40
FIGURE I-12 : REACTIONS EN FONCTION DES PHASES LUMINEUSES (SIALVE, 2013).....	41
FIGURE I-13 : COMPARAISON DES SPECTRES D'ABSORPTION DE LA CHLOROPHYLLE ET DES PIGMENTS ACCESSOIRES PAR RAPPORT AU SPECTRE SOLAIRE (WILLIAMS, 2010).....	42
FIGURE I-14 : FORMATION D'UN BIOFILM ET EVOLUTION DANS LE TEMPS, D'APRES (FLEMMING, 1998).....	44
FIGURE I-15 : EXEMPLE DE L'INFLUENCE DES PARAMETRES DU MILIEU SUR LA COLONISATION MICROBIENNE	45
FIGURE I-16 : BIODETERIORATION : INTERACTIONS MATERIAUX - MICROORGANISMES - MILIEUX	50
FIGURE I-17 : COLONISATION D'UN MATERIAU DE CONSTRUCTION POREUX APRES SIX MOIS D'EXPOSITION DANS UNE CHAMBRE CONDITIONNEE (GUILLITTE, 1995A) 1 : CYANOBACTERIES FILAMENTEUSES ET ALGUES VERTES RESIDUELLES. 2 : MOUSSE "PROTONEMA". 3 : DIATOMEES. 4 : RHIZOÏDE* DE MOUSSE.....	52
FIGURE II-1 : SCHEMA DES MOULES (CELLULES DE 330 X 45 X 20 MM3)	60
FIGURE II-2 : DISPOSITIF EXPERIMENTALE DE SATURATION EN EAU DES ECHANTILLONS	64
FIGURE II-3 : SCHEMA DE PRINCIPE DE L'ESSAI D'IMBIBITION CAPILLAIRE (BUR, 2010)	65
FIGURE II-4 : CINETIQUE D'IMBIBITION CAPILLAIRE D'UN ECHANTILLON HOMOGENE (ROUSSET TOURNIER, 2001).....	66
FIGURE II-5 : ILLUSTRATION GRAPHIQUE DE LA SIGNIFICATION DES PARAMETRES RSK ET RKU (BEN AHMED, 2016).....	68
FIGURE II-6 : DIFFRACTOGRAMME X DES ECHANTILLONS APRES 28 JOURS DE CURE, ECHANTILLONS SAINS	69
FIGURE II-7 : PARAMETRES DE RUGOSITE MESURES SUR LES SURFACES POLIES DES ECHANTILLONS.....	70
FIGURE II-8 : PRISES DE MASSES RELATIVES EN FONCTION DE LA RACINE CARREE DU TEMPS DES ECHANTILLONS SAINS.....	72
FIGURE II-9 : BASSIN VERSANT DE LA MOSELLE.....	73
FIGURE II-10 : DEBIT (D) DE LA MOSELLE A LA STATION DE TONNOY (SOURCE DREAL)	74

FIGURE II-11 : TEMPERATURE (T) DE LA MOSELLE A MEREVILLE (SOURCE MGN)	74
FIGURE II-12 : PLAN DE MASSE DU BARRAGE DE MEREVILLE (SOURCE MGN)	76
FIGURE II-13 : VUE SATELLITE DU BARRAGE DE MEREVILLE (SOURCE GOOGLMAPS)	76
FIGURE II-14 : SITE D'ETUDE ; BARRAGE DE MEREVILLE (MEURTHE ET MOSELLE, FRANCE).....	77
FIGURE II-15 : PHOTO D'UN PANIER DE PROTECTION ET DES LOTS D'ECHANTILLONS IMMERSÉS EN MILIEU NATUREL	77
FIGURE II-16 : LOT D'ECHANTILLONS APRES RECUPERATION DANS LA MOSELLE.....	78
FIGURE II-17 : SUIVI DU PH, DE LA TENEUR EN OXYGENE DISSOUT ET DE LA CONDUCTIVITE SUR LE SITE D'ETUDE A 2M DE PROFONDEUR	78
FIGURE III-1 : POPULATION BACTERIENNE GLOBALE CULTIVABLE EN UFC (UNITE FORMANT COLONIE), EN FONCTION DE LA DUREE D'EXPOSITION IN-SITU ET DE LA NATURE CIMENTAIRE.....	87
FIGURE III-2 : POPULATION DE BSR EN UFC (UNITE FORMANT COLONIE), EN FONCTION DE LA DUREE D'EXPOSITION IN-SITU ET DE LA BASE CIMENTAIRE.....	89
FIGURE III-3 : POPULATION BACTERIENNE GLOBALE CULTIVABLE EN UFC (UNITE FORMANT COLONIE), EN FONCTION DE LA DUREE D'EXPOSITION ET DE LA NATURE CIMENTAIRE .	90
FIGURE III-4 : DENSITE DE CELLULES PAR UNITE DE SURFACE EN FONCTION DES PARAMETRES DE RUGOSITE.	91
FIGURE III-5 : IMAGES MEB-PC DE LA SURFACE DES ECHANTILLONS APRES 2 MOIS DANS LA MOSELLE.....	92
FIGURE III-6 : OBSERVATIONS PAR MEB-PC DE LA SURFACE DES ECHANTILLONS APRES 1 MOIS D'EXPOSITION DANS LE MILIEU DE CULTURE BACTERIEN GENERAL.	93
FIGURE III-7 : DIFFRACTOGRAMMES X DE LA SURFACE DES ECHANTILLONS DE PATE DE CIMENT A BASE DE CEM I B, POUR DIFFERENTS TEMPS D'EXPOSITIONS AU MILIEU NATUREL IN-SITU.	94
FIGURE III-8 : DIFFRACTOGRAMMES X DE LA SURFACE DES ECHANTILLONS DE PATE DE CIMENT POUR 12 MOIS D'EXPOSITION EN MILIEU NATUREL.	95
FIGURE III-9 : DIFFRACTOGRAMMES X DE LA SURFACE DES ECHANTILLONS DE PATE DE CIMENT POUR 1 MOIS D'EXPOSITIONS EN MILIEU GENERAL BACTERIEN.....	96
FIGURE III-10 : EVOLUTION DE LA POROSITE ACCESSIBLE A L'EAU EN FONCTION DU MILIEU ET DU TEMPS D'EXPOSITION	97
FIGURE III-11 : POPULATION DE BACTERIES EN FONCTION DE LA DIMINUTION DE LA POROSITE ACCESSIBLE A L'EAU	98
FIGURE III-12 : PRISE DE MASSE RELATIVE EN FONCTION DE LA RACINE CARREE DU TEMPS DES ECHANTILLONS IMMERSÉS 3 ET 6 MOIS DANS LA MOSELLE	99
FIGURE III-13 : DETAIL DE LA PRISE DE MASSE RELATIVE EN FONCTION DE LA RACINE CARREE DU TEMPS DES ECHANTILLONS IMMERSÉS 3 ET 6 MOIS DANS LA MOSELLE.....	100
FIGURE III-14 : PRISE DE MASSE RELATIVE EN FONCTION DE LA RACINE CARREE DU TEMPS DES ECHANTILLONS IMMERSÉS 1 ET 2 MOIS EN MILIEU GENERAL	101
FIGURE III-15 : PRISE DE MASSE RELATIVE EN FONCTION DE LA RACINE CARREE DU TEMPS DES ECHANTILLONS DE CEM I B INITIAL ET IMMERSÉS 1 ET 2 MOIS DANS LE MILIEU DE CULTURE BACTERIEN	101
FIGURE III-16 : PHOTOGRAPHIES DES ECHANTILLONS SUR TRANCHE COUPEE ET POLIE APRES 6 MOIS D'EXPOSITION IN-SITU ET EN MILIEU GENERAL BACTERIEN, VALEUR EN MILLIMETRES DE PROFONDEUR DE LIXIVIATION	102
FIGURE III-17 : EVOLUTION DE LA PROFONDEUR DE LIXIVIATION (EPAISSEUR DU LISERE) DES ECHANTILLONS IMMERSÉS DANS LE MILIEU NATUREL EN FONCTION DU TEMPS	103
FIGURE III-18 : ZONATION D'UNE PATE DE DE CIMENT APRES 3 MOIS DE LIXIVIATION (ADENOT, 1997).....	104
FIGURE III-19 : ANALYSE PAR DIFFRACTION DES RAYONS X D'UNE PATE DE CIMENT DEGRADEE APRES 15 MOIS DE BIOLIXIVIATION FONGIQUE – ASPERGILLUS NIGER (LAJILI, 2008).....	106

FIGURE III-20 : DIFFRACTOGRAMME X DE LA SURFACE DES ECHANTILLONS DE PATE DE CIMENT CEM III B APRES 12 MOIS D'EXPOSITION IN-SITU.....	107
FIGURE III-21 : ÉPAISSEUR DES COUCHES DANS LE BETON APRES DEUX ANS D'EXPOSITION ET LES TRANSFERTS CHIMIQUES ENTRE ELLES (LEEMAN, 2010A)	108
FIGURE III-22 : DISTRIBUTION DE LA POROSITE A LA SURFACE DES ECHANTILLONS BIOLIXIVIES (LEEMAN, 2010B).....	109
FIGURE IV-1 : PHOTO DE LA CHAMBRE D'INCUBATION EXPERIMENTALE POUR LA CULTURE DES DIATOMEES.....	115
FIGURE IV-2 : SPECTRE DE LA SOURCE LUMINEUSE	116
FIGURE IV-3 : IMAGES MEB-PC DE LA SURFACE DES ECHANTILLONS APRES 2 MOIS D'IMMERSION DANS LA MOSELLE	117
FIGURE IV-4 : IMAGE MEB-PC DE DIATOMEES PRESENT DANS LA CONCRETION.....	118
FIGURE IV-5 : IMAGE MEB-PC D'ECHANTILLONS DE CORDE EN NYLON ET D'ACIER INOXYDABLE IMMERGES 6 MOIS DANS LA MOSELLE,.....	119
FIGURE IV-6 : IMAGE MEB-PC ET ANALYSE EDS D'ECHANTILLON DE CEM I B EXPOSE 6 MOIS DANS LE MILIEU NATUREL	119
FIGURE IV-7 : IMAGE MEB-PC DE FRUSTULES DE DIATOMEES PARTIELLEMENT DEGRADEES.....	120
FIGURE IV-8 : OBSERVATIONS PAR MEB-PC DE LA SURFACE DES ECHANTILLONS APRES 1 MOIS DANS LE BOUILLON DE CULTURE DIATOMEES.....	121
FIGURE IV-9 : OBSERVATIONS PAR MEB-PC DE FRUSTULES DE DIATOMEES RECOUVERTES PAR UNE COUCHE, APRES 2 MOIS DANS LE BOUILLON DE CULTURE DIATOMEES DE LABORATOIRE.....	122
FIGURE IV-10 : OBSERVATIONS PAR MEB-PC DE LA SURFACE DES ECHANTILLONS APRES 2 MOIS D'IMMERSION DANS LE BOUILLON DE CULTURE DIATOMEES DE LABORATOIRE... ..	123
FIGURE IV-11 : DIFFRACTOGRAMMES X DE LA SURFACE DES ECHANTILLONS DE PATES DE CIMENT, APRES 1 MOIS D'EXPOSITION AU MILIEU DIATOMEES.....	124
FIGURE IV-12 : DIFFRACTOGRAMMES X DE LA SURFACE DES ECHANTILLONS DE PATES DE CIMENT, APRES 2 MOIS D'EXPOSITION AU MILIEU DIATOMEES.....	124
FIGURE IV-13 : EVOLUTION DE LA POROSITE ACCESSIBLE A L'EAU EN FONCTION DU TEMPS DANS LE MILIEU DIATOMEES.....	125
FIGURE IV-14 : PRISE DE MASSE RELATIVE EN FONCTION DE LA RACINE CARREE DU TEMPS DES ECHANTILLONS DE CEM I B INITIAL ET IMMERGES 1 ET 2 MOIS DANS LE BOUILLON DIATOMEES	126
FIGURE IV-15 : PRISE DE MASSE RELATIVE EN FONCTION DE LA RACINE CARREE DU TEMPS DES ECHANTILLONS IMMERGES 1 ET 2 MOIS DANS LE BOUILLON DIATOMEES	127
FIGURE IV-16 : ILLUSTRATION DE L'INFLUENCE DES ASPERITES SUR LES POINTS D'ATTACHEMENTS (BEN AHMED, 2016)	128
FIGURE IV-17 : DENSITE DE DIATOMEES PAR UNITE DE SURFACE EN FONCTION DES PARAMETRES DE RUGOSITE.....	128
FIGURE IV-18 : OBSERVATIONS PAR MEB-PC ILLUSTRANT LA COLONISATION PREFERENTIELLE DES DIATOMEES APRES 2 MOIS DANS LE BOUILLON DE CULTURE DIATOMEES DE LABORATOIRE.....	130
FIGURE IV-19 : DIMINUTION RELATIVE DE LA POROSITE PAR RAPPORT A LA DENSITE DE DIATOMEES APRES 1 MOIS DE CULTURE	130
FIGURE IV-20 : DIMINUTION RELATIVE DE LA POROSITE PAR RAPPORT A L'EVOLUTION DE LA POPULATION DE DIATOMEES ENTRE 1 ET 2 MOIS DE CULTURE DES ECHANTILLONS B....	131
FIGURE VI-21 : PRISE DE MASSE RELATIVE EN FONCTION DE LA RACINE CARREE DU TEMPS DES ECHANTILLONS B IMMERGES 1 ET 2 MOIS DANS LE BOUILLON DIATOMEES	132
FIGURE V-1 : ZONES DE CAROTTAGE SUR LE BARRAGE DE MEREVILLE	138
FIGURE V-2 : IMAGES MEB-PC DU PRELEVEMENT DE BETON REALISE SUR LA VANNE DE CRUE DANS L'EAU, OBSERVATION D'UNE TANCHE SCIEE.....	140

FIGURE V-3 : IMAGES MEB-PC DU PRELEVEMENT DE BETON REALISE SUR LA PASSE A POISSON DANS L'EAU, OBSERVATION D'UNE TANCHE SCIEE.....	140
FIGURE V-4 : IMAGES MEB-PC DU PRELEVEMENT DE BETON REALISE SUR LA PASSE A POISSON DANS LA ZONE DE MARNAGE, OBSERVATION D'UNE TANCHE SCIEE.....	141

Liste des tableaux

TABLEAU I-I : NOTATIONS CIMENTERES	23
TABLEAU I-II : COMPOSITION CHIMIQUE COURANTE DU CRU DE CLINKER PORTLAND (NEVILLE, 2000).....	23
TABLEAU I-III : COMPOSITION CHIMIQUE COURANTE DU CLINKER PORTLAND (BOURISSAI, 2010).....	24
TABLEAU I-IV : COMPOSITION CHIMIQUE COURANTE D'UN LAITIER DE HAUT-FOURNEAU (ALEXANDRE, 1988).....	25
TABLEAU I-V : ORDRES DE GRANDEUR DES POPULATIONS BACTERIENNES DANS DIVERS ENVIRONNEMENTS (MAGOT, 2008)	33
TABLEAU II-I : DESIGNATION, COMPOSITION ET FINESSE DE MOUTURE (SURFACE SPECIFIQUE BLAINE - SSB) DES DIFFERENTS CIMENTS (K : CLINKER, LL : CALCAIRE, S : LAITIER VITRIFIE DE HAUT FOURNEAU, V : CENDRES VOLANTES, CS : CONSTITUANTS SECONDAIRES)	59
TABLEAU II-II : MASSE VOLUMIQUE ET POURCENTAGE DE POROSITE ACCESSIBLE A L'EAU DES ECHANTILLONS SAINS	71
TABLEAU II-III : CARACTERISTIQUES CHIMIQUES DE L'EAU DE LA MOSELLE (SOURCE MGN)..	75
TABLEAU III-I : COMPOSITION DU MILIEU DE STARKEY POUR 1 LITRE DE PREPARATION (STARKEY, 1958).....	84
TABLEAU III-II : COMPOSITION DE LA SOLUTION D'OLIGO-ELEMENTS STARKEY (STARKEY, 1958).....	85
TABLEAU IV-I : COMPOSITION DU MILIEU DE CULTURE DIATOMEE POUR UN LITRE DE BOUILLON (DAUTA, 1982)	113
TABLEAU IV-II : COMPOSITION DE LA SOLITION D'OLIGO-ELEMENTS POUR DIATOMEE POUR 500 ML DE SOLUTION (DAUTA, 1982).....	114
TABLEAU IV-III : CARACTERISTIQUES DE LA SOURCE DE LUMIERE UTILISEE DANS LA CHAMBRE D'INCUBATION	115
TABLEAU V-I : PROFONDEUR A PARTIR DE LAQUELLE LES BACTERIES NE SONT PLUS DETECTEES.....	139
TABLEAU V-II : PROFONDEUR DE CHANGEMENT DE PH DES PRELEVEMENTS DE BETON	142

Annexe A :

Image MEB-PC

Image MEB-PC **CEM I α in-situ** pour chaque échéance

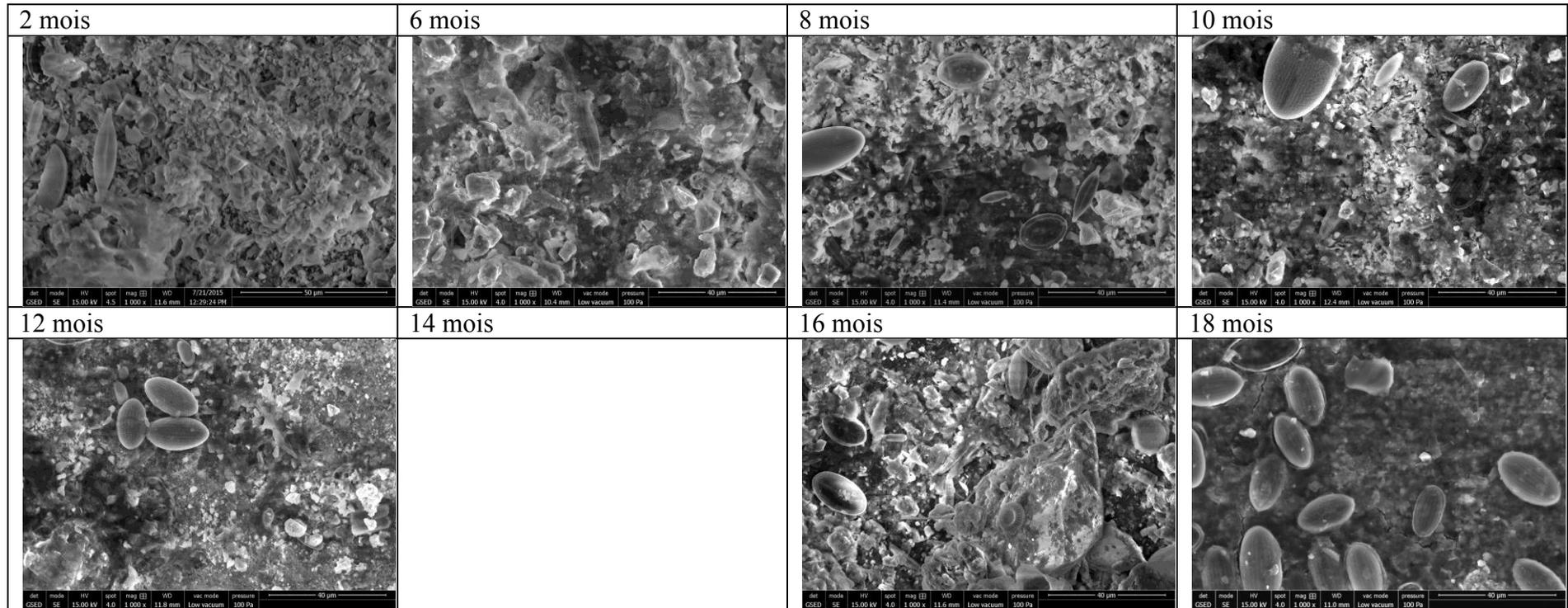


Image MEB-PC **CEM II α in-situ** pour chaque échéance

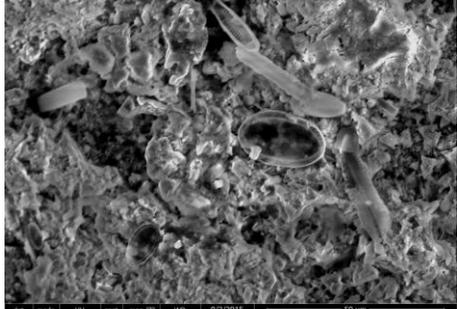
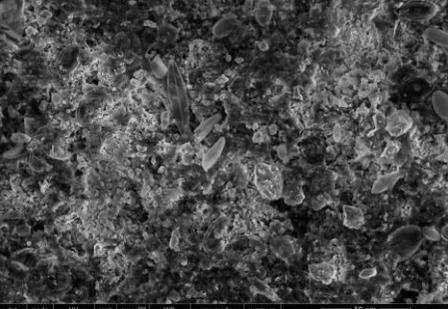
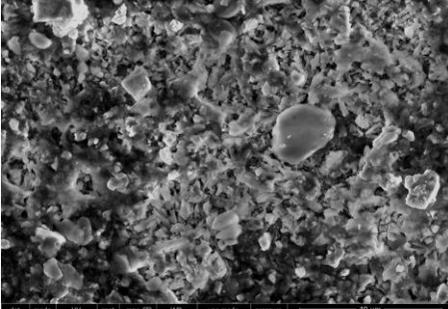
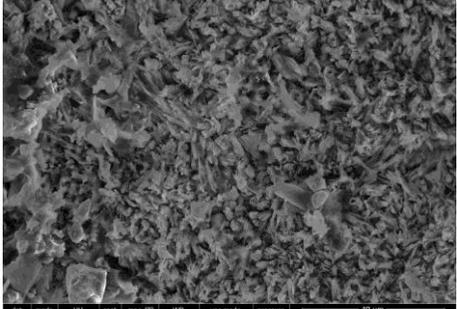
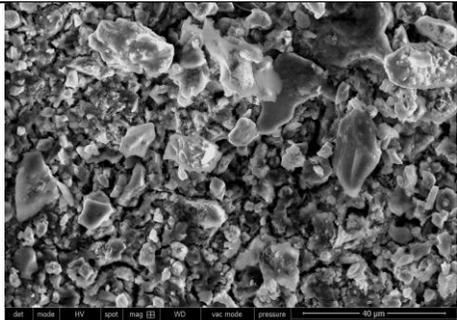
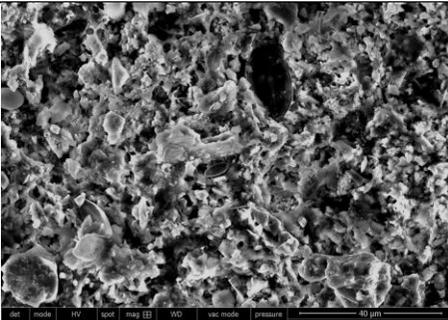
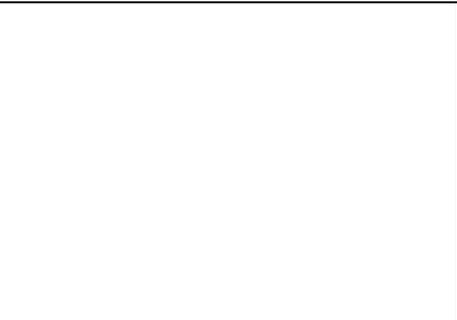
2 mois	6 mois	8 mois	10 mois
 <p> <small>det mode HV spot mag EE WD</small> <small>CE2D SE 15.00 kV 5.0 1 000 x 11.1 mm 5.56/23 Pa</small> <small>50 µm</small> </p>	 <p> <small>det mode HV spot mag EE WD</small> <small>CE2D SE 15.00 kV 4.0 500 x 11.6 mm Low vacuum 100 Pa</small> <small>50 µm</small> </p>	 <p> <small>det mode HV spot mag EE WD</small> <small>CE2D SE 15.00 kV 4.0 1 000 x 10.8 mm Low vacuum 100 Pa</small> <small>40 µm</small> </p>	 <p> <small>det mode HV spot mag EE WD</small> <small>CE2D SE 15.00 kV 4.0 1 000 x 12.0 mm Low vacuum 100 Pa</small> <small>40 µm</small> </p>
12 mois	14 mois	16 mois	18 mois
 <p> <small>det mode HV spot mag EE WD</small> <small>CE2D SE 15.00 kV 4.0 1 000 x 11.9 mm Low vacuum 100 Pa</small> <small>40 µm</small> </p>		 <p> <small>det mode HV spot mag EE WD</small> <small>CE2D SE 15.00 kV 4.0 1 000 x 11.6 mm Low vacuum 100 Pa</small> <small>40 µm</small> </p>	

Image MEB-PC **CEM III α in-situ** pour chaque échéance

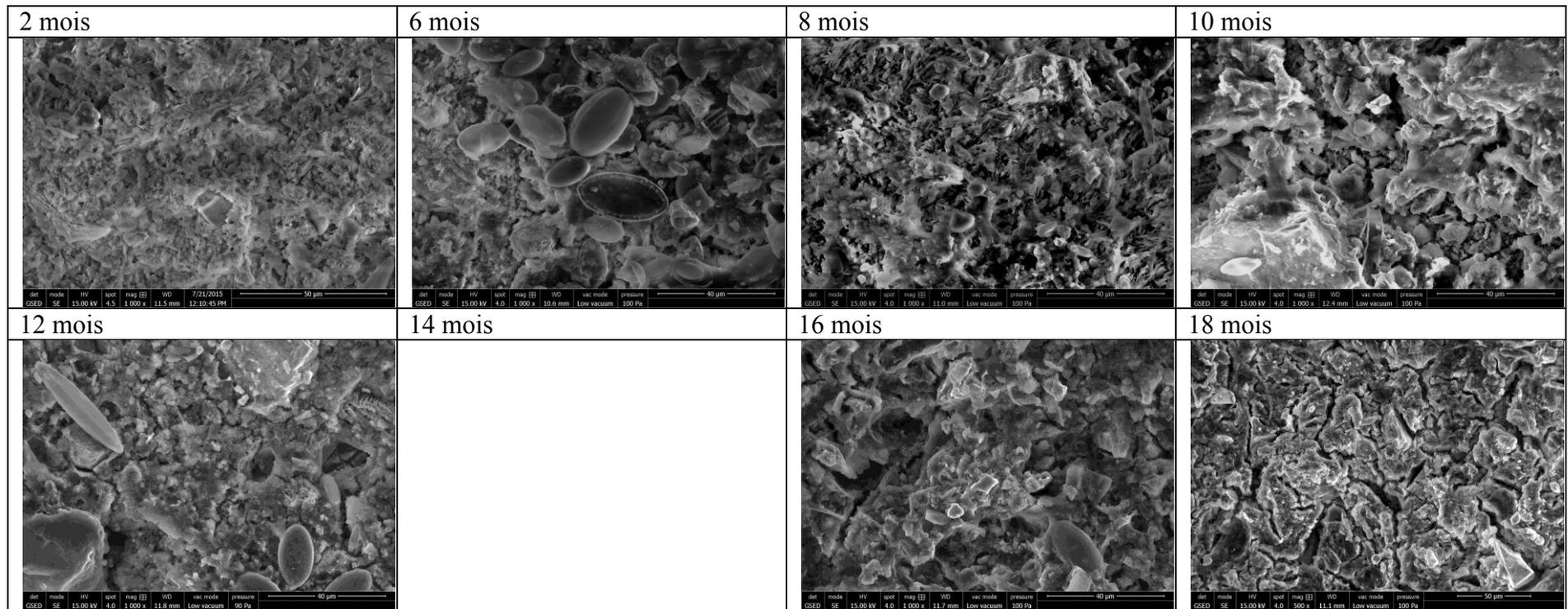


Image MEB-PC **CEMI β** in-situ pour chaque échéance

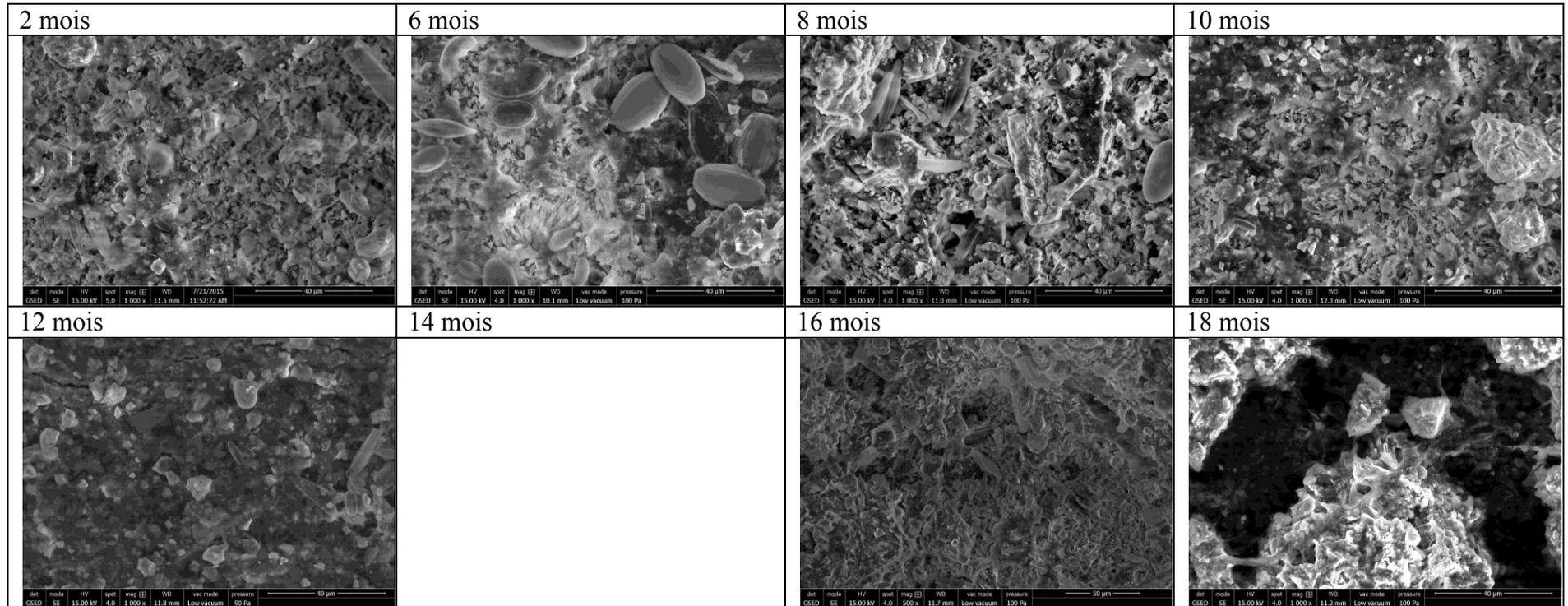


Image MEB-PC **CEM II β** *in-situ* pour chaque échéance

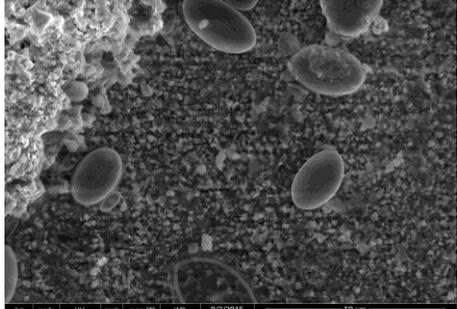
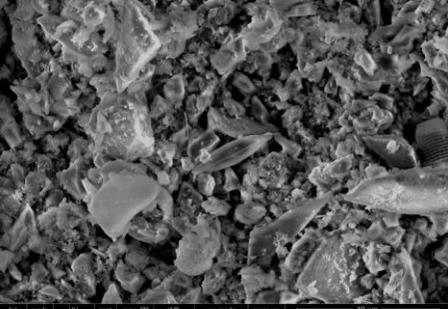
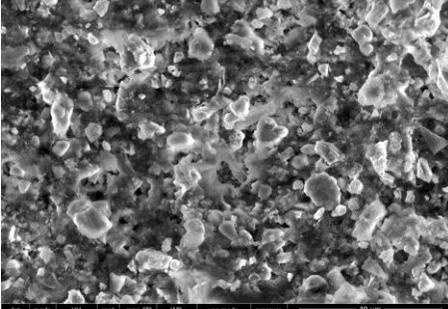
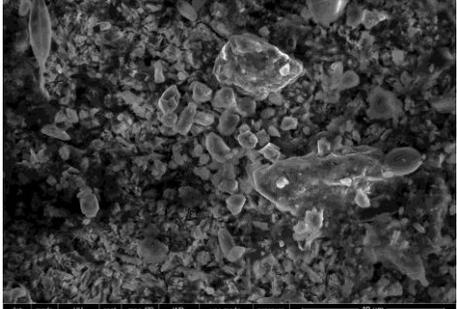
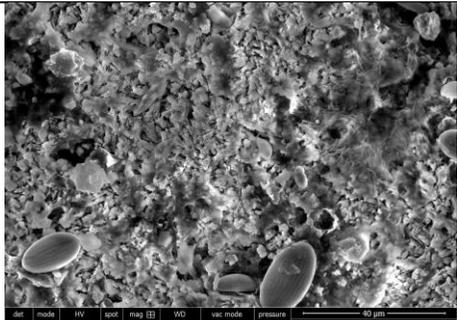
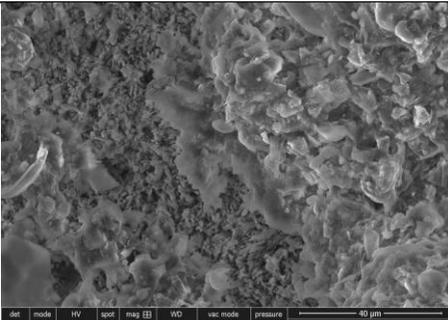
2 mois	6 mois	8 mois	10 mois
 <p>SEM image at 2 months showing large, smooth, oval-shaped particles on a granular matrix. Technical data: def: CSED, mode: SE, HV: 15.00 kV, spot: 4.0, mag: 11.3 mm, WD: 7.11-46 mm, 9/2/2015, 50 μm.</p>	 <p>SEM image at 6 months showing smaller, more angular particles. Technical data: def: CSED, mode: SE, HV: 15.00 kV, spot: 4.0, mag: 11.9 mm, WD: Low vacuum, pressure: 100 Pa, 40 μm.</p>	 <p>SEM image at 8 months showing a dense field of small, angular particles. Technical data: def: CSED, mode: SE, HV: 15.00 kV, spot: 4.0, mag: 10.8 mm, WD: Low vacuum, pressure: 100 Pa, 40 μm.</p>	 <p>SEM image at 10 months showing a dense field of small, angular particles with some larger, irregular shapes. Technical data: def: CSED, mode: SE, HV: 15.00 kV, spot: 4.0, mag: 11.7 mm, WD: Low vacuum, pressure: 100 Pa, 40 μm.</p>
12 mois	14 mois	16 mois	18 mois
 <p>SEM image at 12 months showing a dense field of small, angular particles with some larger, oval-shaped particles. Technical data: def: CSED, mode: SE, HV: 15.00 kV, spot: 4.0, mag: 11.9 mm, WD: Low vacuum, pressure: 100 Pa, 40 μm.</p>	 <p>Blank SEM image for 14 months.</p>	 <p>SEM image at 16 months showing a dense field of small, angular particles. Technical data: def: CSED, mode: SE, HV: 15.00 kV, spot: 4.0, mag: 11.7 mm, WD: Low vacuum, pressure: 100 Pa, 40 μm.</p>	 <p>Blank SEM image for 18 months.</p>

Image MEB-PC **CEM III β** **in-situ** pour chaque échéance

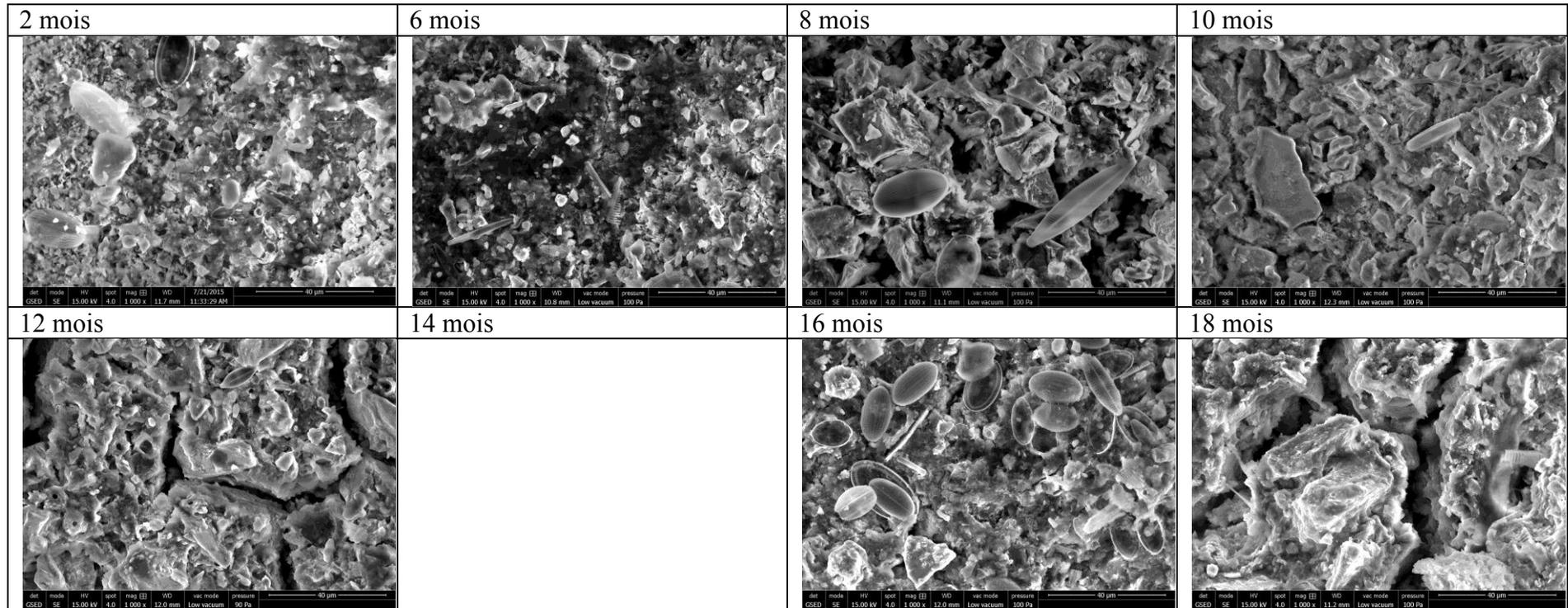
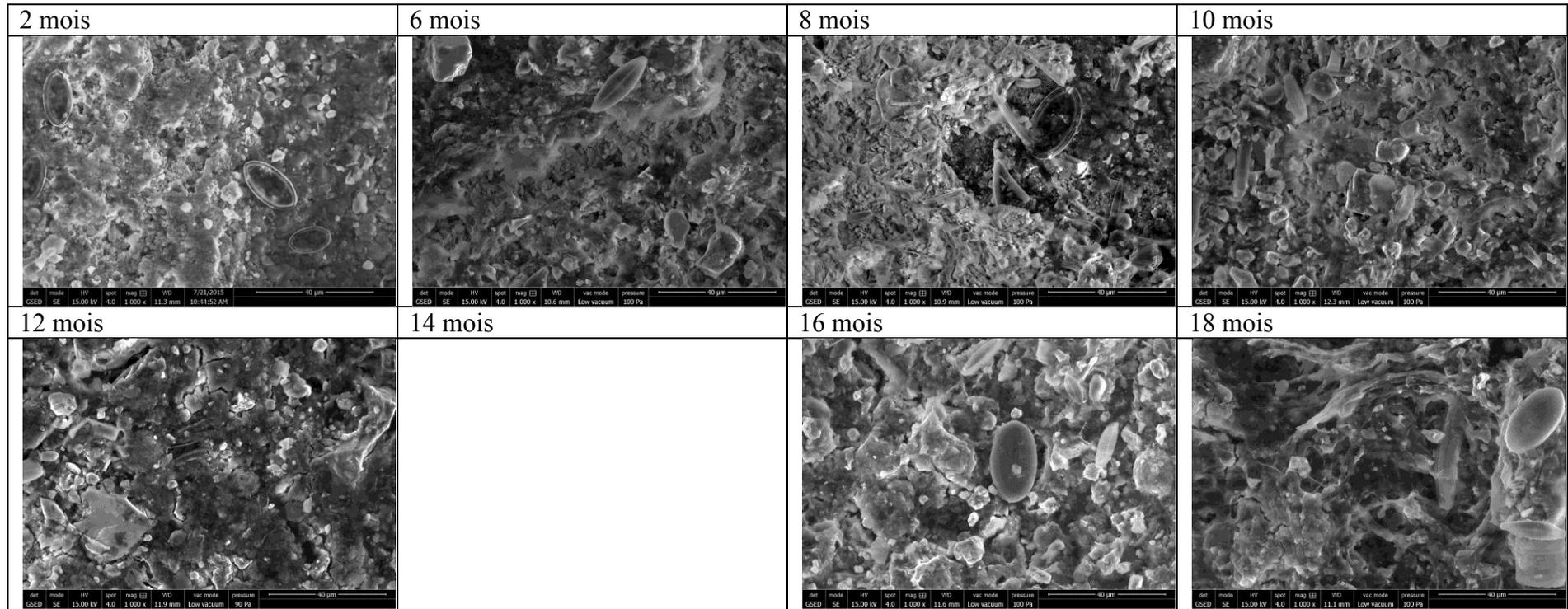


Image MEB-PC **CEM V β** *in-situ* pour chaque échéance

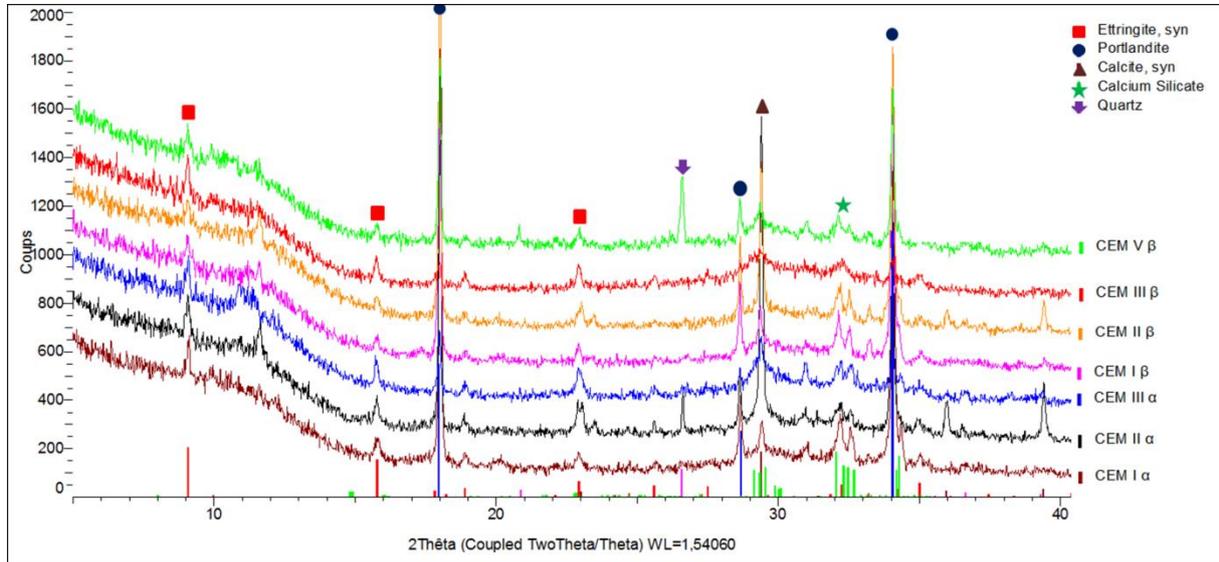


Annexe B :

Diffractogrammes X

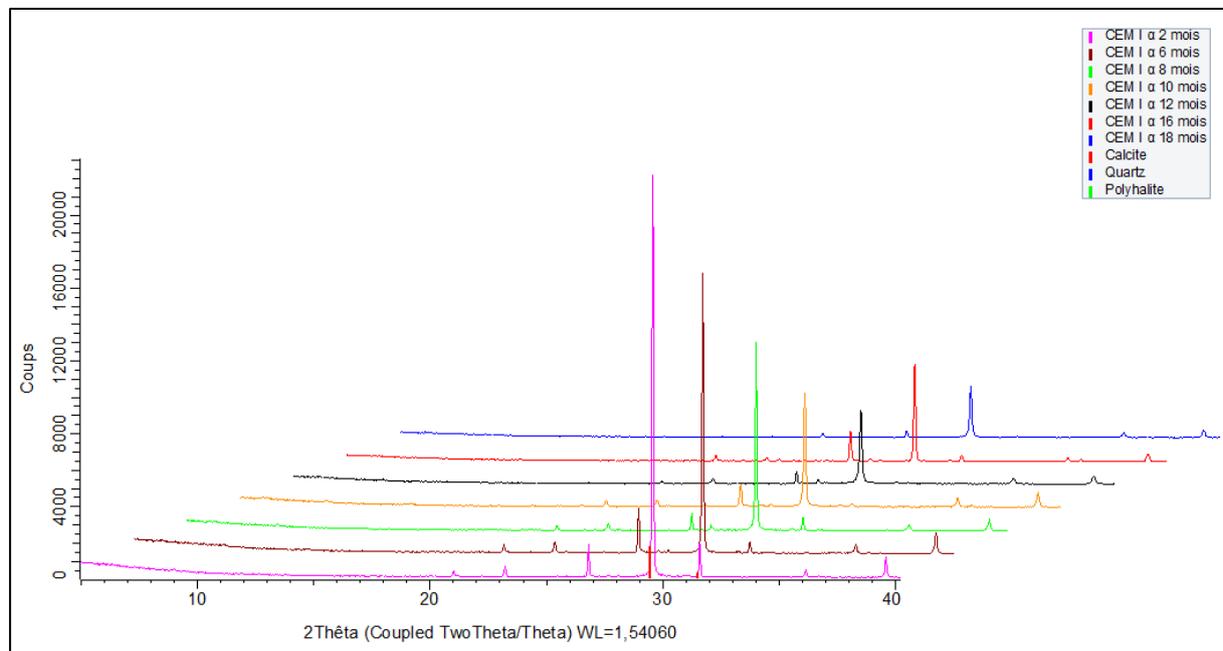
1. Diffractogramme X des échantillons initions

Diffractogramme X de tous les échantillons après 28 jours de cure, échantillons sains

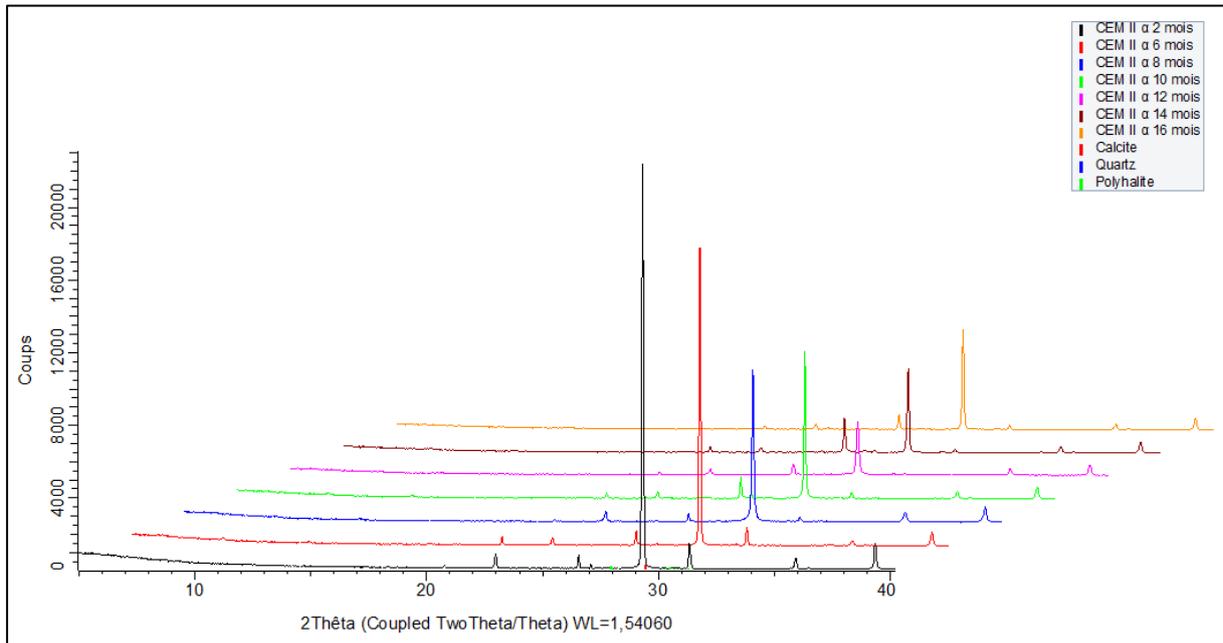


2. Diffractogramme X des échantillons *in-situ*

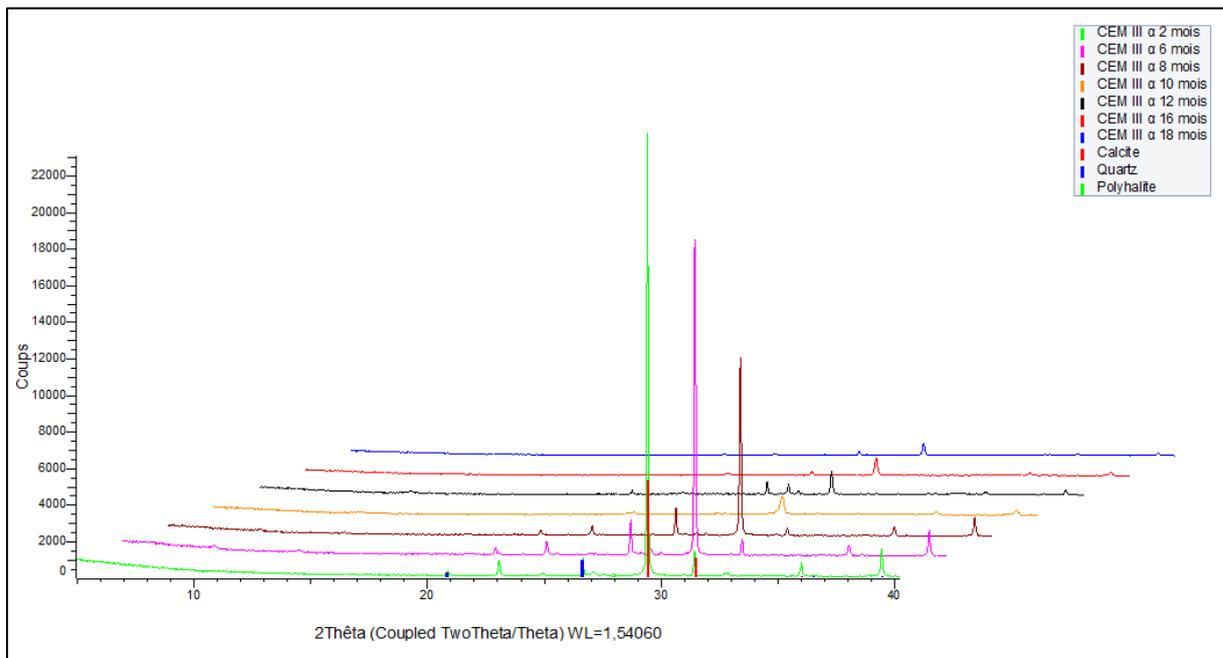
Diffractogrammes X de la surface des échantillons de pâte de ciment à base de CEM I α , pour différents temps d'expositions au milieu naturel *in-situ*.



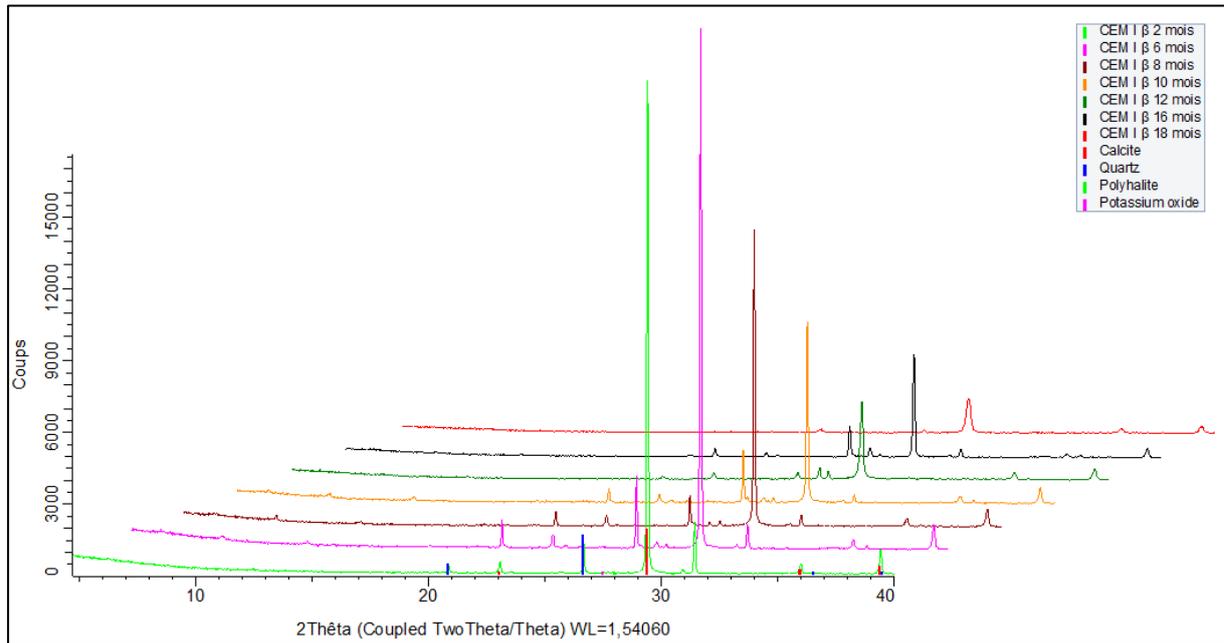
Diffractogrammes X de la surface des échantillons de pâte de ciment à base de **CEM II α** , pour différents temps d'expositions au milieu naturel *in-situ*.



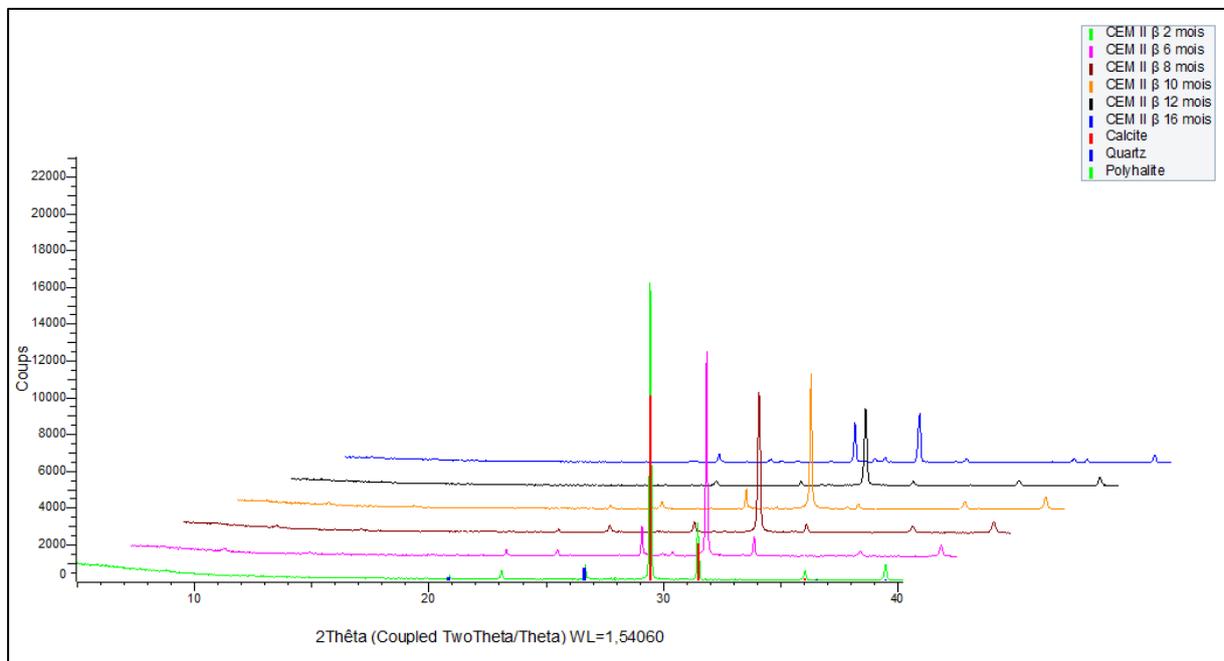
Diffractogrammes X de la surface des échantillons de pâte de ciment à base de **CEM III α** , pour différents temps d'expositions au milieu naturel *in-situ*.



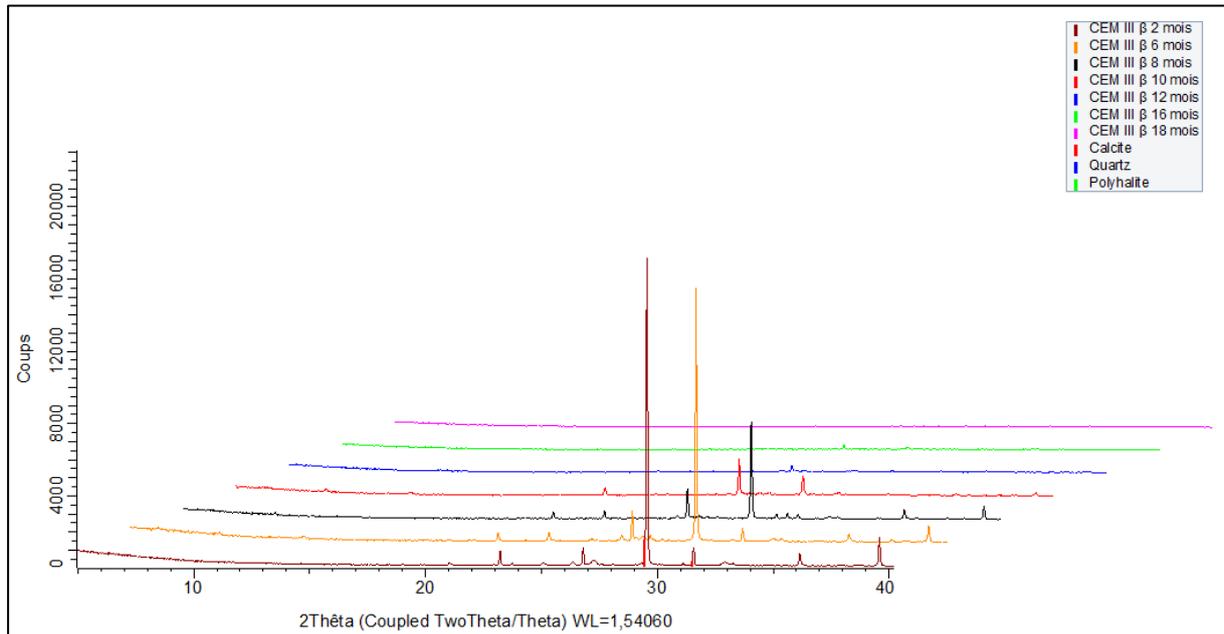
Diffractogrammes X de la surface des échantillons de pâte de ciment à base de **CEM I β** , pour différents temps d'expositions au milieu naturel *in-situ*.



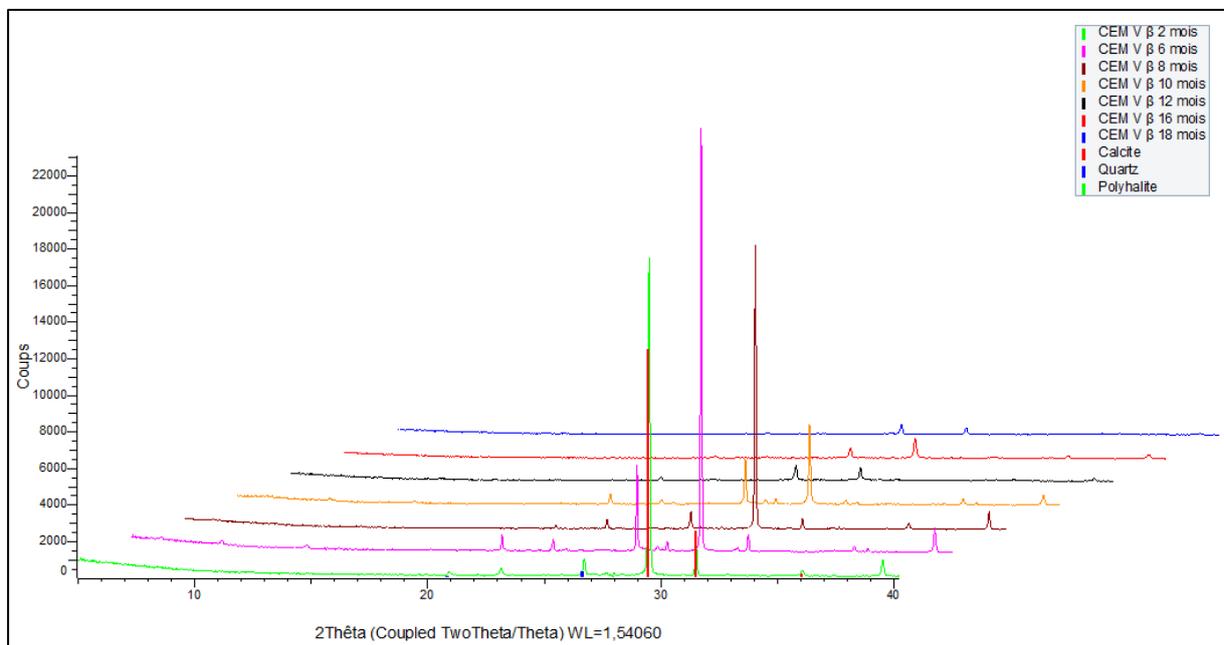
Diffractogrammes X de la surface des échantillons de pâte de ciment à base de **CEM II β** , pour différents temps d'expositions au milieu naturel *in-situ*.



Diffractogrammes X de la surface des échantillons de pâte de ciment à base de **CEM III β** , pour différents temps d'expositions au milieu naturel ***in-situ***.

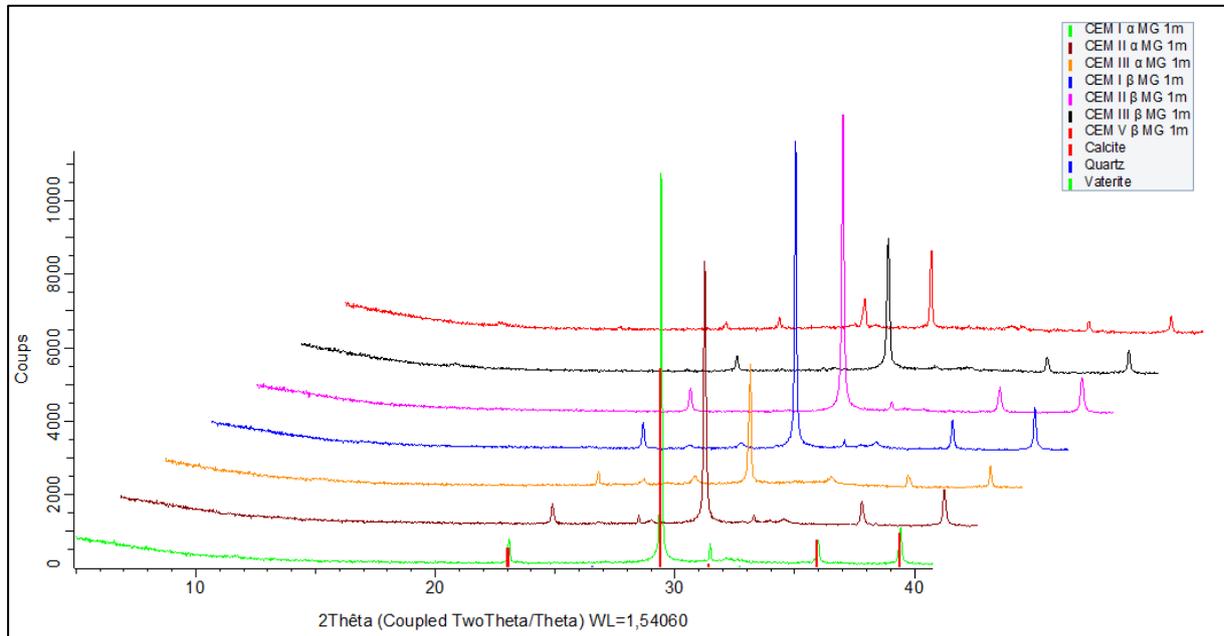


Diffractogrammes X de la surface des échantillons de pâte de ciment à base de **CEM V β** , pour différents temps d'expositions au milieu naturel ***in-situ***.

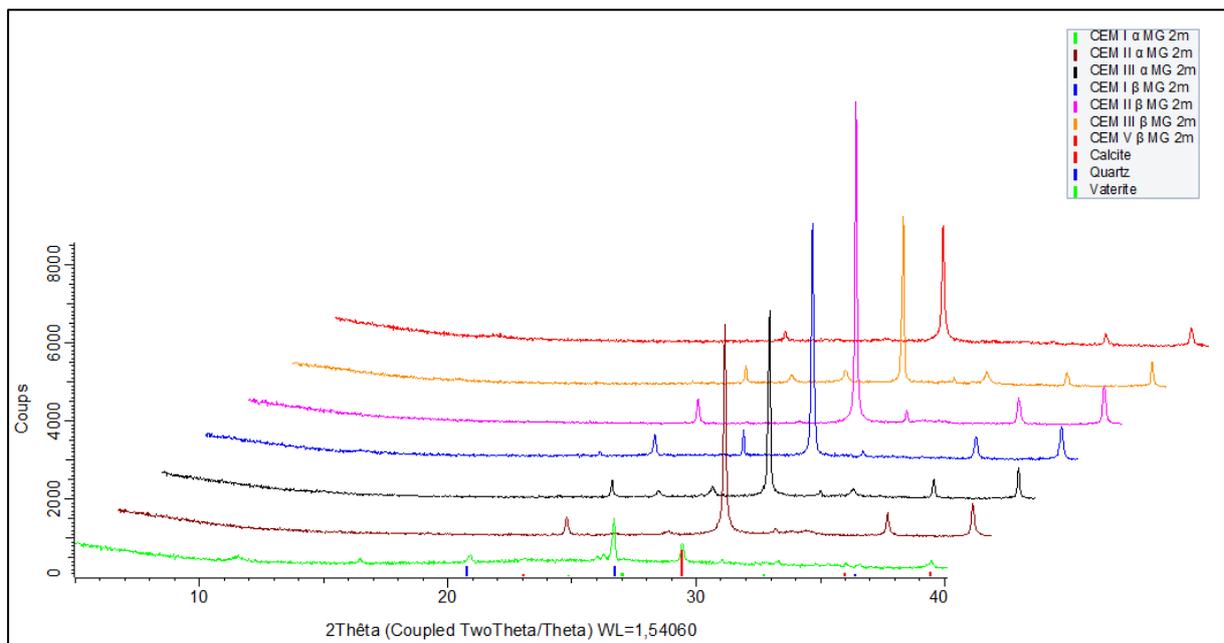


3. Diffractogramme X des échantillons en milieu bactérien

Diffractogrammes X de la surface de **tous les échantillons** de pâte de ciment, pour **1 mois** d'expositions au **milieu général bactérien**.

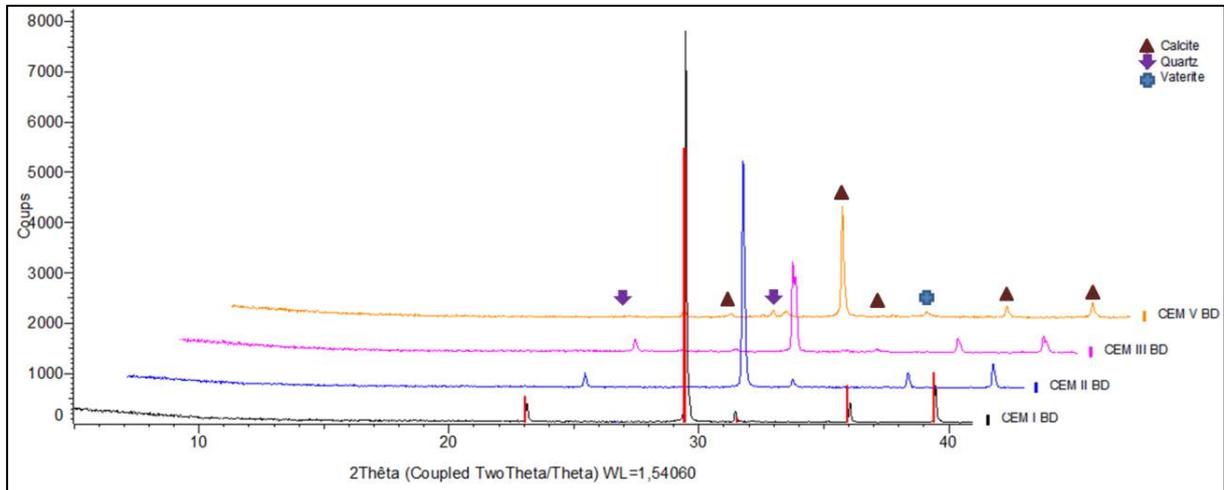


Diffractogrammes X de la surface de **tous les échantillons** de pâte de ciment, pour **2 mois** d'expositions au **milieu général bactérien**.

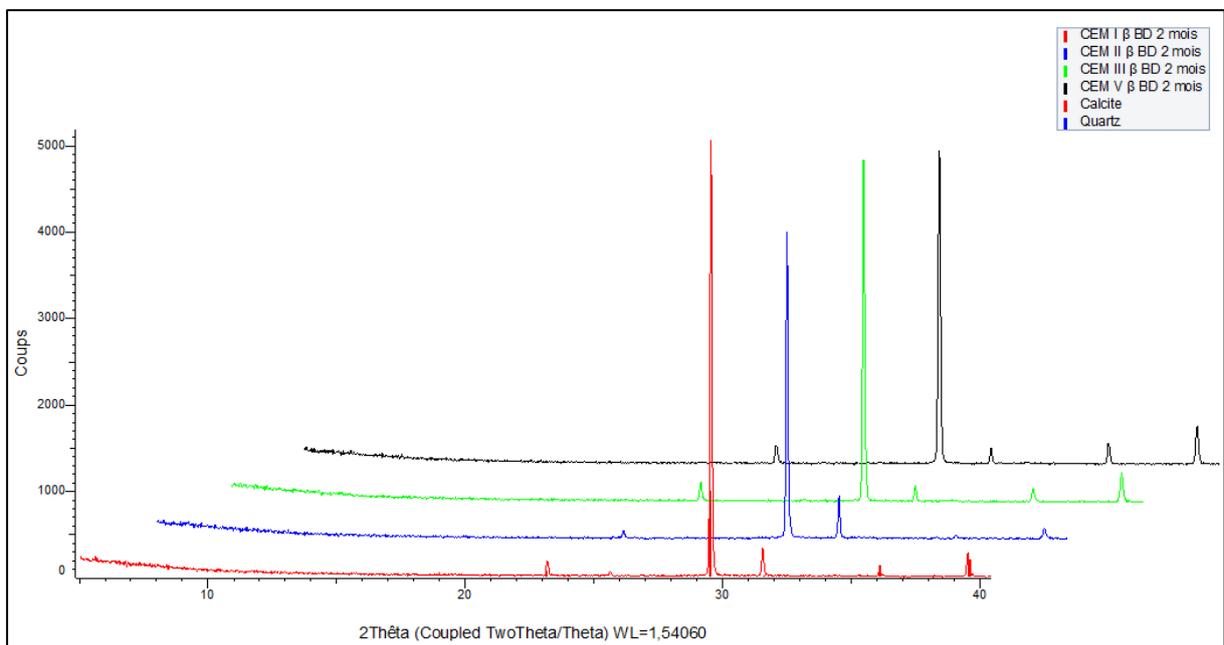


4. Diffractogramme X des échantillons en milieu diatomée

Diffractogrammes X de la surface de **tous les échantillons** de pâte de ciment, pour **1 mois** d'expositions au **milieu de culture diatomée**.



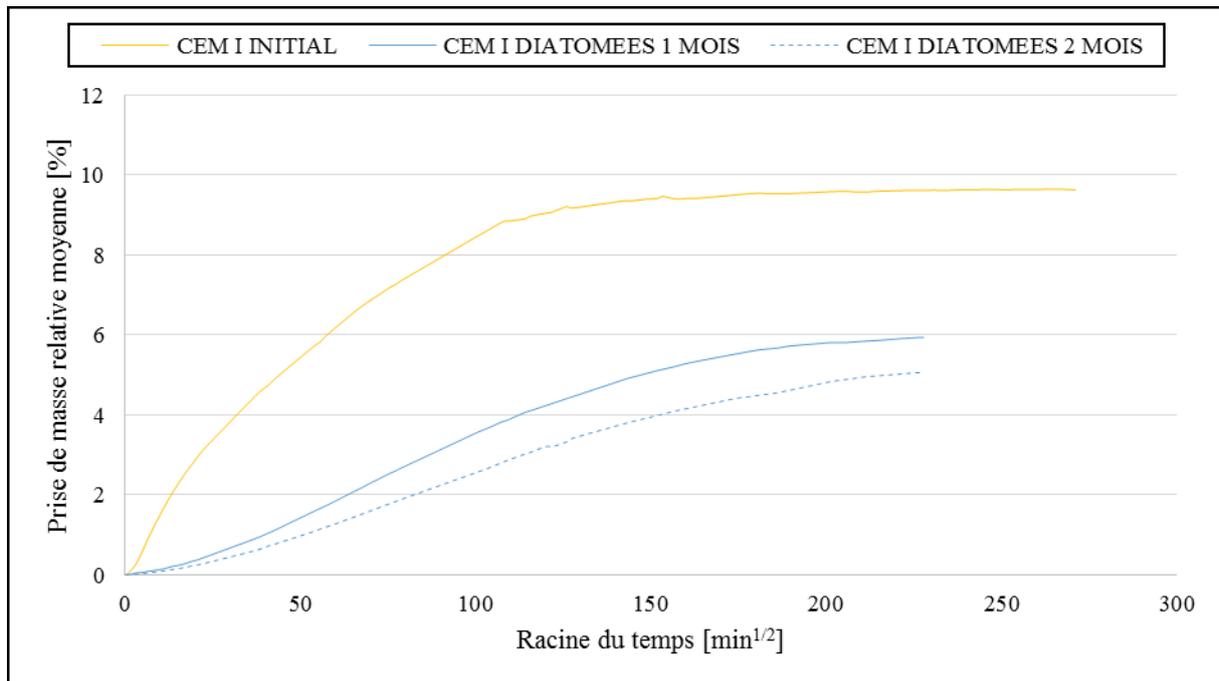
Diffractogrammes X de la surface de **tous les échantillons** de pâte de ciment, pour **2 mois** d'expositions au **milieu de culture diatomée**.



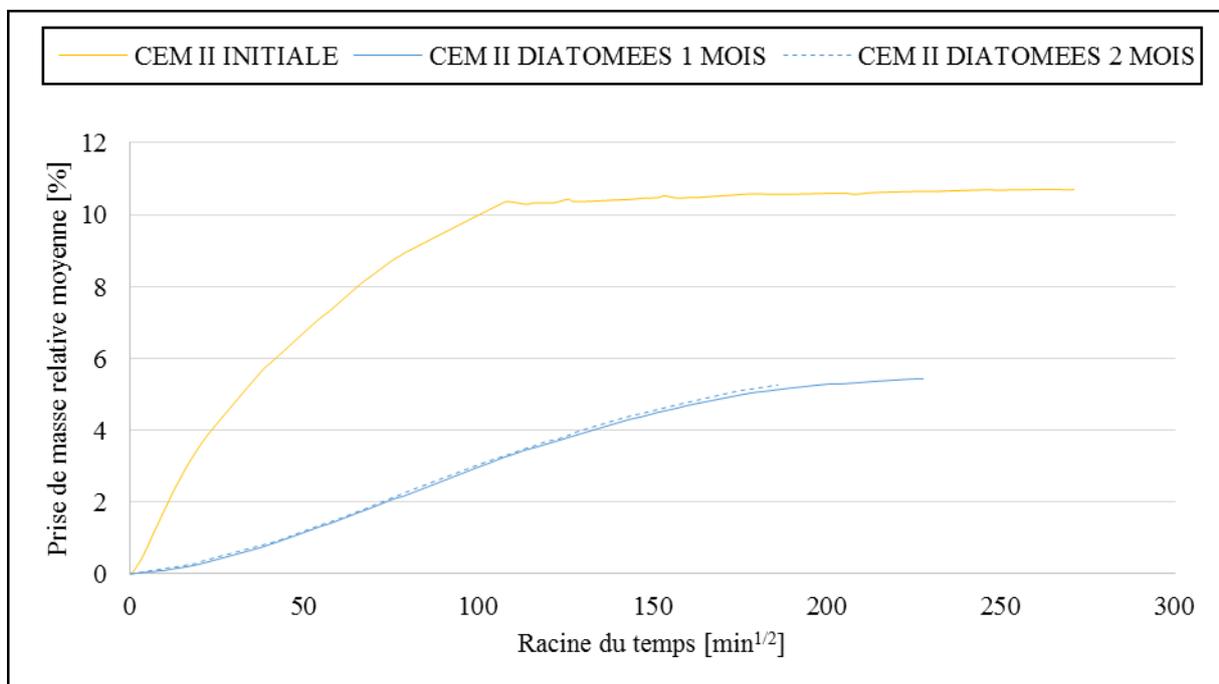
Annexe C :

Courbe d'imbibition capillaire

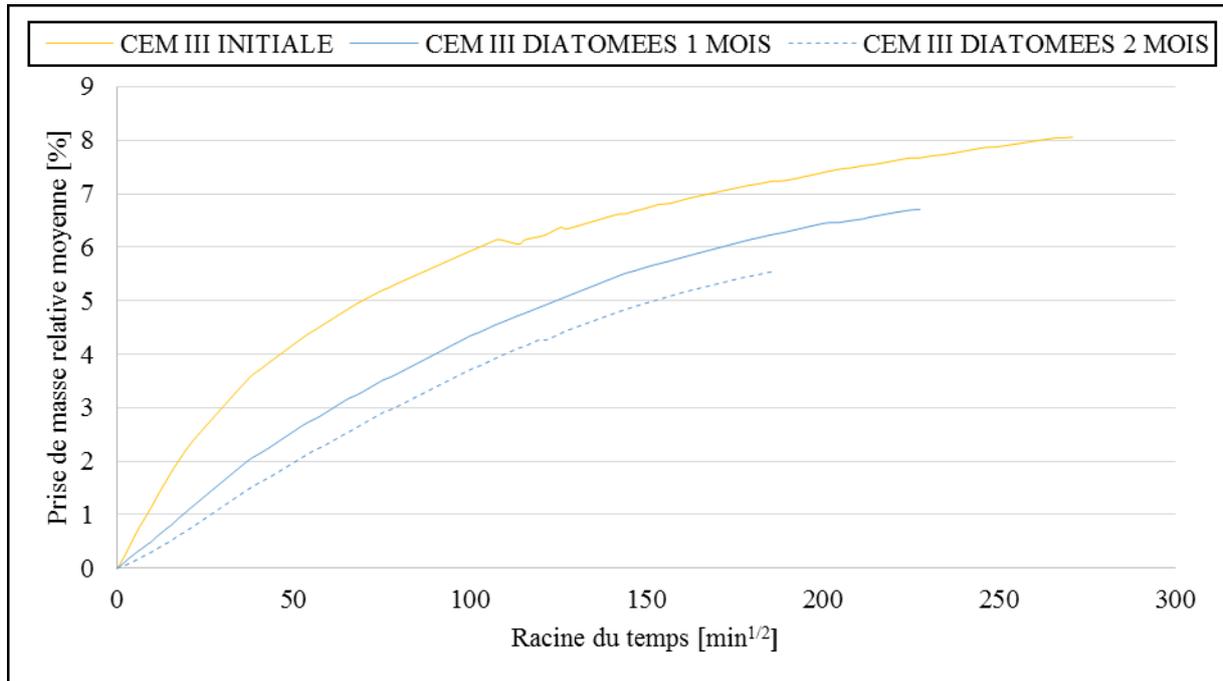
Prises de masses relatives en fonction de la racine carrée du temps de l'échantillon de **CEM I β** dans le **milieu diatomée**



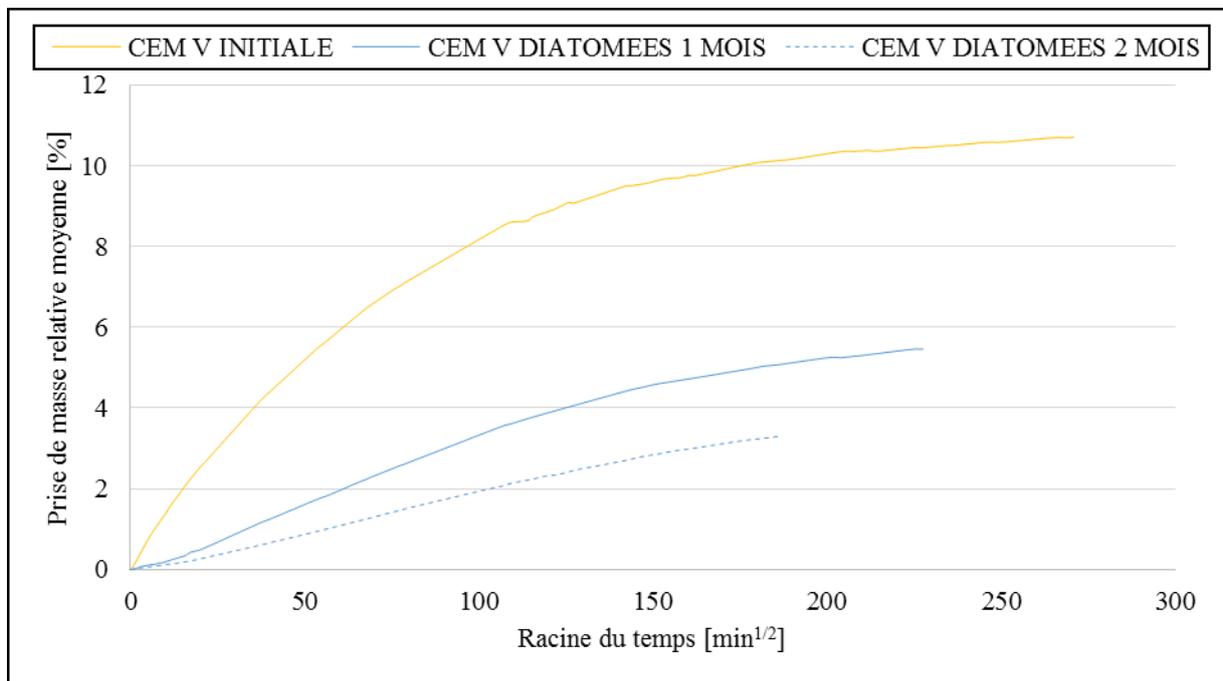
Prises de masses relatives en fonction de la racine carrée du temps de l'échantillon de **CEM II β** dans le **milieu diatomée**



Prises de masses relatives en fonction de la racine carrée du temps de l'échantillon de **CEM III β** dans le **milieu diatomée**



Prises de masses relatives en fonction de la racine carrée du temps de l'échantillon de **CEM V β** dans le **milieu diatomée**



Mots-clés : Biodétérioration, biolixiviation, pâtes de ciment, eau douce naturelle, colonisation bactérienne, diatomées

Résumé : Ces travaux s'intéressent au comportement de pâtes de ciment de différentes natures cimentaires exposées à une eau douce naturelle et plus particulièrement aux interactions avec les éléments biologiques. Cette étude est basée sur l'analyse comparative d'échantillons placés en milieu naturel (Moselle) et en milieux artificiels de laboratoire. Quels que soient les milieux et les microorganismes considérés, les résultats montrent une modification de la minéralogie de la surface et du réseau poreux des échantillons (taux de porosité, propriétés de transferts). Les essais en laboratoire ont permis d'isoler l'influence spécifique des bactéries dans les phénomènes de biolixiviation. Le dénombrement bactérien montre aussi que la densité de cellules présentes dans le biofilm recouvrant les échantillons dépend peu de la nuance cimentaire, excepté pour les ciments au calcaire. Les observations au MEB ont révélé, sur l'ensemble des échantillons, la présence abondante de diatomées en partie recouvertes par une couche minérale issue d'une cristallisation secondaire. La colonisation de la surface par ces diatomées est influencée par la géométrie et la nature minéralogique des échantillons. Les résultats d'essais en laboratoire ont montré qu'elles ont des interactions avec la pâte de ciment, l'évolution des densités de population de diatomées coïncide en effet avec l'évolution des caractéristiques de porosité (taux de porosité, propriétés de transferts).

Keywords: Biodeterioration, bioleaching, cement paste, natural fresh water, biological colonisation, diatoms

Abstract: This work focuses on the behavior of cement pastes of different cement bases exposed to natural fresh water and on the interactions with the biological elements. This study is based on the comparative analysis of samples immersed in natural environment (Moselle) and in artificial laboratory media. Whatever the media and microorganisms considered, the results show a change in the mineralogy of the surface and the porous network of the samples (porosity rate, transfer properties). Laboratory tests highlighted the specific influence of bacteria in bioleaching phenomena. The bacterial count also shows that the density of cells present in the biofilm covering the samples does not mainly depend on the cementitious grade, except for the limestone cements. The SEM observations revealed the abundant presence of diatoms on all samples. Diatoms are partly covered by a mineral layer resulting from secondary crystallization. The colonization of the surface by these diatoms is influenced by the geometry and mineralogical nature of the samples. The results of laboratory tests have shown that they interact with cement paste; the evolution of diatom population densities coincides with changes in porosity characteristics (porosity rate, transfer properties).