



**HAL**  
open science

# Colonisation et biodétérioration des bétons en milieu marin : mise au point d'essais en laboratoire et influence de la composition chimique du matériau cimentaire

Marie-Adeline Ferrero

## ► To cite this version:

Marie-Adeline Ferrero. Colonisation et biodétérioration des bétons en milieu marin : mise au point d'essais en laboratoire et influence de la composition chimique du matériau cimentaire. Génie civil. Normandie Université, 2018. Français. NNT : 2018NORMC248 . tel-02066414

**HAL Id: tel-02066414**

**<https://theses.hal.science/tel-02066414>**

Submitted on 13 Mar 2019

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

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



Normandie Université

## THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité GENIE CIVIL

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

**Colonisation et biodétérioration des bétons en milieu marin : mise au point d'essais en laboratoire et influence de la composition chimique du matériau cimentaire**

**Présentée et soutenue par  
Marie Adeline FERRERO**

**Thèse soutenue publiquement le 26/11/2018  
devant le jury composé de**

Mme ALEXANDRA BERTRON	Professeur des universités, INST NAT SC APPLIQ TOULOUSE	Rapporteur du jury
M. ERIC GARCIA-DIAZ	Professeur des universités, Ecole nat.sup. des Mines d'Alès	Rapporteur du jury
M. MOHAMED BOUTOUIL	Directeur de recherche, Ecole sup.d'ingénieurs ESITC Caen	Directeur de thèse
M. PASCAL CLAQUIN	Professeur des universités, UNIVERSITE CAEN NORMANDIE	Co-directeur de thèse

**Thèse dirigée par MOHAMED BOUTOUIL et PASCAL CLAQUIN, Biologie des organismes et écosystèmes aquatiques (Caen)**









---

# REMERCIEMENTS

---

La partie « remerciements » étant ma partie préférée dans toutes les thèses que j'ai lues, sûrement parce que c'est celle qui demande le moins de réflexion, sachez que je vais faire de mon mieux pour en proposer une digne de ce nom ! Je m'excuse par avance du nombre de « merci » qu'il y aura, mon cerveau ne veut plus s'embêter à chercher des synonymes après huit mois de rédaction.

Pour commencer, je tiens à remercier Monsieur Mohamed Boutouil, mon directeur de thèse. Merci à vous de m'avoir accueillie dans les laboratoires de l'ESITC Caen et d'avoir accepté de m'encadrer. Merci également à Monsieur Pascal Claquin, mon co-directeur de thèse. Un grand merci à toi de m'avoir fait de la place dans les labos du CREC et d'avoir pris le temps de répondre à mes interrogations biologiques.

Je remercie Madame Alexandra Bertron et Monsieur Eric Garcia-Diaz d'avoir accepté d'être membre du jury pour ma soutenance de thèse. Merci pour le temps que vous avez pris pour lire ce manuscrit et évaluer mon travail.

Mes premiers remerciements personnels s'adressent à Alexandrine Gerbier, Hélène Jarnet ainsi que Frédéric Dimnet, la team « colle-carrelage » de Mapei, qui m'ont transmis mes premières notions de chimie cimentaire lors de mon stage de fin d'étude d'ingénieur. C'est grâce à vous et votre bonne humeur quotidienne que j'ai décidé de m'orienter dans ce domaine. Merci de m'avoir supportée! Je sais que ce n'était pas facile ... ! ;)

Naturellement, mes remerciements s'adressent à toute l'équipe du labo de l'ESITC. En premier lieu, forcément, Mariane (Chalut, chat va ?!). Merci pour tout, il y en a tellement ! Les matinées potins, les formations dans le froid, tes encouragements à refaire mes manip quand je n'en avais pas envie, les journées de TP à 2 pour faire passer le temps plus vite, les pauses café improvisées pour éviter que je déprime dans mes manip ! Je suis

certaine d'en oublier les  $\frac{3}{4}$  ! Désolée pour tous mes craquages (Felicita et Pontivy plus particulièrement), les Snaps ou les fioles et éprouvettes que j'ai laissées traîner dans les labos ...! Merci de m'avoir supportée !

Merci également à Olivier, mon co-bureau dès le début ! On aura soutenu à 1 semaine d'écart, fière de nous ! Je ne garderais que de bons souvenirs de notre planning de rédaction inscrit sur le tableau blanc avec ton décompte jour par jour jusqu'au rendu du manuscrit, de tes équations recouvertes de chatons trop mignons ou encore de la déco bleu-blanc-rouge du bureau en temps de Coupe du Monde ! Ne soutiens pas le PSG trop longtemps, Lyon est une bien meilleure équipe ! Merci également Marie de m'avoir accueillie chez vous pour des dîners improvisés et des soirées jeux dont on se souviendra ...

Merci à Malo et sa peur du petit chien (j'ai déjà oublié comment on le dit en breton), Karim et ses talents de négociateurs, Lalla Fouzia, Amal, Aurélie labo, Aurélie recherche, Valentin (Samuel, je n'ai pas eu le choix, j'ai été obligée de mettre son nom avant le tien, j'espère que tu ne m'en tiendras pas rigueur !), Chat-muel, Sahar, Tuanh, Huyen et Nassim ainsi que Dang, Héctor, Antoine, Stéphanie et Jonathan.

Merci David d'avoir été disponible pour toutes mes demandes de matériel diverses et variées. Grâce à toi j'ai appris à ranger le matériel dès que je n'en avais plus besoin et en effet, c'est pas trop mal ! Et puis ça évite à Mariane de s'énerver dans les labos (sans rancune Baudo !).

Merci Fred pour toutes nos conversations à propos de 420, de navigation ou autres ... ;) Merci pour tes conseils avisés pour le futur, pour ton soutien dans mes différentes recherches et surtout ta disponibilité.

Merci ou plutôt courage à Sylvain le nain, tu vas y arriver ! Merci d'avoir été mon chauffeur pendant ma période de blessure de guerre ! J'espère que tu trouveras quelqu'un d'autre avec qui faire des concours de grimaces ... ! Courage également à Marine qui prend la suite de mon sujet !

Merci aux personnes des études qui m'ont fait passer des pauses déjeuner plutôt sympathiques ! Séverine (« je suis en accord avec moi-même ») en particulier, merci pour tes encouragements et tes prises de recul humoristiques. La vie est moins dure comme ça !

Merci Jean-Paul pour ta disponibilité au CREC durant la phase d'installation de mon dispositif. Je me souviendrais longtemps de cet après-midi de mi-novembre passée les mains dans l'eau de mer à 6°C pour tout mettre en place.

Merci aux élèves que j'ai encadrés en stage, en projet ou en TP. Votre travail, votre curiosité et les discussions qui en ont découlées m'ont permis de sans cesse remettre en question mon travail et la façon de vous le présenter.

Parce que je n'aurais pas pu supporter mes trois années caennaises (peut-être plus ?) sans sport, un énorme merci à mon équipe de foot préférée ! C'était du jamais vu de voir évoluer une lyonnaise au côté de normandes, mais au final on s'en est plutôt bien tirée au vu des résultats en championnat et coupe ! Merci de m'avoir appris le dialecte normand et désolée d'en avoir abusé au point de vous fatiguer avec ! Merci de m'avoir fait penser à autre chose que ma thèse, merci de m'avoir fait aimer la Normandie malgré la pluie, le froid et le brouillard ...! Merci Andréa, Valou, Marion, Anne-Lise et Marina de m'avoir fait relativiser dans mes soucis et d'avoir pris soin de moi quand j'en avais besoin. Merci Agathe pour ton soutien durant ces derniers mois, il m'a été précieux pour avancer et boucler cette thèse !

Merci aussi à toute la Dream Team 2B (Clem, Nico, Flo, Maxine, Anna, Tansu, Quentin, Chachou du 26, Cassandre, Elodie et en particulier Renaud et Lola) ! Merci pour votre soutien, vos messages d'encouragements et forcément nos soirées toujours bien arrosées !

Merci à mon ordinateur qui a, pour l'instant, bien tenu le coup (j'attends la compilation de tous les chapitres pour crier victoire). Merci au Newport d'avoir accueilli la détresse de doctorants autour de quelques bières après les journées de labo. Merci à mes diatomées d'avoir survécu malgré mes manipulations un peu brutales. Merci à l'équipe de France pour la 2<sup>ème</sup> étoile.

Merci à tous ceux qui m'ont soutenue de près ou de loin pendant ces trois ans : Claire (+ !), Lucie, Josée, Mimie, Paddie, Sylvainggg, Isabelle, Mélo.

Enfin pour terminer, merci papa et maman pour votre soutien depuis le tout début. Merci d'avoir toujours cru en moi, malgré mes baisses de moral. Merci pour tous vos encouragements, vos messages, vos cartes postales, vos visites à Caen (et le burger savoyard). Merci Jean-Do et Yves-Melaine pour vos GIF, vos Snaps, vos FaceTime qui m'auront toujours fait rire ! Mes remerciements ne seront jamais à la hauteur de tout ce que vous avez fait pour moi.

J'espère ne pas avoir oublié quelqu'un dans ces quelques lignes de remerciements. Si c'est le cas, je m'en excuse et je vous invite à suivre la formule suivante : Merci à ..... (écrire le nom) pour ton soutien pendant ces 3 ans. Heureusement que tu étais là !



---

# TABLE DES MATIERES

---

REMERCIEMENTS .....	i
NOTATIONS .....	xi
INTRODUCTION GENERALE .....	1
Chapitre 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE .....	5
Introduction .....	6
1. Contexte .....	6
1.1. Enjeu de la biodiversité.....	6
1.2. Conséquences de l'urbanisation sur le milieu marin.....	9
2. Rappel des connaissances.....	10
2.1. Matériaux cimentaires.....	10
2.1.1. Ciment .....	11
2.1.1.1. Fabrication du ciment.....	11
2.1.1.2. Hydratation du ciment .....	11
2.1.2. Sable.....	13
2.1.3. Eau .....	13
2.2. Biologie marine .....	14
2.2.1. Composition de l'eau de mer .....	14
2.2.2. Diatomées .....	15
2.2.2.1. Généralités .....	15
2.2.2.2. Le frustule .....	15
2.2.2.3. Sécrétion d'exopolysaccharides.....	17
2.2.3. Photosynthèse.....	17

---

2.2.4.	Cylindrotheca closterium.....	17
2.2.5.	Biofilm .....	19
2.2.5.1.	Création d'un film primaire .....	20
2.2.5.2.	Transport.....	21
2.2.5.3.	Adhésion .....	21
2.2.5.4.	Maturation .....	21
2.2.5.5.	Détachement .....	22
3.	Mécanismes d'interactions matériaux cimentaires – eau de mer – microorganismes	22
3.1.	Interactions chimiques.....	23
3.1.1.	Ions chlorures et sulfates.....	24
3.1.2.	Dioxyde de carbone.....	24
3.1.3.	Lixiviation .....	25
3.2.	Interactions physiques .....	25
3.3.	Interactions biologiques .....	26
3.3.1.	Facteurs environnementaux externes .....	27
3.3.2.	Facteurs internes aux matériaux cimentaires .....	29
4.	Conséquences de la colonisation sur les ouvrages cimentaires.....	31
4.1.	Biodétérioration.....	31
4.2.	Bioprotection.....	34
	Conclusion.....	35
	Chapitre 2 : MATERIELS ET METHODES.....	37
	Introduction .....	38
1.	Formulation du matériau cimentaire .....	38
1.1.	Choix des matières premières .....	38
1.1.1.	Ciment .....	38
1.1.2.	Sable.....	39
1.1.3.	Eau .....	40
1.2.	Formulations .....	41
1.3.	Confection des éprouvettes .....	42
2.	Caractérisation chimique du matériau .....	43
2.1.	pH.....	43
2.2.	Chromatographie ionique .....	44

2.3.	Analyses thermogravimétriques .....	45
2.3.1.	Détermination de la quantité de portlandite .....	47
2.3.2.	Détermination de la quantité de carbonate de calcium .....	47
2.4.	Rugosité.....	48
3.	Culture de la souche de diatomée .....	49
3.1.	Milieu de culture .....	49
3.2.	Croissance de la diatomée <i>Cylindrotheca closterium</i> .....	52
3.2.1.	Suivi de la densité optique .....	52
3.2.2.	Suivi du pH du milieu de culture.....	53
3.2.3.	Analyse du biofilm .....	53
3.2.4.	Synthèse.....	55
4.	Caractérisation de la colonisation.....	55
4.1.	Intensité d'encrassement par spectrocolorimétrie .....	55
4.2.	Mesure de fluorimétrie.....	59
4.3.	Analyse d'images.....	62
5.	Caractérisation chimique de l'eau de mer .....	64
5.1.	pH.....	64
5.2.	Chromatographie ionique .....	65
	Conclusion.....	66
	Chapitre 3 : DISPOSITIF EXPERIMENTAL DE COLONISATION ET RESULTATS .....	67
	Introduction .....	68
1.	Dispositif expérimental en laboratoire .....	68
1.1.	Lumière.....	68
1.2.	Composition du milieu marin et température.....	70
1.3.	Aération et mouvement physique de l'eau de mer.....	70
1.4.	Mise en place du dispositif expérimental.....	71
1.4.1.	Matériel.....	71
1.4.2.	Environnements d'étude.....	72
2.	Suivi de la colonisation des mortiers en laboratoire .....	73
2.1.	Suivi de la colonisation.....	74
2.1.1.	Face supérieure .....	74
2.1.1.1.	Analyse d'image .....	74
2.1.1.2.	Spectrocolorimétrie.....	75

---

2.1.1.3. Fluorimétrie.....	76
2.1.1.4. Comparaison des trois outils .....	77
2.1.2. Faces latérales.....	80
2.1.2.1. Spectrocolorimétrie.....	80
2.1.2.2. Fluorimétrie.....	81
2.1.2.3. Comparaison des deux outils.....	81
2.1.3. Face inférieure .....	83
2.1.3.1. Spectrocolorimétrie.....	83
2.1.3.2. Fluorimétrie.....	84
2.1.3.3. Comparaison des deux outils.....	85
2.2. Synthèse .....	87
2.2.1. Outils de caractérisation .....	87
2.2.2. Comparaison de la colonisation des faces des éprouvettes .....	88
3. Evaluation des paramètres chimiques des mortiers et du milieu marin artificiel	90
3.1. Rappels des outils utilisés .....	90
3.2. Evaluation de la biodétérioration .....	91
3.2.1. Ions chlorure.....	92
3.2.2. Ions sulfate .....	93
3.2.3. Ions sodium.....	94
3.2.4. Ion calcium .....	94
3.2.4.1. Portlandite.....	95
3.2.4.2. Carbonate de calcium .....	96
3.2.5. Ions nitrate .....	97
3.2.6. Mesure du pH des mortiers.....	98
3.3. Suivi de la composition chimique du milieu .....	99
3.3.1. Ions nitrate .....	99
3.3.2. Ions majeurs en eau de mer.....	100
3.3.3. Ions calcium .....	101
3.3.4. Mesure du pH .....	102
3.3.5. Rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème....	103
Conclusions.....	104
Chapitre 4 : ETUDE DES FACTEURS D'INFLUENCE SUR LA COLONISATION .....	107
Introduction .....	108



---

Comparaison des résultats de la colonisation suivie par spectrophotométrie et fluorimétrie .....	109
Conclusions .....	111
PARTIE I : FACTEURS INTERNES AUX MATERIAUX CIMENTAIRES .....	114
1. Impact de la formulation de la matrice solide.....	115
1.1. Effet de la formulation sur la colonisation.....	115
1.2. Suivi de la composition chimique du matériau.....	117
1.2.1. Chlorures.....	118
1.2.2. Sulfates.....	121
1.2.3. Calcium.....	123
1.2.3.1. Portlandite .....	124
1.2.3.2. Carbonate de calcium .....	126
1.2.4. Variation du pH des formulations .....	129
1.3. Suivi de la composition chimique du milieu marin artificiel .....	130
1.3.1. Nutriments : nitrates .....	131
1.3.2. Ions majeurs en eau de mer .....	131
1.3.3. Lixiviation : ions calcium.....	132
1.3.4. Variation du pH de l'eau de mer artificielle .....	133
1.4. Conclusions .....	135
2. Impact de la composition de l'eau de gâchage .....	136
2.1. Effet de la formulation sur la colonisation.....	136
2.2. Suivi de la composition chimique du matériau.....	138
2.2.1. Chlorures.....	138
2.2.2. Sulfates.....	140
2.2.3. Calcium.....	142
2.2.3.1. Portlandite .....	142
2.2.3.2. Carbonate de calcium .....	143
2.2.4. Nitrates .....	145
2.2.5. Variation du pH des formulations .....	147
2.3. Suivi de la composition chimique du milieu marin artificiel .....	148
2.3.1. Nutriments : nitrates .....	149
2.3.2. Ions majeurs en eau de mer .....	149
2.3.3. Lixiviation : ions calcium.....	150

2.3.4. Variation du pH de l'eau de mer artificielle .....	151
2.4. Conclusions .....	152
Conclusion.....	154
PARTIE II : FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX EXTERNES .....	156
Introduction .....	157
1. Résultats de la colonisation en milieu marin semi-naturel, étude saisonnière ....	158
1.1. Automne .....	158
1.2. Hiver .....	159
1.3. Printemps .....	161
1.4. Fin d'été.....	164
2. Synthèse des résultats et comparaison au milieu marin artificiel .....	166
Conclusion.....	171
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....	173
BIBLIOGRAPHIE .....	179
LISTE DES FIGURES.....	187
LISTE DES TABLEAUX.....	197
ANNEXES.....	199

---

# NOTATIONS

---

Symbole	Formule chimique	Nom
C	CaO	Oxyde de calcium
S	SiO <sub>2</sub>	Dioxyde de silicium
A	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Alumine
F	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Oxyde de fer
M	MgO	Oxyde de magnésium
$\bar{S}$	SO <sub>3</sub>	Trioxysulfure de soufre
$\bar{C}$	CO <sub>2</sub>	Dioxyde de carbone
H	H <sub>2</sub> O	Eau
C <sub>3</sub> S	Ca <sub>3</sub> SiO <sub>5</sub> ou 3CaO,SiO <sub>2</sub>	Silicate tricalcique
C <sub>2</sub> S	Ca <sub>2</sub> SiO <sub>4</sub> ou 2CaO,SiO <sub>2</sub>	Silicate dicalcique
C <sub>3</sub> A	Ca <sub>3</sub> Al <sub>2</sub> O <sub>6</sub> ou 3CaO,Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Aluminate tricalcique
C <sub>4</sub> AF	Ca <sub>4</sub> Al <sub>2</sub> O <sub>10</sub> Fe <sub>2</sub> 4CaO,Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ,Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	ou Aluminoferrite tetracalcique
CH	Ca(OH) <sub>2</sub>	Portlandite
C-S-H	(CaO) <sub>x</sub> -SiO <sub>2</sub> -(H <sub>2</sub> O) <sub>y</sub>	Silicate de calcium hydraté

$C_6\bar{A}\bar{S}_3H_{32}$	$Ca_6Al_2(SO_4)_3(OH)_{12},26H_2O$	Ettringite
$C_3A.C\bar{S}.H_{12}$	$(CaO)_4-Al_2O_3-(SO_3)-(H_2O)_{12}$	Monosulfoaluminate (Afm)

---

# INTRODUCTION

## GENERALE

---

Dans le contexte actuel d'accroissement de la population mondiale, il est nécessaire de construire d'avantage d'infrastructures pour répondre à une pression industrielle grandissante. Ces constructions se font sur la mer et participent au phénomène de littoralisation. Le béton est le matériau qui est majoritairement utilisé pour ce type d'infrastructures, qui peuvent être des ports, des digues ou encore des brise-lames.

L'eau de mer est connue pour être un milieu particulièrement agressif vis-à-vis des matériaux cimentaires ; des dégradations physiques, chimiques et biologiques sont observées dans le temps.

Les dégradations physiques et chimiques comme l'effet de la houle sur le matériau ou l'impact de la composition chimique de l'eau de mer sur la matrice cimentaire sont bien documentées et comprises par la communauté scientifique. Les dégradations d'origine biologique proviennent essentiellement de l'activité des organismes marins qui colonisent peu à peu la surface du matériau cimentaire. A long terme, leur activité peut avoir des conséquences sur l'esthétisme, les performances mécaniques ainsi que la durabilité du matériau. Ce phénomène est connu sous le nom de biodétérioration. Ces dégradations sont actuellement peu voire pas étudiées.

Dans d'autres milieux très spécifiques tels que les réseaux d'assainissement ou les revêtements de façades, les interactions entre le matériau cimentaire et les organismes sont davantage étudiées. De nombreux protocoles ont été proposés afin de permettre une caractérisation de la colonisation et une meilleure compréhension des phénomènes de

biodétérioration qui en résultent. Ces protocoles ne sont malheureusement pas adaptés pour l'étude des interactions en milieu marin.

Ce sujet de recherche se propose donc d'effectuer une première étude en laboratoire des interactions existant entre le milieu marin et le matériau cimentaire afin de mettre en évidence le phénomène de colonisation et les conséquences de celui-ci sur la matrice cimentaire.

Plusieurs objectifs ont été fixés pour cette thèse :

- Mise en place d'un dispositif expérimental permettant de reproduire le milieu marin en laboratoire. Ce dispositif expérimental se devra d'être facilement réalisable et reproductible en laboratoire ;
- Etude des outils de caractérisation de la colonisation pertinents. Ce choix effectuera après une revue bibliographique des outils à disposition ;
- Evaluation de l'impact de la présence d'un biofilm sur les propriétés chimiques du matériau cimentaire et mise en évidence des phénomènes de biodétérioration sur la matrice cimentaire ;
- Evaluation de l'impact de la composition du matériau cimentaire et des conditions environnementales sur la colonisation.

Ce manuscrit de thèse est organisé en quatre chapitres, présentant les principaux résultats obtenus lors de ce travail de recherche.

Le **chapitre 1** est consacré à une étude bibliographique multidisciplinaire. Après avoir rapidement abordé le contexte bibliographique de ce sujet de thèse, des rappels de connaissances sont effectués, aussi bien au niveau cimentaire qu'au niveau biologique. Les mécanismes d'interactions ayant lieu entre les matériaux cimentaires, l'eau de mer et les microorganismes sont ensuite étudiés. Pour terminer, les conséquences de la colonisation sur les matériaux cimentaire sont évaluées.

Le **chapitre 2** présente les différents matériaux utilisés pour cette étude ainsi que les méthodes de caractérisation chimique de ceux-ci. La culture de la souche de microalgue utilisée est détaillée. Les outils de caractérisation utilisés par la suite sont présentés, afin de comprendre leur mode de fonctionnement.

Le **chapitre 3** détaille la première manipulation effectuée, au travers tout d'abord de la mise en place du dispositif expérimental puis du suivi de la colonisation et de la biodétérioration des échantillons immergés. Ce chapitre permet d'affiner ensuite les

méthodes de caractérisation pour les manipulations futures. La composition chimique du matériau cimentaire et de l'eau de mer est également étudiée.

Le **chapitre 4** est divisé en deux parties. Dans un premier temps, l'impact des facteurs internes aux matériaux cimentaires sur la colonisation est étudié par l'intermédiaire de différentes formulations immergées. Dans un second temps, l'influence des facteurs environnementaux sur la colonisation est évaluée en milieu semi-naturel. Les outils de caractérisation sont les mêmes que ceux utilisés dans le chapitre 3. Certaines manipulations ont été améliorées ou modifiées.

Pour terminer, les conclusions et perspectives résultant de ce travail sont exposées dans la dernière partie de ce rapport.





---

# **Chapitre 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

---

## INTRODUCTION

Le premier chapitre de ce manuscrit est destiné à effectuer un état des lieux sur le comportement des bétons en milieu marin. Tout d'abord, le sujet de cette étude sera placé dans son contexte global, afin de mieux comprendre les problématiques liées à cette thèse. Le phénomène de littoralisation sera défini à l'aide de quelques exemples concrets, puis l'utilisation plus spécifique du matériau béton dans l'environnement marin sera évaluée au travers des études déjà existantes sur ce sujet. Dans un second temps, un rappel des connaissances sera effectué concernant tout d'abord le matériau cimentaire puis la biologie marine pour se concentrer plus précisément sur la diatomée utilisée lors de cette thèse. La partie suivante étudiera les interactions ayant lieu entre le matériau cimentaire, l'eau de mer et les microorganismes. Les processus physico-chimiques ainsi que biologique mis en jeu seront détaillés, puis l'impact des facteurs environnementaux et des facteurs internes au matériau cimentaire seront abordés. Enfin, pour terminer cette étude bibliographique, l'effet de la colonisation sur les matériaux cimentaire sera évalué à travers différentes études.

### 1. CONTEXTE

#### 1.1. Enjeu de la biodiversité

Les littoraux sont des zones particulièrement attractives pour les hommes et favorables pour leurs activités. Du fait de la mondialisation, l'attractivité des littoraux s'est accentuée depuis le XX<sup>ème</sup> siècle ; l'IUCN (International Union for Conservation of Nature) estime qu'actuellement 60% de la population mondiale vit dans une grande zone côtière, c'est-à-dire à moins de 150 km du rivage (Observatoire du littoral et al., 2008). En France, le littoral représente 4% du territoire et accueille un peu plus de 10% de la population (Zaninetti, 2006). Cet afflux de populations en bord de mer porte le nom de « littoralisation » et mène à une artificialisation toujours plus importante des littoraux (Figure 1-1). Selon l'(Observatoire du littoral et al., 2008), 5 à 10 km de côtes sont touchées ou détruites tous les jours par ce phénomène.

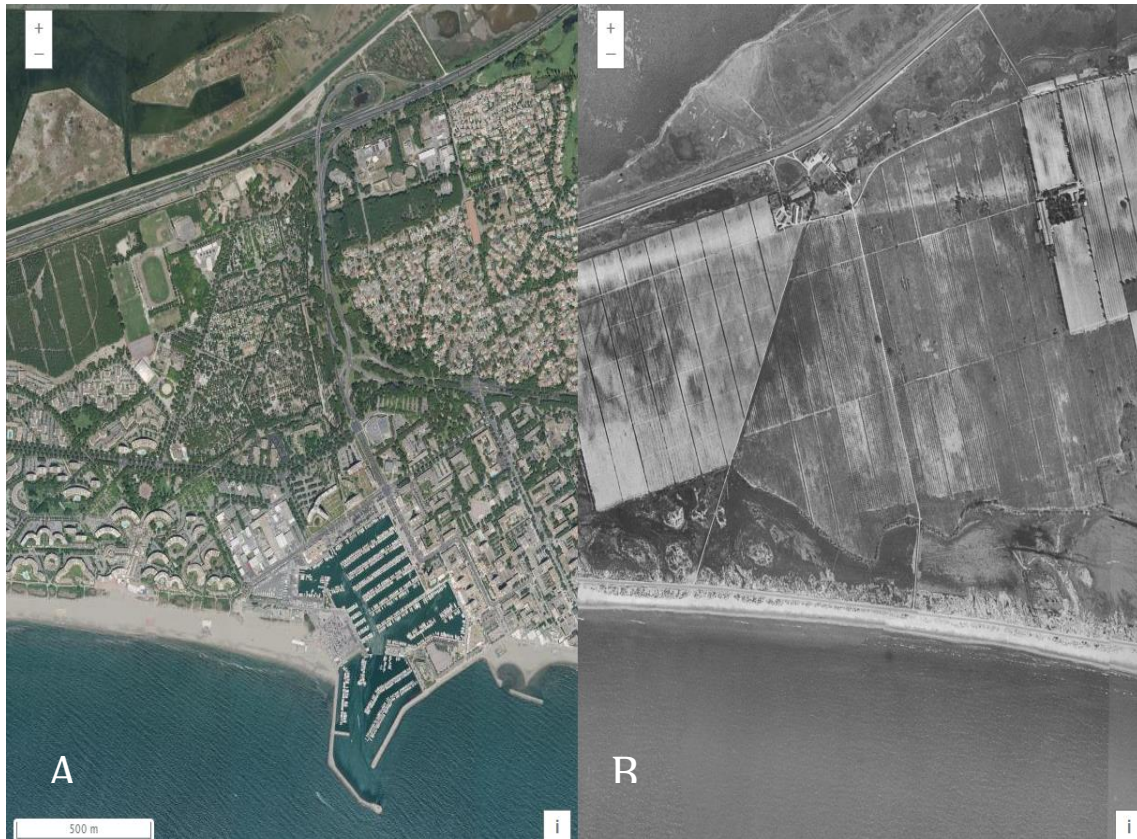


Figure 1-1 : Evolution de l'urbanisation de la station balnéaire de la Grande Motte. A : vue aérienne en 2018, B : vue aérienne en 1963 (IGN, 2018)

Chaque année, l'urbanisation du bord de mer augmente de 2,6%, portant le nombre de villes côtières de 412 en 1950 à 2129 en 2015 (Rangel-Buitrago et al., 2017). La pression concernant la construction des logements est 2,5 fois plus importante en bord de mer en comparaison à la moyenne métropolitaine. La Figure 1-2 illustre l'augmentation du nombre de maisons (principales ou secondaires) construites entre 2000 et 2009 : les côtes méditerranéennes et atlantiques sont les plus touchées. En effet, le littoral méditerranéen est celui qui attire le plus, suivi du littoral atlantique puis du littoral de la Manche.

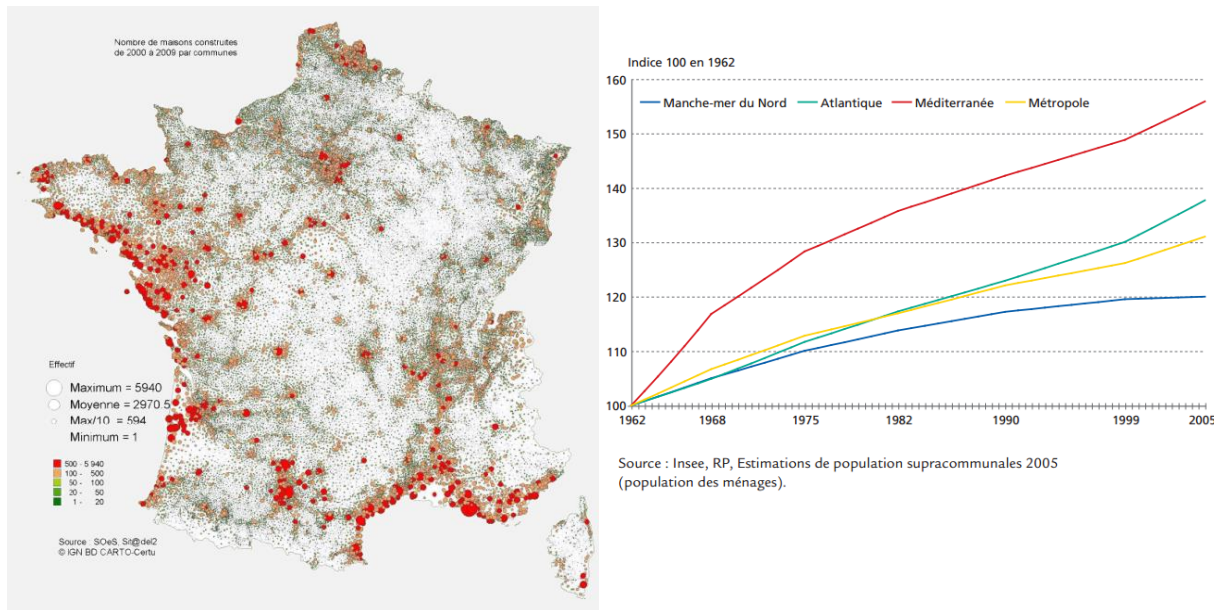


Figure 1-2 : (gauche) évolution du nombre de maisons construites de 2000 à 2009 par communes, (droite) évolution de la population des cantons littoraux par façades maritimes entre 1962 et 2005 (Insee)

Le tourisme est bien entendu lui aussi bénéficiaire de la littoralisation des côtes. Le nombre de résidences secondaires, d’hôtels ou d’aménagements de loisir a également augmenté durant ces dernières années. Les villes de bord de mer possèdent pour la plupart des ports et des infrastructures, permettant d’exercer une activité de pêche artisanale ou industrielle mais aussi d’échanger avec le monde entier. Pour cela, il a été nécessaire de construire des structures pour effectuer ces activités, stocker les produits ainsi que les bateaux. Les plus gros ports mondiaux participent à l’attrait des populations rurales, les activités se développent encore plus rapidement comme le montre la Figure 1-3.



Figure 1-3 : Ports de Singapour (Ships&Ports, 2017) (gauche) et Shanghai (droite) (Dailymail, 2013)

Pour gagner de la place, les constructions avancent alors sur la mer par l’intermédiaire de polders (assèchement d’un terrain situé sous le niveau de la mer) ou de terre-pleins (gain de terre obtenu par remblaiement au-dessus du niveau de la mer, Figure 1-4).





Figure 1-4 : Terre plein ayant permis la construction de l'aéroport de Nice (Batirama, 2018)

Le réchauffement climatique joue également un rôle non négligeable dans le phénomène d'artificialisation des littoraux. En raison de la montée des eaux, les côtes sont de plus en plus sujettes à des épisodes de crues et d'érosion. Pour protéger les populations vivant en bord de mer, il a été nécessaire d'ériger des protections telles que des brise-lames ou des digues (Figure 1-5).



Figure 1-5 : Illustration d'un brise lame à Luc-sur-Mer (Calvados, France)

## 1.2. Conséquences de l'urbanisation sur le milieu marin

L'urbanisation croissante des littoraux a inévitablement des conséquences sur le milieu marin. Tout d'abord, d'après (Morvan, 1984), en raison de l'extraction de matières premières nécessaires pour le domaine de la construction, ainsi que l'édification de ports qui modifient le transport des sédiments, les côtes sont de plus en plus soumises au phénomène d'érosion (Figure 1-6).



Figure 1-6 : Erosion du littoral à Soulac (Gironde) (FranceCulture, 2017)

De plus, la construction massive d'infrastructures engendre la destruction des écosystèmes marins, amenuisant ainsi toute la biodiversité d'un lieu (Liziard, 2013 ; Robert, 2009). Les milieux marins sont donc fragilisés par la création de zones artificielles pauvres en biodiversité. Le béton est le matériau majoritairement utilisé dans le cadre de ces constructions, en raison de son excellente résistance à l'eau de mer, de son faible coût de production, de sa facilité de mise en œuvre ou encore de la disponibilité des matières premières partout dans le monde (Mehta, 1991).

## 2. RAPPEL DES CONNAISSANCES

### 2.1. Matériaux cimentaires

Un matériau cimentaire peut être défini comme un matériau fabriqué à base d'un mélange de ciment et d'eau. L'ajout de granulats permet de fabriquer un mortier (ajout de sable) ou un béton (ajout de sable, gravillons et gravier) (Figure 1-7).

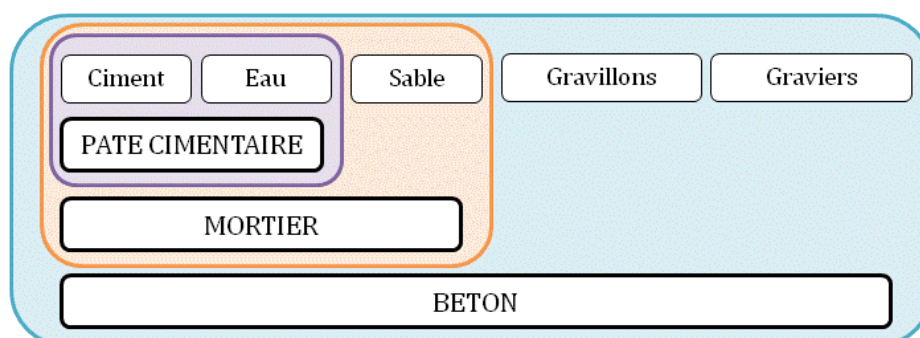


Figure 1-7 : Illustration des différents matériaux cimentaires existants

Dans cette partie, les différents constituants d'un matériau cimentaire type « mortier » vont être présentés.

## 2.1.1. Ciment

### 2.1.1.1. Fabrication du ciment

Le procédé global de fabrication du ciment est illustré à l'aide de la Figure 1-8.

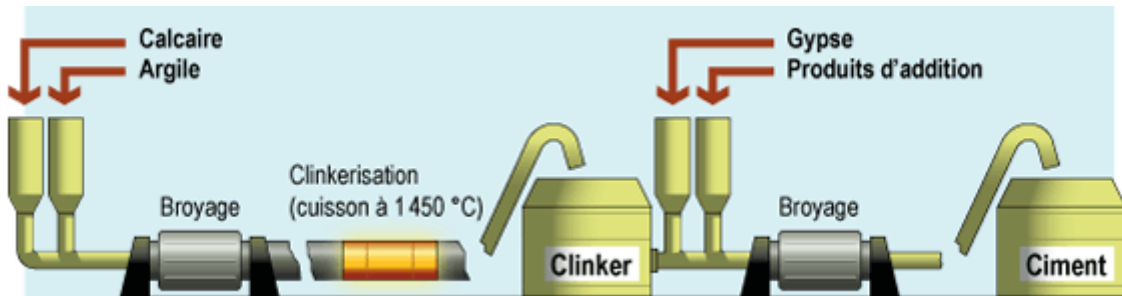


Figure 1-8 : Etapes menant à la fabrication du ciment (Infographie : Eric Menneteau, CNRS)

Le ciment Portland (Ordinary Portland Cement – OPC) est le principal liant hydraulique utilisé pour la construction d'infrastructures marines. Il est fabriqué à partir d'un cru de ciment (mélange issu d'un premier broyage) contenant du calcaire ainsi que de l'argile. Ce cru est ensuite porté à haute température (1450°C) dans un four. Après refroidissement, le clinker Portland est obtenu. Il est constitué en majorité d'oxyde de calcium (CaO) mais contient également du dioxyde de silicium (SiO<sub>2</sub>), de l'oxyde d'aluminium (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) ainsi que des constituants secondaires en très faibles quantités. La composition moyenne du clinker de ciment Portland est donnée ci-dessous (Tableau 1-1). La notation utilisée a été détaillée en début de manuscrit.

Composant	Dosage (%)
Silicate tricalcique (C <sub>3</sub> S)	60 - 65
Silicate bicalcique (C <sub>2</sub> S)	10 - 20
Aluminate tricalcique (C <sub>3</sub> A)	8 - 12
Aluminoferrite tétracalcique (C <sub>4</sub> AF)	8 - 10

Tableau 1-1 : Composition d'un clinker de ciment Portland (Ollivier et Vichot, 2008)

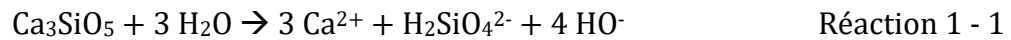
Il est également possible d'y ajouter d'autres constituants tels que des fillers ou des cendres volantes qui permettront de modifier les caractéristiques physiques ou chimiques du ciment obtenu.

### 2.1.1.2. Hydratation du ciment

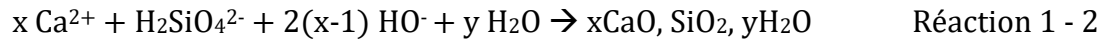
Afin de mieux comprendre le comportement des matériaux cimentaires dans la suite de cette thèse, il est indispensable d'avoir une vue d'ensemble des différentes réactions chimiques qui ont lieu lors de l'hydratation du ciment. Cette partie repose sur les connaissances issues de l'ouvrage d'(Ollivier et Vichot, 2008).

Tout d'abord, en chimie des ciments, une nomenclature différente est utilisée pour écrire les transformations chimiques. Par la suite, la notation cimentaire sera utilisée.

Le silicate tricalcique est le constituant majoritaire du clinker (Tableau 1-1). Lorsqu'il entre en contact avec l'eau, il se dissout selon la réaction 1 – 1 :



La solution devient alors très vite sursaturée par rapport au C-S-H. Ce dernier va précipiter selon la réaction 1 - 2 :



En se dissolvant, le silicate tricalcique libère plus d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{HO}^-$  que le C-S-H n'en consomme. Il va alors se former de la portlandite par précipitation (réaction 1 - 3) :



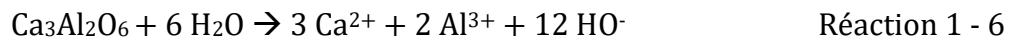
La réaction moyenne globale de l'hydratation du silicate tricalcique peut donc s'écrire (réaction 1 - 4) :



La réaction d'hydratation du silicate dicalcique est la même que celle du silicate tricalcique. L'équation moyenne globale s'écrit (réaction 1 - 5) :



Au contact de l'eau, l'aluminate tricalcique se dissout (réaction 1 - 6) :



Plusieurs phases d'aluminates de calcium hydratés ( $\text{C}_2\text{AH}_8$ ,  $\text{C}_4\text{AH}_{13}$ ) vont se former en raison de leur temps de formation très court. Cependant, c'est le  $\text{C}_3\text{AH}_6$  qui est le plus stable thermodynamiquement et le moins soluble et c'est vers celui-ci que tendra l'état final du système.

Afin de réguler l'hydratation de l'aluminate tricalcique et ainsi éviter le phénomène de fausse prise, du sulfate de calcium est ajouté au clinker sous forme de gypse. La solution est alors riche en ions  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{HO}^-$  et  $\text{SO}_4^{2-}$ . Dans ce cas, la phase la moins soluble n'est plus le  $\text{C}_3\text{AH}_6$  mais l'ettringite ( $\text{C}_6\text{A}\bar{\text{S}}_3\text{H}_{32}$ ). Lorsque tous les sulfates sont épuisés, l'ettringite se dissout et libère des ions sulfate pour former avec l'aluminate tricalcique restant du monosulfoaluminate (Afm).

L'hydratation du  $\text{C}_4\text{AF}$  mène à la précipitation du même type de composés que ceux provenant de la dissolution de l'aluminate tricalcique. Une partie de l'aluminium est substituée par du fer.



En fin d'hydratation, la pâte de ciment est composée de 60 à 70% de C-S-H, 15 à 20% de portlandite et de 10 à 20% de monosulfoaluminate de calcium hydraté et d'ettringite.

### 2.1.2. Sable

La norme NF EN 196-1 spécifie qu'un sable siliceux naturel à grains arrondis doit être utilisé dans le cas de la fabrication de mortier. Sa teneur en silice doit être au moins égale à 98% et sa teneur en eau inférieure à 0,2%. La composition granulométrique doit être en accord avec la norme EN 196-1 (Tableau 1-2). Cette composition est déterminée par analyse granulométrique.

Dimensions mailles carrées (mm)	Refus cumulés sur les tamis (%)
2,00	0
1,60	7 ± 5
1,00	33 ± 5
0,50	67 ± 5
0,16	87 ± 5
0,06	99 ± 5

Tableau 1-2: Composition granulométrique d'un sable de référence (NF EN 196-1)

Ce sable est chimiquement inerte et ne participe donc pas aux réactions chimiques ayant lieu entre le ciment et l'eau de gâchage.

### 2.1.3. Eau

Nécessaire à l'hydratation du ciment, l'eau utilisée pour le gâchage doit répondre à certaines exigences contenues dans la norme NF EN 1008. L'eau doit être propre et ne pas contenir d'impuretés (huiles, détergents, matières en suspension). La teneur de quelques ions, listés dans la Tableau 1-3, ne doit pas dépasser certaines valeurs limites.

Ion	Utilisation	Concentration maximale autorisée (mg/L)
Cl <sup>-</sup>	Béton précontraint / coulis	500
	Béton armé ou avec insert	1000
	Béton non armé et sans insert	4500
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		2000
Na <sub>2</sub> O		1500
Sucres		100
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		100
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		500
Pb <sup>2+</sup>		100
Zn <sup>2+</sup>		100

Tableau 1-3 : Concentrations maximales autorisées (NF EN 1008)

L'eau de mer est donc à proscrire, en raison de sa concentration en chlorure extrêmement importante, menant à la corrosion des infrastructures armées.

## 2.2. Biologie marine

### 2.2.1. Composition de l'eau de mer

L'eau de mer naturelle est un milieu difficilement reproductible, elle peut cependant être décomposée en quatre constituants majeurs (Moe, 2009). L'eau pure représente 96% de la composition de l'eau de mer. Dans les 4% restants, se trouvent les solides inorganiques ainsi que les gaz dissous, les substances organiques dissoutes et enfin la « Vie ».

Sept sels dissous représentent 99,5% des solides inorganiques (chlorure de sodium, chlorure de magnésium, carbonate de calcium, sulfate de magnésium, sulfate de calcium, sulfate de potassium et bromure de potassium ou sodium) provenant majoritairement de la décomposition de la croûte terrestre (Pasqueron De Fommervault, 2015). Le Tableau 1-4 récapitule les concentrations moyennes des principaux ions trouvés dans l'eau de mer. Cette concentration varie selon les mers et océans étudiés.

Espèce ionique	Océan Atlantique (g/L)
Cl <sup>-</sup>	17,8
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2,5
Br <sup>-</sup>	0,2
Na <sup>+</sup>	10
Mg <sup>2+</sup>	1,5
Ca <sup>2+</sup>	0,4
K <sup>+</sup>	0,3

Tableau 1-4 : Composition de l'eau de l'Océan Atlantique (Ollivier et Vichot, 2008)

Les éléments traces représentent les 0,5% restants des solides inorganiques et gaz dissous. Ils peuvent être divisés en deux catégories : ceux essentiels pour la vie des organismes marins, présents sous forme de macronutriments (carbone, azote, phosphore ou encore silicium) et de micronutriments (fer, zinc, cuivre, etc ...) nécessaires en plus faibles quantités par les organismes, et ceux présents en raison de l'activité humaine (polluants comme le mercure, les pesticides ou encore le pétrole).

Les substances organiques dissoutes telles que les acides aminés, protéines, enzymes, vitamines et pigments provenant des organismes et/ou de l'activité humaine sont également trouvées dans l'eau de mer. Afin de pouvoir utiliser de l'eau de mer en laboratoire et de faciliter son utilisation à n'importe quel endroit dans le monde, des préparations commerciales ont été mises au point. Leurs compositions se rapprochent de celle de l'eau de mer mais diffèrent en certains points au niveau des concentrations, du nombre d'éléments traces ou encore de l'absence de substances organiques dissoutes (Atkinson et Bingma, 1997).

Pour terminer, la « Vie » est le dernier élément constitutif de l'eau de mer, comprenant des bactéries, des animaux ou encore des algues. Ces dernières sont des organismes photosynthétiques, pouvant être multicellulaires (macroalgues) ou unicellulaires (microalgues). A la différence des macroalgues, les microalgues n'ont pas de racines, de

tiges et de feuilles ; elles sont trouvées dans l'eau douce ou les systèmes marins (MacIntyre et al., 1996 ; Suganya et al., 2016).

## 2.2.2. Diatomées

### 2.2.2.1. Généralités

Les diatomées sont des microalgues unicellulaires (une seule cellule) eucaryotes (présence d'un noyau) photosynthétiques, facilement observables au microscope et caractérisées par leur quantité importante en silice. Elles ont été décrites en 1702 par Antony Van Leeuwenhoek, un scientifique néerlandais. Leur apparition date d'il y a plus de 180 million d'années (Bradbury, 2004). Actuellement, plus de 10 000 espèces ont été répertoriées mais certains auteurs les estiment à plus de 200 000 (Suroy, 2013). La présence d'eau, de lumière et de sels nutritifs (N,P, Si + éléments traces) permet leur développement. Elles sont donc retrouvées dans les eaux douces, salées et saumâtres, mais également dans la glace, les sols humides ou n'importe quel lieu humide de façon générale. Elles peuvent s'attacher à d'autres plantes pour se développer, voire même à des êtres vivants (baleines par exemple) ou tout simplement à des substrats inertes (sable, roches) (Cupp, 1977). Leur taille varie de quelques micromètres à quelques millimètres (2 mm au maximum).

### 2.2.2.2. Le frustule

Le frustule est caractéristique des diatomées. Il consiste en une carapace transparente faite de silice amorphe (*i.e.* silice biogène) et recouverte de composés organiques. Il en existe une multitude de géométries (Figure 1-9). En se basant sur ces observations au microscope, deux catégories de diatomées ont alors été distinguées : les diatomées centrales à symétrie radiale, et les diatomées pennales à symétrie bilatérale.

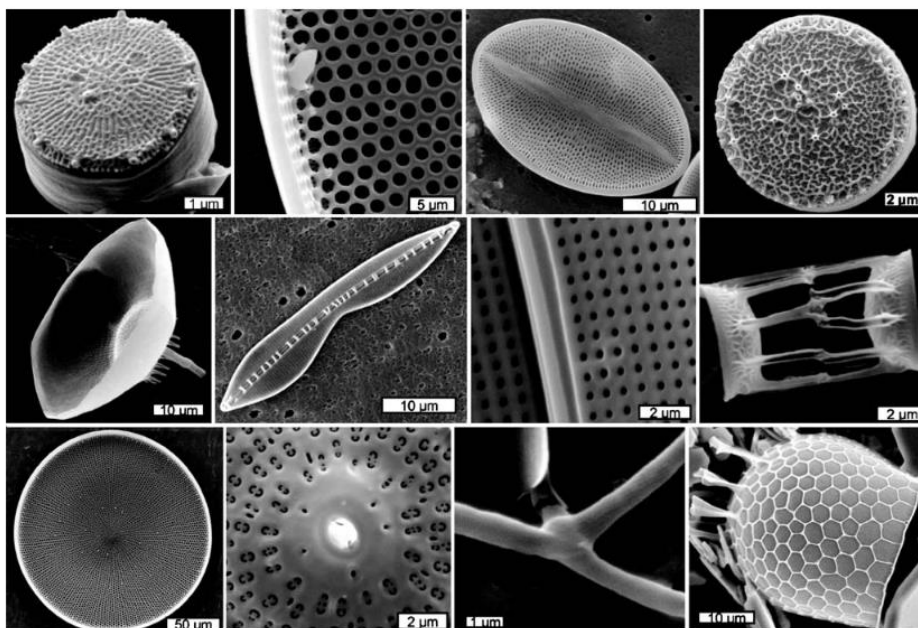


Figure 1-9 : Diversité de frustules (Hildebrand et al., 2008)

Le frustule est en fait composé de deux valves, s'imbriquant l'une dans l'autre, à la façon d'une boîte de Pétri. Selon (Suroy, 2013), sa fabrication reste encore aujourd'hui peu claire pour la communauté scientifique. Cependant, certaines hypothèses permettent d'expliquer quelques étapes de son mécanisme (Amo et Brzezinski, 1999). Dans le milieu marin, le pH de l'eau est à une valeur d'environ 8. A ce pH, deux formes de silicium dissous existent : l'acide orthosilicique ( $\text{Si(OH)}_4$ ) et sa base conjuguée ( $\text{Si(OH)}_3\text{O}^-$ ) selon le diagramme de prédominance montré dans la Figure 1-10.

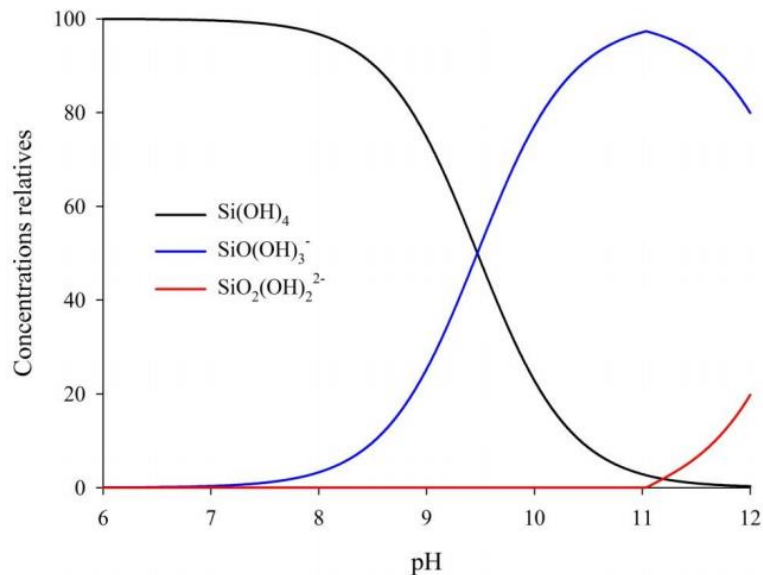


Figure 1-10 : Diagramme de présence des ions silicates, selon le pH de l'eau (Suroy, 2013)

L'acide orthosilicique, à un pH de 8, est la forme largement majoritaire dans les océans et est donc utilisé par les diatomées pour la formation de leur frustule (Carbonnel et al., 2013 ; Rousseau et al., 2002).

La présence de nombreux pores à sa surface permet à la diatomée d'effectuer un échange avec l'environnement extérieur pour éliminer ses déchets et y puiser des nutriments. Sa résistance mécanique est très importante, il joue le rôle de tampon pH et de protection solaire.

Le frustule est recouvert d'une couche de composés organiques qui peuvent être classés en trois catégories (Suroy, 2013):

- Polysaccharides ;
- Acides aminés et protéines ;
- Lipides.

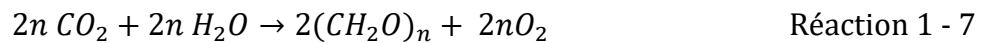
Lorsque les diatomées meurent, les frustules se déposent au fond des environnements aquatiques dans lesquels elles se trouvent. Le matériau est alors appelé diatomite. Il est utilisé dans de nombreux domaines industriels comme filtre ou abrasif.

2.2.2.3. *Sécrétion d'exopolysaccharides*

Les exopolysaccharides (EPS) des diatomées marines résultent du mécanisme de photosynthèse permettant de fixer le carbone inorganique. Ces EPS enveloppent et forment un microenvironnement autour des diatomées, qui les protège des stress extérieurs.

2.2.3. **Photosynthèse**

Les diatomées, comme tous les organismes autotrophes, synthétisent des composés organiques à partir du carbone présent dans leur environnement, en présence d'eau et de lumière (MacIntyre et al., 1996). Il s'agit du mécanisme de photosynthèse. L'équation globale de la réaction, sous l'action de la lumière, peut s'écrire (réaction 1 - 7) :



Cette réaction a lieu dans la membrane du thylakoïde qui se trouve dans le chloroplaste des diatomées (Figure 1-11). Plusieurs pigments photosynthétiques (chlorophylles a et c, caroténoïdes) sont présents dans la membrane et permettent de convertir l'énergie lumineuse en énergie chimique (Kuczynska et al., 2015).

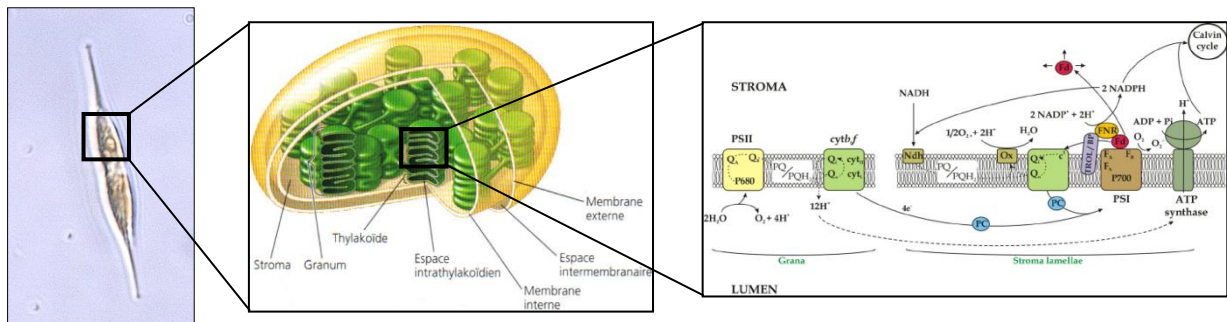


Figure 1-11 : Système photosynthétique d'une diatomée : (A) vue globale ; (B) schématisation d'un thylakoïde ; (C) fonctionnement du photosystème (Musumeci et al., 2012)

La molécule de chlorophylle absorbe la lumière visible dans les longueurs d'ondes du bleu et du rouge mais laisse passer une majorité de la lumière verte.

(Redfield, 1960) a montré que le ratio entre les atomes d'oxygène, de carbone, d'azote et de phosphore dans l'océan était de 172/105/16/1. En d'autres termes, lors de la réaction de photosynthèse, 105 atomes de carbone, 16 atomes d'azote et 1 atome de phosphore sont consommés pour 172 atomes d'oxygène libérés. Il est donc nécessaire d'avoir dans le milieu marin ces atomes pour qu'ils puissent être utilisés par les diatomées (ou les microalgues de manière générale) afin de permettre la croissance des cellules.

2.2.4. **Cylindrotheca closterium**

*Cylindrotheca closterium* (Erhenberg) Lewin et Reimann est une diatomée trouvée majoritairement dans les eaux néritiques (zone des océans comprise entre 0 m et 200 m de profondeur) dans de nombreux endroits du globe (Affan et al., 2009 ; Michael Kingston, 2009). En France, sa présence est probable le long de toutes les côtes (Figure 1-12).

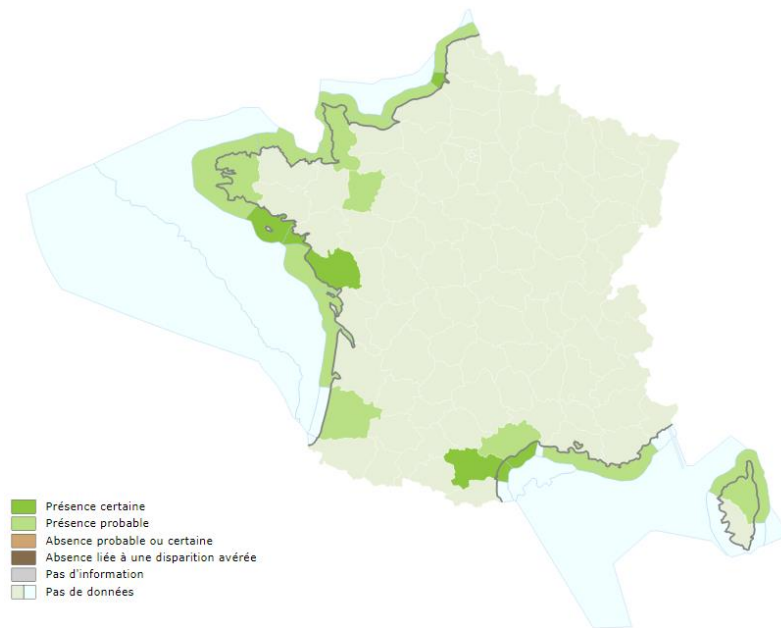


Figure 1-12 : Carte de répartition de la diatomée *Cylindrotheca closterium* en France métropolitaine en 2018 (Inventaire National du Patrimoine Naturel, 2018)

Cette diatomée a un taux de croissance supérieur à celui des autres diatomées (Alcoverro et al., 2008 ; Tanaka, 1984). Elle est facile à cultiver, endure la contamination et trouve de nombreuses applications au niveau industriel en raison de sa richesse en lipides (Demirel et al., 2015). Ces caractéristiques permettent de l'utiliser dans une étude pluridisciplinaire telle que celle présentée dans ce manuscrit.

*C. closterium* est une diatomée pennale, c'est-à-dire que son frustule possède une symétrie bilatérale (Figure 1-13). C'est une espèce motile possédant un raphé (fissure traversant la ou les valves), dotée d'un noyau au centre et de 2 chloroplastes où s'effectuent les réactions de photosynthèse (Cupp, 1977). Le frustule est en forme de fer de lance. La taille totale de *C. closterium* varie entre 25 et 400  $\mu\text{m}$  (Cupp, 1977 ; Kraberg et al., 2010).



Figure 1-13 : Illustration de la diatomée *Cylindrotheca closterium* (Guiry, 2018)

Comme toutes les diatomées, *C. closterium* utilise les nutriments inorganiques présents dans l'eau comme l'azote (N) ou le phosphore (P) pour croître. Lorsque ces derniers sont présents en quantités limitées, la croissance des diatomées s'en trouve affectée. (Alcoverro et al., 2008) ont montré, en effet, qu'en l'absence de l'un de ces deux nutriments, la croissance des cellules est affectée, montrant une phase de latence plus importante que le contrôle (Figure 1-14).

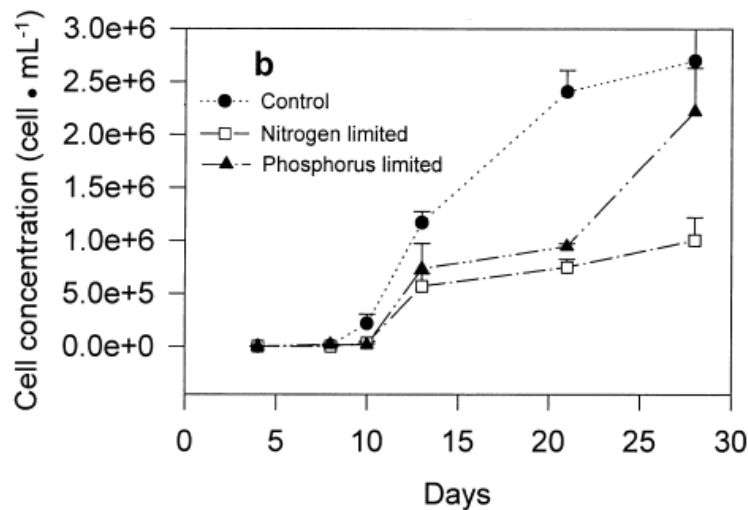


Figure 1-14 : Courbe de croissance d'une population de *C. closterium* en fonction de la composition chimique du milieu (rond : contrôle, triangle : limitation du phosphore, carré : limitation de l'azote) (Alcoverro et al., 2008)

Pour se placer dans les conditions optimales de croissance de la diatomée *Cylindrotheca closterium*, certains paramètres sont à réunir (Ohgai et al., 1986):

- La température du milieu doit être comprise entre 10 et 25°C ;
- Le pH entre 7,3 et 9,0 ;
- L'intensité lumineuse doit être supérieure ou égale à 37  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  ;
- La salinité du milieu doit être comprise entre 20 et 40 (dans l'Océan Atlantique, la salinité est d'environ 35).

### 2.2.5. Biofilm

En milieu marin, les microorganismes, dont les diatomées, se développent à la surface d'un substrat, sous forme de biofilm. Ce dernier peut être défini comme étant « des populations bactériennes enfermées dans une matrice ; adhérentes les unes aux autres et/ou aux surfaces et interfaces » (Costerton et al., 1995).

C'est une structure dynamique, organisée dans les trois dimensions de l'espace et composée d'organismes unicellulaires enrobés dans une matrice de substances polymériques extracellulaires (EPS). Le biofilm permet l'adhésion des cellules à un substrat solide, qu'il soit organique ou inorganique, naturel ou artificiel (Lors et al., 2017 ;

Schnurr et Allen, 2015). La simple présence d'eau permet son développement dans des milieux divers et variés (Figure 1-15).



Figure 1-15 : Biofilm sur bois en milieu marin (Galand, Kalenitchenko, 2015)

Ce mode de vie en biofilm permet la survie des microorganismes marins, leur permettant d'avoir accès aux nutriments tout en les protégeant des stress extérieurs (présence de prédateurs, perturbations chimiques, ...) (Lors et al., 2017). A plus long terme, le biofilm évolue peu à peu vers une structure plus complexe, incluant la présence de macroorganismes.

De nombreuses études ont été et sont encore conduites dans le but de comprendre comment se forme un biofilm (Drugă et al., 2018 ; Katakya et Knowles, 2018 ; Palmer et al., 2007 ; Squinazi, 2013). Son mécanisme de formation résulte en une succession d'étapes, dont certaines sont encore incompréhensibles aujourd'hui. Une multitude de facteurs pourraient intervenir dans cette formation tels que la charge de la surface à coloniser, sa rugosité ou encore son hydrophobicité (Palmer et al., 2007).

Le mécanisme de création du biofilm peut être séparé en différentes étapes qui vont être détaillées dans les parties ci-dessous (Brian-Jaisson, 2014 ; Compère et al., 2001 ; Flemming et Wingender, 2010 ; Palmer et al., 2007 ; Rubio, 2002 ; Schnurr et Allen, 2015 ; Siegert, 1999).

#### *2.2.5.1. Création d'un film primaire*

Au moment de l'immersion, en raison des mouvements de diffusions ou de turbulence, des molécules organiques et inorganiques sont apportées à la surface du matériau. Ces molécules sont principalement des protéines, de sucres ou des lipides. L'adsorption de telles molécules pourrait jouer un rôle important dans le phénomène d'adhésion des bactéries, en modifiant les propriétés physico-chimiques des surfaces comme son hydrophobicité par exemple. Il a également été suggéré que la présence de protéines sur les surfaces favoriserait le développement du biofilm en raison d'un apport en nutriments pour les bactéries.



### 2.2.5.2. *Transport*

Les bactéries vont ensuite se lier à la surface. Elles sont transportées vers cette dernière selon les mouvements du milieu (mouvement brownien, sédimentation ...) ou selon leur mouvement propre, à l'aide de leurs flagelles et pili (appendices des bactéries), leur permettant de se déplacer.

### 2.2.5.3. *Adhésion*

L'adhésion des bactéries à la surface du matériau s'effectue en deux étapes : une adhésion « réversible » puis une adhésion « irréversible ».

Durant la phase d'adhésion réversible, les bactéries sont attirées par la surface, du fait de la présence de nutriments et de la modification de ses propriétés physico-chimiques. Elles se lient avec elle par l'intermédiaire de liaisons faibles. De faibles forces mécaniques peuvent donc les détacher. La théorie DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek) permet d'expliquer cette fixation par interactions électrostatiques et forces de Van Der Waals.

Lors de l'adhésion irréversible, les liaisons entre surface et bactéries sont de haute énergie. Les bactéries synthétisent des molécules permettant cette adhésion et produisent une matrice extracellulaire (substance polymérique extracellulaire connue sous le nom d'EPS). Ces EPS, outre le fait de permettre un attachement irréversible, permettent également de piéger les substances nutritives nécessaires et protègent les colonies des agressions physiques, chimiques ou biologiques de l'environnement extérieur (Figure 1-16).

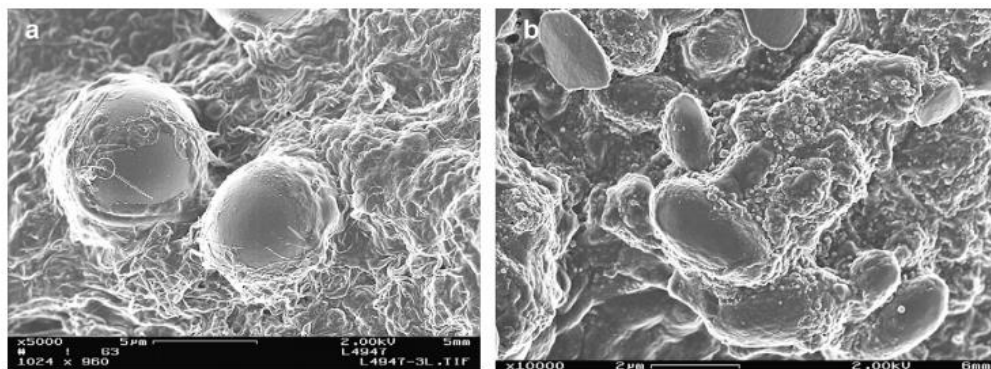


Figure 1-16 : Images prises par Microscopie Electronique à Balayage montrant des cellules microbiennes incorporées dans une matrice d'EPS (Badireddy et al., 2010)

Les EPS représentent entre 60% à 98% de la masse sèche du biofilm. Ils sont composés majoritairement de polysaccharides et de protéines, mais il est également possible de trouver des acides nucléiques, des lipides ou encore des solides en suspension.

### 2.2.5.4. *Maturation*

Avec le temps, les bactéries vont continuer à produire la matrice extracellulaire, elles vont se regrouper en colonies. C'est à ce moment que le biofilm devient visible à l'œil (Figure 1-17).

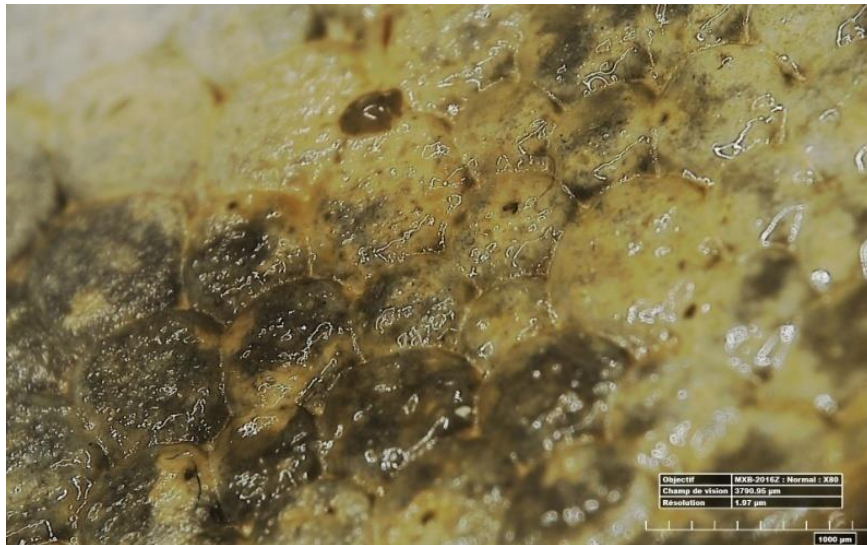


Figure 1-17 : Détail de la matrice extracellulaire, visible sous à l'œil nu et sur microscope numérique à faible grossissement (x80) (photographie effectuée au sein du laboratoire de l'ESITC Caen)

#### 2.2.5.5. *Détachement*

Le biofilm peut se détacher de façon active ou passive. Un stress dû à des changements de l'environnement peut être une cause d'un détachement actif. Le détachement passif, quant à lui, est dû à une action physique sur le biofilm : flux ou forces de cisaillement.

### 3. MECANISMES D'INTERACTIONS MATERIAUX CIMENTAIRES – EAU DE MER – MICROORGANISMES

Le milieu marin est un milieu agressif en raison de plusieurs paramètres tels que sa composition chimique, sa température, la présence d'organismes vivants, l'action des marées et des vagues ou encore la présence d'icebergs dans les régions les plus froides. Les actions chimiques et physiques sont relativement bien documentées dans la littérature, comme le montre la Figure 1-18.

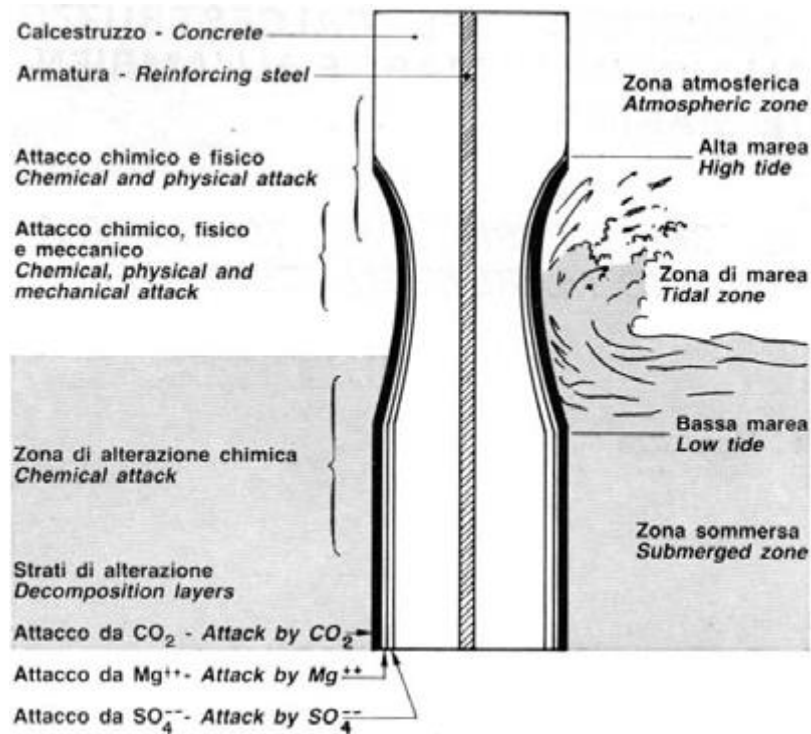


Figure 1-18 : Actions chimiques et physiques de l'eau de mer (M. Borsa et al., 2003), d'après Mehta (Mehta, 1991)

Dans la suite de cette partie, chacune des actions (chimique, physique et biologique) vont être détaillées séparément. Il est toutefois à noter que les actions chimiques et physiques sont en fait interdépendantes et se renforcent mutuellement, d'où la difficulté de les étudier individuellement (Mehta, 1991).

### 3.1. Interactions chimiques

En milieu marin, le matériau cimentaire est sujet à différentes attaques de nature chimique qui ciblent majoritairement la pâte cimentaire (Figure 1-18). Les granulats utilisés dans la fabrication du béton sont quant à eux inertes.

De façon générale, les réactions chimiques détaillées dans cette partie peuvent être résumées dans la Figure 1-19.

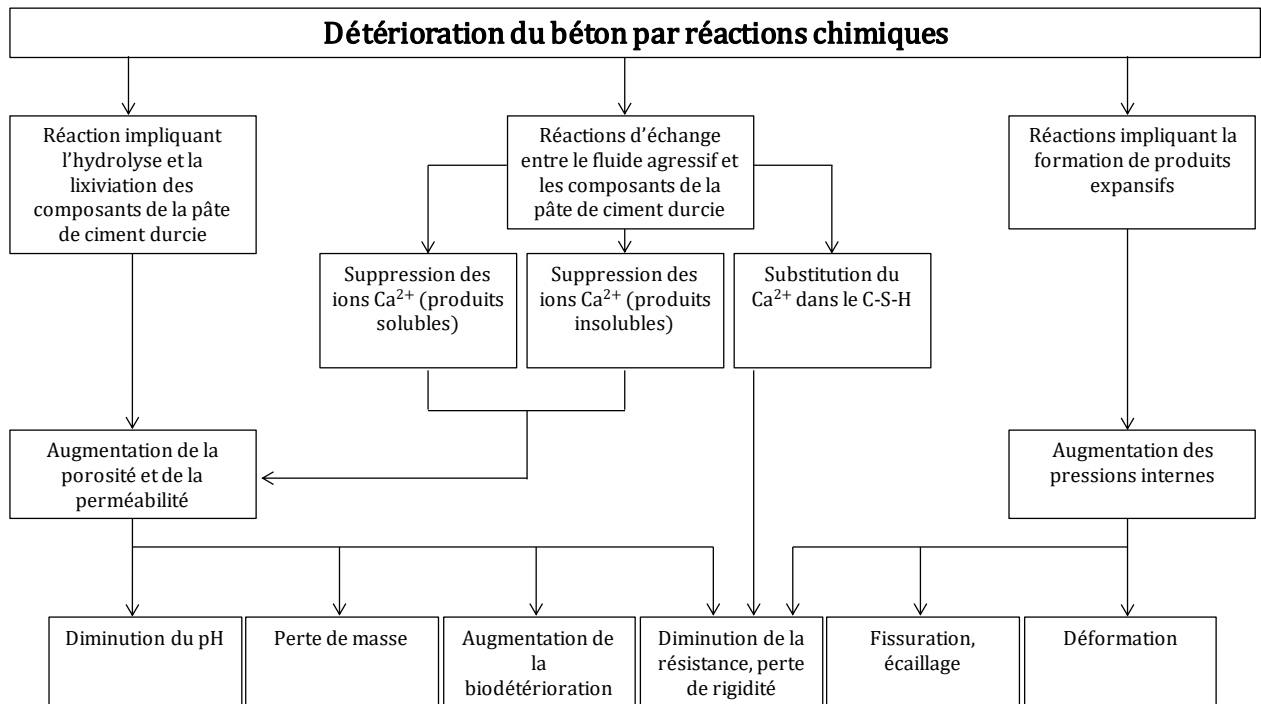


Figure 1-19 : Organigramme regroupant les différentes réactions chimiques responsables de la détérioration du béton, d'après (Mehta, 1991)

### 3.1.1. Ions chlorures et sulfates

Tout d'abord, les ions chlorures présents dans l'eau de mer réagissent avec l'aluminate tricalcique pour former du chloroaluminate de calcium hydraté (C<sub>3</sub>A.CaCl<sub>2</sub>.10H<sub>2</sub>O), aussi connu sous le nom de sel de Friedel et qui ne pose pas de problème de gonflement du matériau (De Weerd et Justnes, 2015 ; Ragab et al., 2016). En présence d'ions sulfates, ce produit de réaction n'est pas stable, il y a alors création d'ettringite secondaire. Cette dernière est expansive et engendre une perte des propriétés mécaniques et élastiques de la structure. De plus, les ions chlorures peuvent dépassiver l'acier et ainsi initier le processus de corrosion. Les ions magnésium peuvent également endommager les ouvrages en se combinant aux silicates de calcium hydratés (C-S-H) pour former des silicates de magnésium hydratés (M-S-H). Cette substitution du calcium par le magnésium engendre un béton plus faible mécaniquement et friable.

### 3.1.2. Dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone a lui aussi un impact sur la résistance des bétons vis-à-vis de leur environnement extérieur. Pour des ouvrages immergés en permanence dans l'eau de mer, l'action du dioxyde de carbone est minime. Le phénomène de carbonatation est plus sévère lorsque le béton est soumis à une humidité proche de 60% (Ollivier et Vichot, 2008). Il se produit alors la réaction (réaction 1 - 8) :

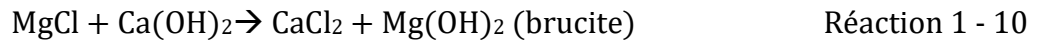
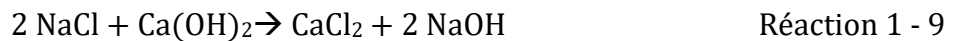


Le carbonate de calcium créé (aragonite) est insoluble et permet donc de réduire la perméabilité du béton. Cependant, la consommation de portlandite diminue le pH du

béton. Si le béton est armé, cette baisse de pH peut alors poser un souci important en raison de la corrosion des aciers.

### 3.1.3. Lixiviation

Le phénomène de lixiviation est lui aussi à prendre en compte. En effet, lorsque le béton est plongé dans de l'eau de mer, il existe un gradient important de pH (pH béton > 13, pH eau de mer ~ 9). L'équilibre existant entre les phases solides et liquides est perturbé ; un processus de dissolution des espèces chimiques va alors se mettre en place. La portlandite est l'hydrate le plus soluble (Ollivier et Vichot, 2008), elle va réagir avec le chlorure de sodium et le chlorure de magnésium présents dans l'eau de mer selon les réactions 1 - 9 et 1 - 10 :



Le chlorure de calcium étant soluble, la matrice cimentaire va alors peu à peu être fragilisée.

## 3.2. Interactions physiques

En plus des attaques chimiques, le béton est également sujet à un nombre important d'agressions physiques. Trois zones d'attaque peuvent être définies en milieu marin (Mather, 1964 ; Mehta, 1991) :

- La zone totalement immergée subit les actions des courants et de la houle. La présence de sable en suspension dans l'eau de mer favorise l'érosion de la surface du béton ;
- La zone totalement émergée, quant à elle, est moins exposée à une dégradation physique. Elle peut cependant être victime d'éclaboussures qui peuvent, à force, engendrer une dégradation du matériau. Dans certaines régions, cette zone peut également subir des cycles de gel-dégel ;
- Enfin, la zone de marnage est la plus exposée puisqu'elle subit le cycle des marées. Elle est donc sujette aux attaques des courants, de la houle, du sable en suspension mais également des éclaboussures ou du cycle gel-dégel. De plus, les cycles d'humidification-séchage favorisent la variation du volume du matériau ainsi que la pénétration des substances chimiques listées dans la partie précédente. La présence de sels cristallisés dans les pores du matériau engendre aussi des pressions supplémentaires à l'intérieur de celui-ci, favorisant l'apparition de fissures.

Les effets physiques de l'eau de mer sont regroupés dans l'organigramme ci-dessous (Figure 1-20).

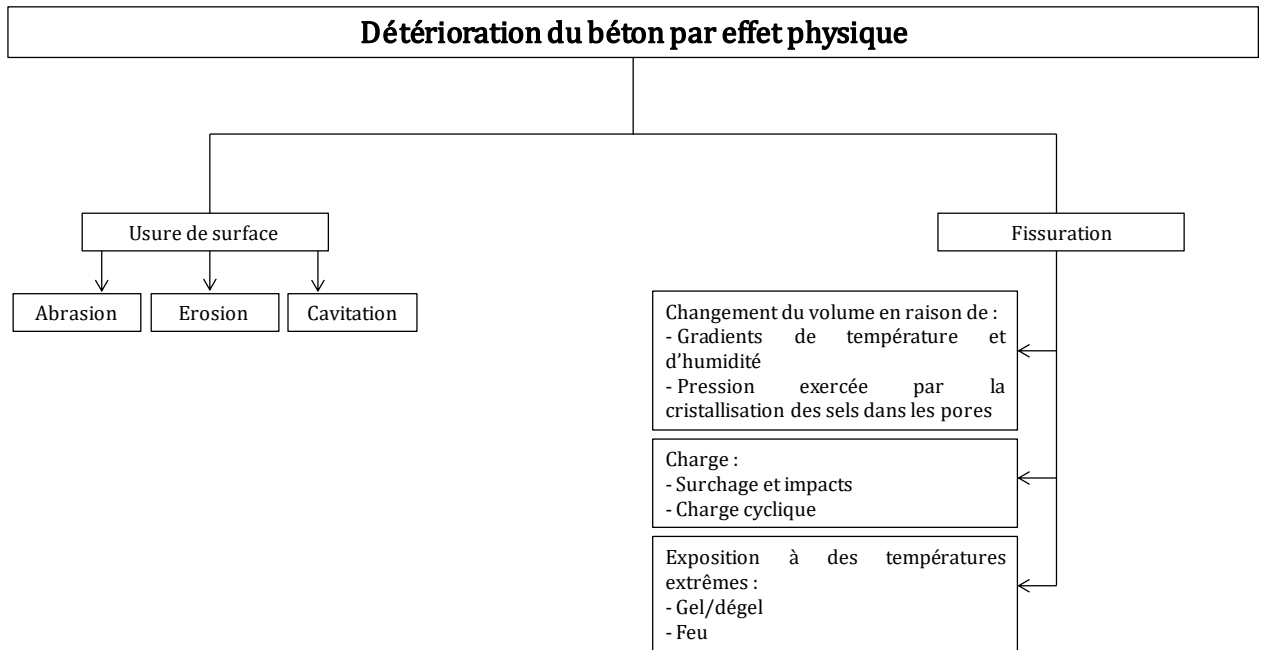


Figure 1-20 : Organigramme regroupant les effets physiques responsables de la détérioration du béton, d'après (Mehta, 1991)

### 3.3. Interactions biologiques

Les interactions biologiques entre le matériau cimentaire et l'environnement marin sont quant à elles bien moins étudiées et comprises, du fait de la grande complexité du milieu marin. En immergeant un matériau cimentaire, il devient immédiatement support pour le développement d'un biofilm (Salta et al., 2013). La colonisation (ou fouling) s'effectue tout d'abord par quelques bactéries, puis se succèdent des microalgues, des larves, des crustacés et enfin des macroalgues (Figure 1-21) selon les étapes de formation du biofilm détaillées dans la partie précédente.

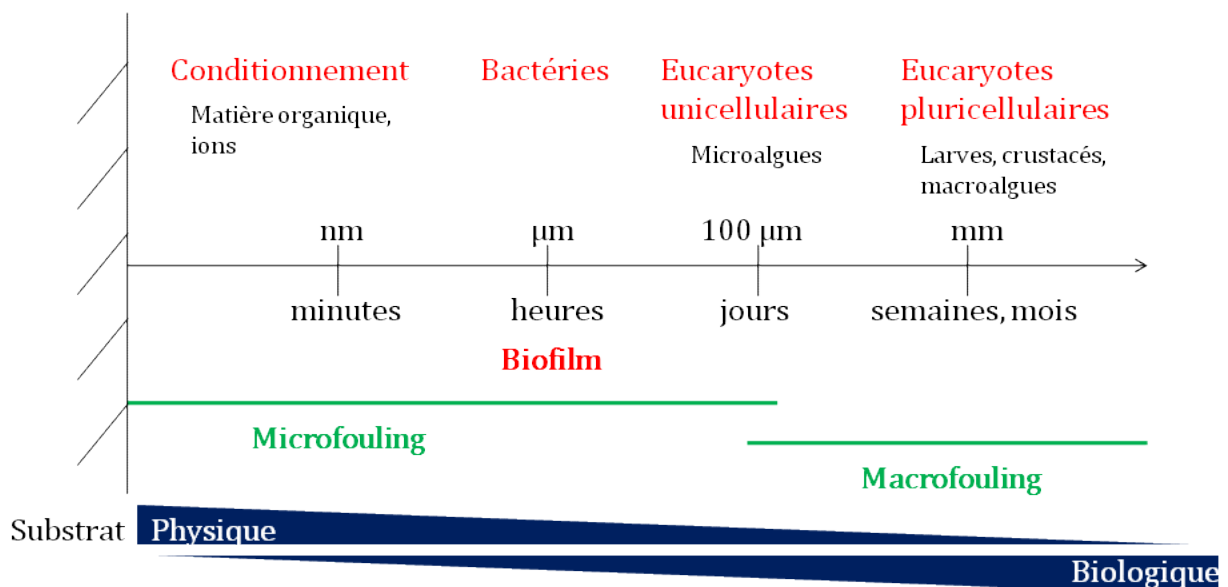


Figure 1-21 : Cinétique d'établissement des différents organismes à la surface d'un substrat immergé en milieu marin, d'après (Lors et al., 2017)

Les interactions biologiques ayant lieu entre le matériau cimentaire et l'environnement marins sont cependant complexes à définir et étudier. En effet, chaque ouvrage cimentaire immergé fait face à des conditions environnementales différentes et apporte lui-même, en raison de sa physico-chimie de surface, des conditions plus ou moins favorables à la colonisation. Ces deux facteurs vont donc être détaillés dans la suite de cette partie.

### 3.3.1. Facteurs environnementaux externes

Selon la localisation de l'ouvrage cimentaire, les conditions dans l'environnement marin ne seront pas les mêmes. A la différence des interactions chimiques et physiques qui diffèrent très peu selon le lieu, des variations notables existeront au niveau de la diversité des organismes (Mather, 1964). En effet, les espèces marines sont sensibles aux changements de température, de lumière ou encore de disponibilité des nutriments.

La concentration en nutriments (Figure 1-22) n'est pas la même selon les mers et évolue continuellement (Bacon et al., 1998). Les nutriments en défaut évoluent selon la localisation géographique des organismes marins. (Chiu et al., 2008) ont également montré que l'augmentation de nutriments dans l'eau de mer pouvait changer la composition des communautés marines.

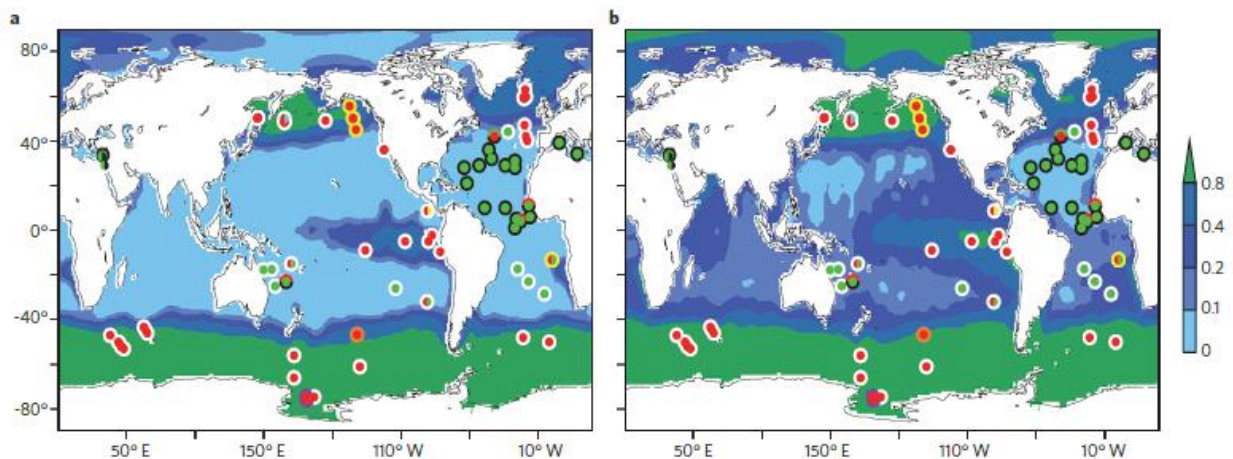


Figure 1-22 : Le fond de chaque carte indique la concentration en nitrates (a) et phosphates (b) en  $\mu\text{mol/kg}$ . Les cercles montrent les limitations premières (intérieur du cercle) et secondaires (extérieur du cercle) impactant la production d'organismes : azote (vert), phosphore (noir), fer (rouge), silice (orange), cobalt (jaune), zinc (cyan) et vitamine B12 (violet) (Moore et al., 2013)

La température, quant à elle, possède une forte influence sur les communautés terrestres et aquatiques (Bruno et al., 2015). Chaque espèce possède en effet un optimum de température, auquel elle se développera correctement et sans stress. Certaines communautés sont donc majoritairement présentes en eaux tempérées tandis que d'autres sont trouvées principalement en eaux froides.

La lumière, indispensable pour effectuer les réactions de photosynthèse, varie également d'un point à un autre du globe et selon la profondeur à laquelle se trouvent les organismes (Moore et al., 2013) (Figure 1-23). En zone euphotique (zone où la lumière reçue est suffisante pour effectuer la photosynthèse), la concentration en ions nitrate est quasiment

nulle alors qu'en profondeur, les concentrations sont bien plus importantes. Les nutriments étant disponibles à différentes concentrations, il existe alors une diversité des espèces selon la profondeur à laquelle est effectuée l'étude.

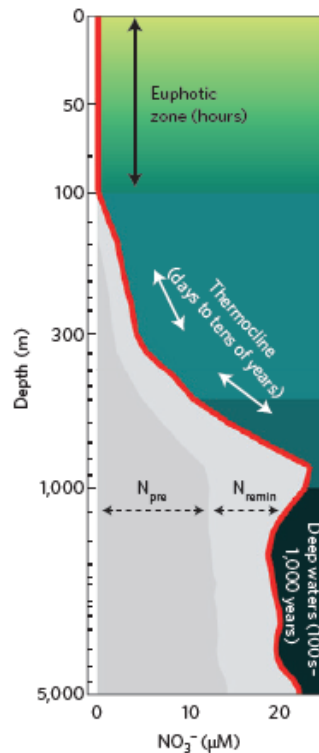


Figure 1-23 : Profil de la disponibilité des ions nitrate ( $\mu\text{mol/L}$ ) dans la zone subtropicale de l'Océan Atlantique Nord selon la profondeur (échelle logarithmique)(Moore et al., 2013).

L'eau de mer est en mouvement permanent par l'intermédiaire des courants et des marées. Cette agitation continue permet de conserver les nutriments en contact avec les diatomées mais également d'éviter le phénomène de photo-inhibition (diminution de la vitesse de photosynthèse dû à un excès de lumière). (Persoone et al., 1981) ont montré que l'agitation d'une suspension algale à l'aide d'une pompe à air permettait d'augmenter d'environ 30% le taux de croissance par rapport à une suspension qui était gardée statique (Figure 1-24).



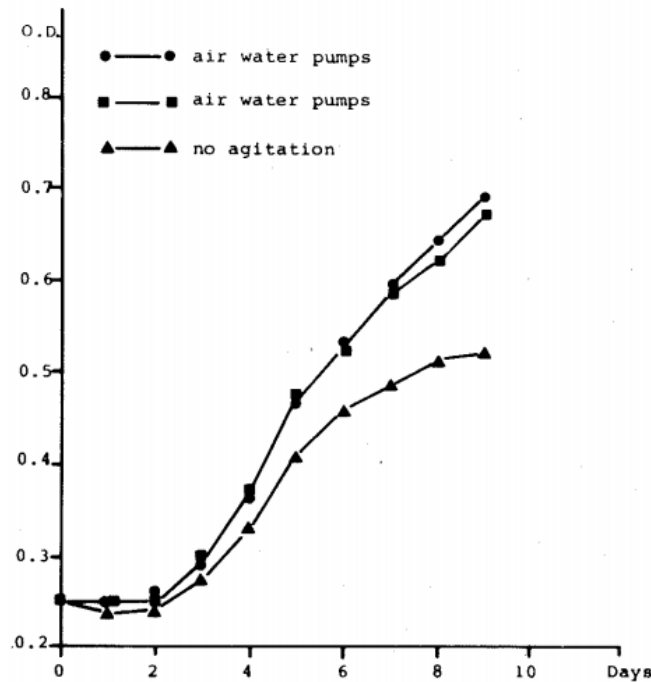


Figure 1-24 : Comparaison de densités optiques de deux solutions algales agitées à l'aide de pompes à air (14L/min) par rapport à une solution algale non agitée (Persoone et al., 1981)

En effet, dans la suspension conservée statique, donc sans aucune agitation, les microalgues se sont peu à peu déposées au fond du contenant. L'illumination reçue au fond du contenant est donc moins importante qu'en surface de la solution.

### 3.3.2. Facteurs internes aux matériaux cimentaires

Les facteurs propres aux matériaux cimentaires impactent également la colonisation de ceux-ci (Düzbastılar et al., 2006 ; Lors et al., 2017).

Tout d'abord la rugosité de la surface impacte fortement la colonisation (Ammar et al., 2015 ; Guézennec, 2017 ; Katsikogianni et Missirlis, 2004 ; Manso et al., 2014 ; Teughels et al., 2006). La présence de cavités permet en effet aux bactéries puis aux microalgues d'être protégées des forces de cisaillement (Figure 1-25).

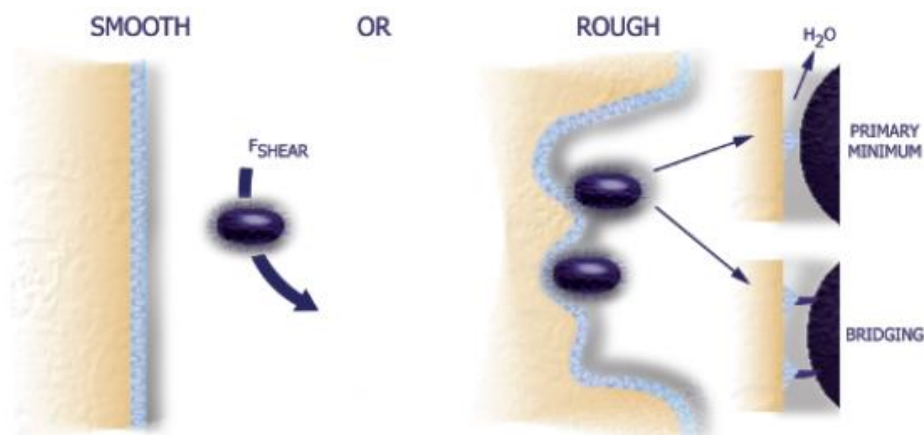


Figure 1-25 : Représentation schématique de la phase d'adhésion des cellules sur une surface lisse (gauche) ou rugueuse (droite) (Teughels et al., 2006)

Le passage de l'adhésion réversible à l'adhésion irréversible s'effectue alors plus facilement et plus rapidement, permettant au biofilm de mieux se développer. (Tran et al., 2012) ont également observé cette même tendance de colonisation dans son étude comparant la colonisation d'un mortier ayant une surface lisse à celle d'un mortier de même composition, ayant une surface rugueuse (Figure 1-26).

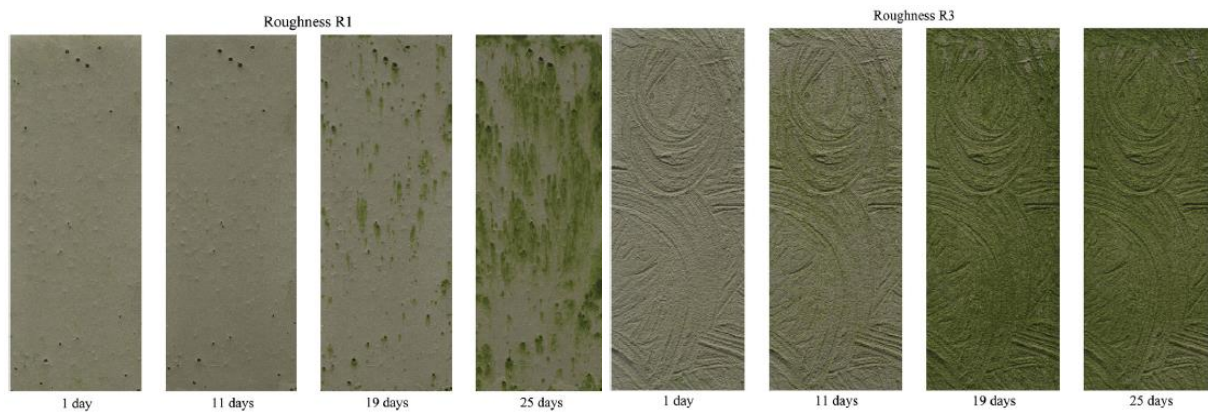


Figure 1-26 : Comparaison de la colonisation de deux mortiers de même composition et de rugosité de surface différente (gauche : surface lisse, droite : surface rugueuse) (Tran et al., 2012)

Les deux types de mortier ont été soumis aux mêmes conditions expérimentales (simulation d'une pluie). Après onze jours d'expérience, le mortier à surface rugueuse laisse apparaître les premières traces d'un biofilm, contrairement au mortier à surface lisse, auquel il faut huit jours de plus.

La géométrie des ouvrages en matériaux cimentaires immergés a également un impact sur la colonisation des substrats. En effet, la complexité des structures immergées permet d'améliorer la colonisation en offrant des refuges aux organismes marins et en augmentant les surfaces disponibles pour ceux-ci (Cacabelos et al., 2010 ; Carvalho et al., 2017 ; Jacobi et Langevin, 1996 ; Lavender et al., 2017).

Un autre élément à prendre en compte concerne la composition du matériau cimentaire qui peut éventuellement apporter des éléments nutritifs supplémentaires aux microorganismes. Selon (Dubosc, 2000), les matériaux riches en calcite permettraient d'améliorer le développement d'algues, tout comme ceux composés de silice qui apporteraient des nutriments aux diatomées. (Manso et al., 2014), dans leur étude sur la colonisation des façades par les microalgues lors d'épisodes de pluie, ont utilisé un liant phosphomagnésien afin de travailler à un pH de surface moins élevé qu'en utilisant un liant à base de ciment Portland. Une meilleure bioréceptivité des éprouvettes a été observée. En effet, le pH de la surface d'un matériau fabriqué à base de ciment Portland possède un pH extrêmement basique ( $\sim 13$ ), qui empêche le développement de nombreuses espèces (Guézennec, 2017 ; Manso et al., 2014).

L'impact de la formulation d'un matériau cimentaire sur la colonisation en milieu marin est une thématique de recherche très peu documentée actuellement mais qui commence à devenir un sujet d'intérêt (Souche et al., 2016).

## 4. CONSEQUENCES DE LA COLONISATION SUR LES OUVRAGES CIMENTAIRES

### 4.1. Biodétérioration

Outre les actions chimiques et physiques qui dégradent le matériau cimentaire, le développement de microorganismes à la surface des structures impacte également la durabilité de celles-ci (Guézennec, 2017). La présence d'organismes marins sur les ouvrages en béton conduit à des phénomènes de biodétérioration. (Hueck, 1965) a défini dès 1965 cette notion comme étant « tout changement indésirable dans les propriétés d'un matériau causé par l'activité vitale d'organismes ». L'étude des phénomènes de biodétérioration en milieu marin des matériaux cimentaires est très récente ; ces études ont été mises au point à la suite de réparations coûteuses et absolument nécessaires d'ouvrages en béton, pour formuler un matériau plus résistant que celui défaillant. (Wei et al., 2013) ont référencé deux algues marines pour lesquelles il a été montré que leur présence à la surface de matériaux cimentaires immergés en milieu marin a impliqué la biodétérioration de cette dernière (Tableau 1-5).

Nom de l'algue	Référence
<i>Chaetomorpha antennina</i>	(Jayakumar et Saravanane, 2009)
<i>Ulva fasciata</i>	(Jayakumar S., 2012)

Tableau 1-5 : Algues impliquées dans le processus de biodétérioration du béton (Wei et al., 2013)

De nombreuses autres algues sont également impliquées dans le mécanisme de biodétérioration, d'où la possibilité d'effectuer de nombreuses recherches dans ce domaine (Lors et al., 2017).

Selon (Sanchez-Silva et Rosowsky, 2008), l'action des microorganismes affecte le matériau cimentaire en participant à l'érosion de la surface mais également en augmentant la porosité du matériau ainsi que la diffusion des espèces vers le cœur du matériau. En effet, les microorganismes sont extrêmement petits et peuvent pénétrer dans le matériau même si aucune fissure n'est visible à l'œil nu. Le mécanisme le plus commun pour rentrer dans le matériau s'effectue par l'intermédiaire des microfissures ainsi que par capillarité (Roux et al., 2006). Le matériau cimentaire est alors peu à peu affaibli et il est noté l'apparition de fissures ou d'écaillages en surface. Des mesures effectuées en laboratoire sur des échantillons de béton ont montré la présence de plusieurs microorganismes, dont des diatomées, au sein de la matrice cimentaire, par la création d'un réseau de tunnels (Hughes et al., 2013 ; Sanchez-Silva et Rosowsky, 2008). (Hughes et al., 2014) ont souligné le fait que les algues, en pénétrant dans le matériau cimentaire, peuvent également être protégées des forces hydrauliques qui s'appliquent sur l'ouvrage, comme les marées ou la houle.

Les algues vont également puiser des nutriments dans la pâte cimentaire (calcium, aluminium, silice, fer, potassium) par bio-solubilisation de la matrice en présence d'eau de mer (Bastidas-Arteaga et al., 2008 ; Hughes et al., 2013 ; Javaherdashti et al., 2009 ;

Jayakumar et Saravanane, 2010). Ces actions vont mener à la formation de petites cavités, qui conduisent ensuite à la formation de fissures dans le matériau (Figure 1-27).

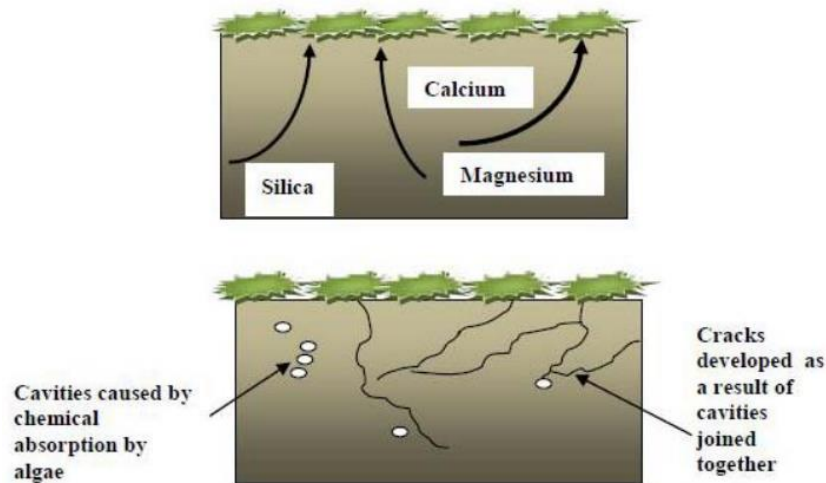


Figure 1-27 : Utilisation des nutriments présents dans la pâte cimentaire par les algues, créant ainsi des petites cavités puis des fissures (Javaherdashti et al., 2009)

Le processus de bio-solubilisation effectué par les algues induit généralement la production de plusieurs acides. C'est l'un des mécanismes de biodétérioration de la matrice cimentaire les mieux connus (Cwalina, 2008 ; Sand, 1997). Des acides organiques tels que l'acide myristique ou l'acide palmitique et inorganiques comme les acides acétique ou lactique, ou encore le dioxyde de carbone peuvent également être corrosifs vis-à-vis de la matrice cimentaire (Jayakumar et Saravanane, 2010 ; Wei et al., 2013). La libération de ces espèces va alors fragiliser la structure du matériau cimentaire, menant à la dégradation physique et mécanique de ce dernier. (Bertron et al., 2004) ont montré que la présence d'acides (acétique, butyrique, propionique ...) en contact avec le matériau cimentaire affaiblissait ce dernier. En effet, ils réagissent avec la matrice cimentaire pour former des sels de calcium et d'aluminium, solubles dans l'eau, supprimant toute protection de celui-ci. La zone altérée présente alors une porosité plus importante ainsi qu'une résistance mécanique plus faible. Les phénomènes de lixiviation sont accrus en raison de la complexation du calcium présent dans les C-S-H et la portlandite ; le terme de biolixiviation est alors utilisé puisque ce phénomène est induit du fait de la présence de microorganismes (Lajili et al., 2008). Les dégradations engendrées par la présence de ces acides, d'origine biologique, sont difficiles à prédire en raison de la différence d'activité métabolique de chaque espèce. De plus, la production des différents acides est continue, intensifiant les dégradations sur le matériau cimentaire dans le temps (Cwalina, 2008). La présence d'algues à la surface du matériau cimentaire peut aussi, par le développement du biofilm, attirer d'autres espèces qui vont alors apporter une dynamique de biodétérioration supplémentaire (Javaherdashti et al., 2009).

Les substances polymériques extracellulaires sécrétées par les algues peuvent également être impliquées dans le mécanisme de biodétérioration. En effet, lors d'un cycle de marée (sécheresse puis humidité), elles subissent un retrait puis un gonflement. Ce changement de volume régulier induit des contraintes supplémentaires sur le matériau qui peuvent l'affaiblir dans le temps (Lors et al., 2017).

Au moment de son immersion, le pH de surface du matériau cimentaire est de l'ordre de 13 (Figure 1-28). Cette valeur élevée lui permet d'inhiber toute colonisation en raison du faible nombre de microorganismes capables de se développer à une telle alcalinité (Lors et al., 2017 ; Wei et al., 2013).

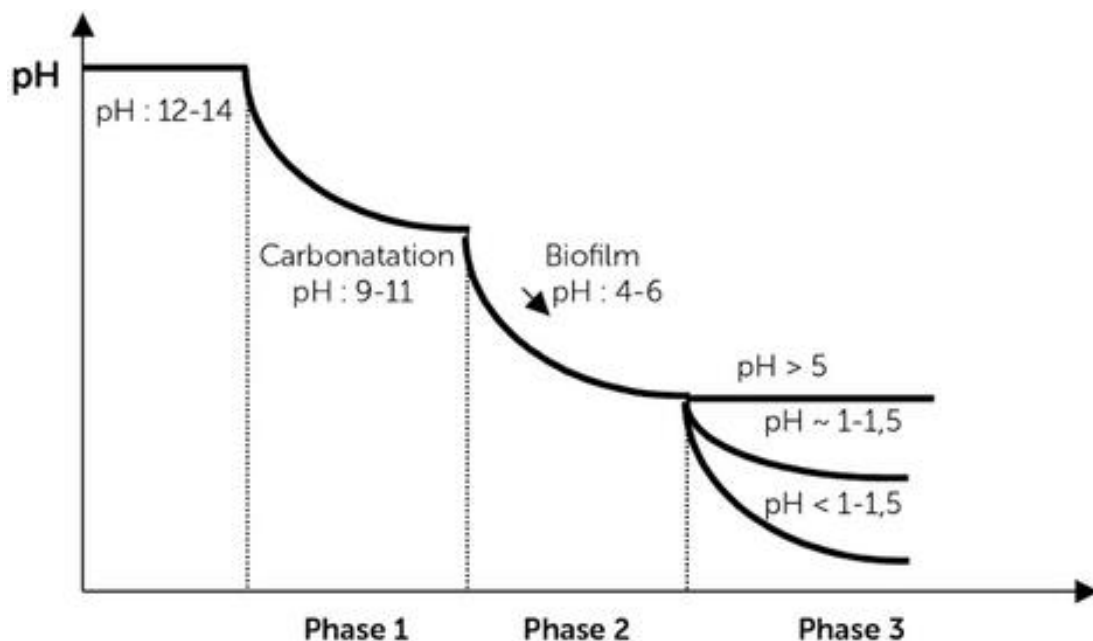


Figure 1-28 : Variation du pH selon l'avancée de la colonisation de la surface étudiée (Guézennec, 2017)

Par réaction du dioxyde de carbone avec la matrice cimentaire, le phénomène de carbonatation va permettre de diminuer peu à peu le pH de la surface jusqu'à une valeur de 9 (Phase 1 sur la Figure 1-28). Les microorganismes vont alors pouvoir peu à peu se développer en formant un biofilm et faire évoluer l'alcalinité de la surface pour satisfaire à leurs besoins (Guézennec, 2017). Le pH peut donc diminuer jusqu'à des valeurs extrêmement acides pour le béton (Phases 2 et 3), ce qui aura également pour effet de l'affaiblir et d'impacter ses propriétés mécaniques dans le temps.

La biodétérioration peut également s'effectuer de façon esthétique. Cette colonisation se traduit par l'apparition de tâches sur les surfaces cimentaires qui modifient l'esthétisme de celle-ci sans altérer les propriétés mécaniques de l'ouvrage (Manso et al., 2014 ; Tran, 2012). Différentes solutions ont été développées afin de réduire cette altération des matériaux, comme les traitements de surface (revêtements biocides, nettoyage naturel) ou dans la masse du matériau (incorporation d'oxydes de titane dans la formulation) (Lors et al., 2017).

## 4.2. Bioprotection

La présence d'organismes marins sur un matériau cimentaire est souvent mal perçue en raison du phénomène de biodétérioration détaillé dans la partie précédente. Ce dernier se traduit généralement par des pertes de propriétés mécaniques du matériau et par conséquent un coût de réparation à prendre en compte. Cependant, certaines études montrent que la présence d'un biofilm, puis d'espèces marines à la surface du matériau cimentaire permet d'améliorer la durabilité des ouvrages (Coombes et al., 2017).

Dans leur étude, (Lv et al., 2015) montrent que la présence des bactéries *Pseudoalteromonas* et *Paracoccus marcusii* à la surface de mortier permet de créer un biofilm dense diminuant la propagation des ions chlorure et magnésium au sein de la matrice cimentaire d'environ 20 %. Les hypothèses avancées pour expliquer ce phénomène de bioprotection du matériau seraient au nombre de trois. Dans un premier temps, le biofilm jouerait un rôle de barrière physique entre le matériau et l'environnement, en raison de la présence de polymères, de gaz ou de particules emprisonnées dans la matrice. Dans un second temps, les ions chlorure et magnésium pourraient, eux-aussi, être piégés par les EPS. Enfin, dans un troisième et dernier temps, les interactions électrostatiques entre le biofilm (chargé négativement) et les ions chlorure pourraient éloigner ces derniers du substrat. Les ions magnésium, chargés positivement, pourraient quant à eux être complexés par les molécules chimiques présentes dans le biofilm. De plus, le biofilm réduit également la lixiviation des ions hydroxydes vers le milieu extérieur.

(Chlayon et al., 2018) ont quant à eux, observé, après immersion d'éprouvettes de béton en milieu marin, que les microfissures étaient remplies de biofilm, jouant un rôle de revêtement et permettant une meilleure étanchéité (Figure 1-29).

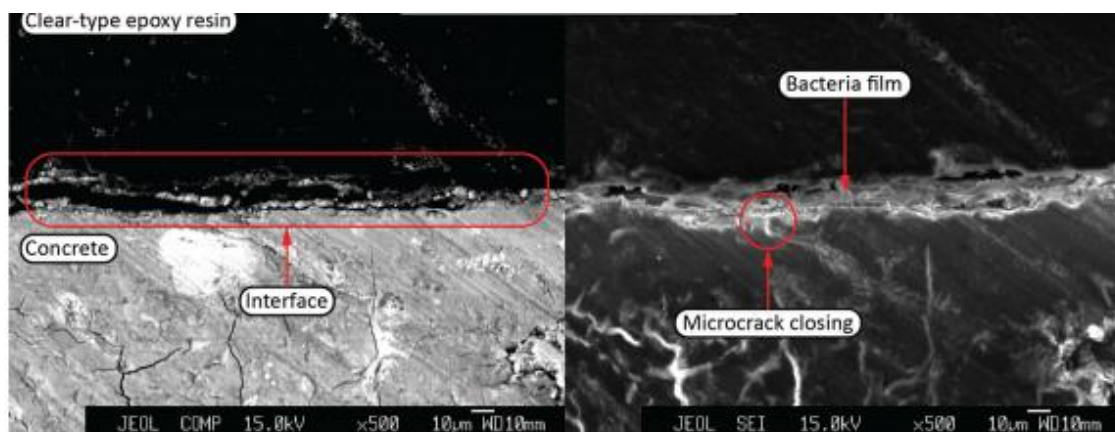


Figure 1-29 : Images MEB (électrons rétrodiffusés, gauche ; électrons secondaires, droite) du film bactérien s'étant développé sur la surface du béton (Chlayon et al., 2018)

La perméabilité serait donc également diminuée de manière physique, par l'action du biofilm qui comblerait les microfissures.

## CONCLUSION

Ce chapitre bibliographique a permis de mettre en évidence l'intérêt d'étudier dans sa globalité le comportement d'une infrastructure maritime en béton et immergée en mer. De nombreuses études se sont déjà penchées sur les interactions pouvant exister entre l'eau de mer et le matériau cimentaire au niveau chimique et physique, mais très peu y ont ajouté la composante biologique, bien qu'elle soit primordiale. En effet, en raison de l'urbanisation croissante des littoraux, les organismes marins se développent sur les infrastructures, menant à des interactions biologiques entre la structure et les écosystèmes ainsi créés. Ces interactions peuvent être nocives pour le matériau et mener à une détérioration des propriétés mécaniques de celui-ci par le biais des phénomènes de biodétérioration. Elles peuvent également devenir un atout, en offrant une protection au matériau grâce au développement d'organismes à la surface de celui-ci.

Le développement biologique est différent selon le lieu d'immersion de l'ouvrage, en raison des conditions environnementales qui diffèrent et jouent sur la disponibilité des nutriments, la température de l'eau ou encore la quantité de lumière reçue par les organismes. La rugosité du matériau, la géométrie des ouvrages ou encore la composition de la matrice cimentaire sont autant de facteurs propres à chaque infrastructure maritime qui impacteront par la suite la colonisation de cette dernière.





---

# **Chapitre 2 :**

# **MATERIELS ET**

# **METHODES**

---

## INTRODUCTION

L'objectif de ce sujet de recherche est de caractériser la colonisation puis la biodétérioration de matériaux cimentaires immergés dans un environnement marin. Pour cela, plusieurs matériaux vont être formulés afin d'être caractérisés selon des protocoles expérimentaux mis au point dans cette étude.

Ce chapitre vise donc à détailler la composition de chaque matériau étudié ainsi que ses méthodes de fabrication. Le matériau cimentaire et le milieu aqueux seront caractérisés chimiquement tout au long des expériences d'immersion. Les protocoles utilisés sont donc explicités dans ce chapitre. La culture de la diatomée *Cylindrotheca closterium* est également détaillée. Enfin, dans le but de caractériser la colonisation des diatomées sur le matériau cimentaire, les outils et méthodes utilisés pour suivre le recouvrement de la micro-algue à la surface du matériau sont présentés et détaillés en dernière partie de ce chapitre. Pour mieux comprendre le fonctionnement de ces appareils de caractérisation, une rapide étude bibliographique est effectuée.

### 1. FORMULATION DU MATERIAU CIMENTAIRE

Comme cela a été expliqué dans le chapitre précédent, un matériau cimentaire est un matériau contenant du ciment comme liant. Il en existe trois : la pâte cimentaire, le mortier et enfin le béton. Leur différence réside dans la quantité de granulats qu'ils incorporent ainsi que la taille de ceux-ci.

Pour cette étude, le choix s'est porté sur l'utilisation du mortier pour plusieurs raisons. (Dubosc, 2000) a tout d'abord observé que les premiers centimètres du béton présentent des propriétés plus proches du mortier que du béton, en raison de la porosité plus importante ou de l'absence de gros granulats. Ces propriétés sont dues à un effet de bord du béton qui a lieu lors de la mise en place puis de la cure de ce dernier. Les interactions entre le matériau cimentaire et l'eau de mer s'effectuant dans les premiers centimètres du matériau, il est donc justifié d'utiliser du mortier plutôt que du béton. De plus, pour des raisons pratiques, il est plus facile de fabriquer et suivre la colonisation d'éprouvettes de mortier que d'éprouvettes de béton.

Les différentes formulations de mortier étudiées vont être présentées dans cette partie. Le même ciment a été utilisé durant toutes les manipulations. Afin d'étudier l'impact de la formulation du mortier sur la colonisation, deux sables ont été utilisés : un sable siliceux puis un sable calcaire ; l'eau de gâchage a été enrichie en nitrates.

#### 1.1. Choix des matières premières

##### 1.1.1. Ciment

Le ciment utilisé est un ciment Portland (Calcia), de référence CEM I 52,5 N PM-CP2. Il possède donc les caractéristiques pour être utilisé en mer (teneur limitée en C<sub>3</sub>A). Sa composition chimique est détaillée dans le Tableau 2-1. Les propriétés chimiques, physiques et mécaniques du ciment sont fournies en ANNEXE A.

	CaO	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MgO	TiO <sub>2</sub>	Na <sub>2</sub> O	K <sub>2</sub> O	SO <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
%	64,3	19,5	4,60	3,90	1,20	0,300	0,060	0,860	2,60	0,300

Tableau 2-1 : Composition chimique du ciment (Calcia)

### 1.1.2. Sable

Deux sables de natures différentes ont été utilisés pour formuler les éprouvettes de mortier. Le premier est un sable alluvionnaire siliceux de classe granulaire 0/2 mm (SACAB) (Figure 2-1). Ce sable est composé de 99,60% de silice, son coefficient d'absorption d'eau est de 0,3%. Le deuxième sable utilisé est un sable calcaire concassé (Lafarge), de classe granulaire 0/4 mm (Figure 2-2). Le coefficient d'absorption d'eau avec les fines est de 1,23%.



Figure 2-1 : Sable siliceux 0/2 mm



Figure 2-2 : Sable calcaire 0/4 mm

Ces deux sables sont conformes à la norme NF P18-545. Leurs fiches techniques sont fournies dans les ANNEXE B et ANNEXE C. Leurs courbes granulométriques sont données dans la Figure 2-3. Elles permettent de déterminer la taille ainsi que les pourcentages pondéraux respectifs des différents grains de l'échantillon.

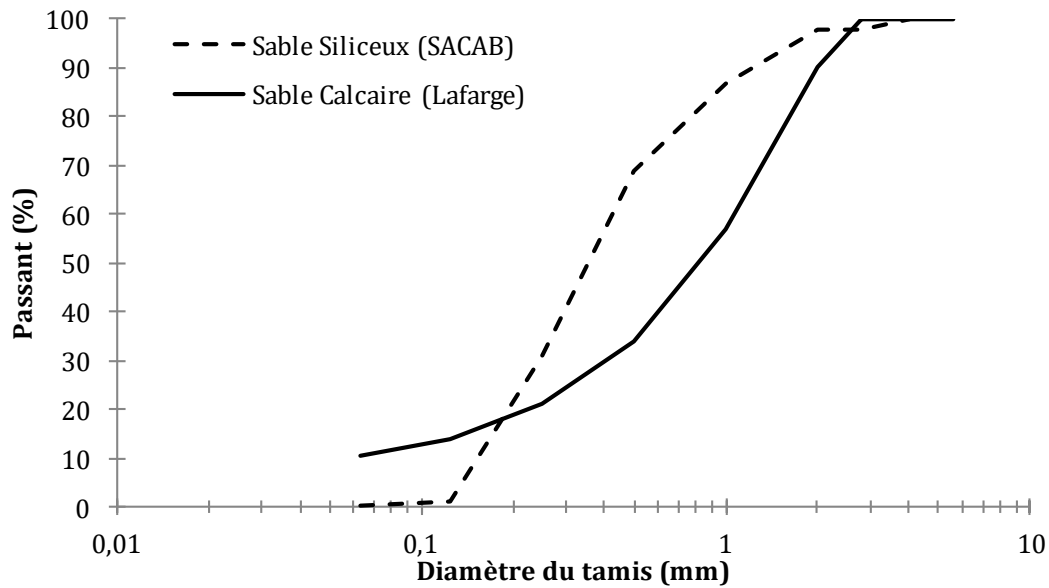


Figure 2-3 : Courbes granulométriques du sable siliceux (SACAB) et du sable calcaire (Lafarge)

Le sable a été placé, avant son utilisation, dans une étuve à 105°C afin d'obtenir une teneur en eau inférieure à 0,2%. Avant la confection des éprouvettes, il a été préalablement refroidi à température ambiante.

La composition chimique du sable calcaire a été déterminée par analyse thermogravimétrique (Figure 2-4). Au moyen de cette analyse, il a été déterminé que le sable calcaire est composé à 99,1% de carbonate de calcium.

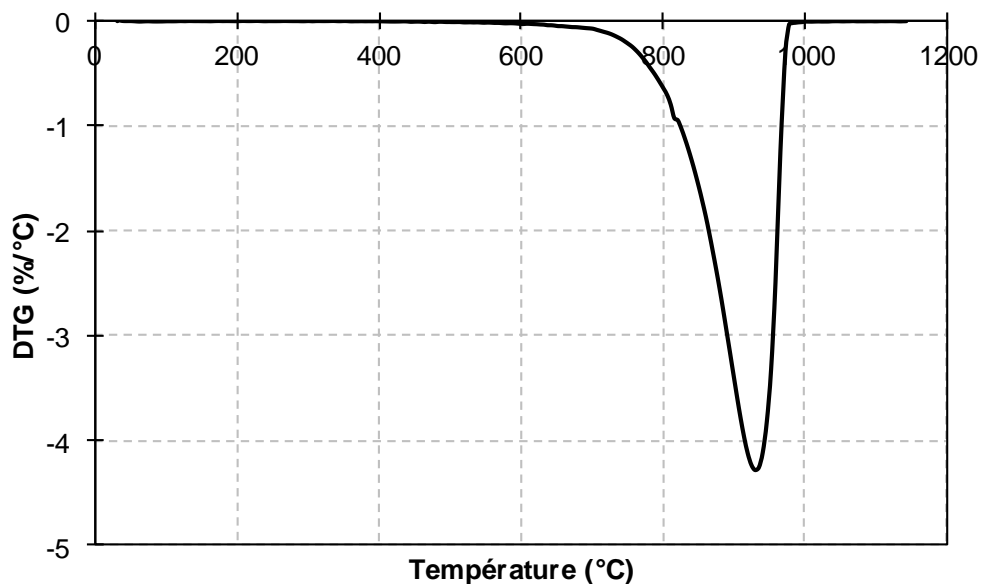


Figure 2-4 : Analyse thermogravimétrique du sable calcaire

### 1.1.3. Eau

L'eau utilisée pour le gâchage des mortiers est l'eau de distribution de la commune d'Epron. Sa composition chimique a été déterminée par chromatographie

ionique (Tableau 2-2); la description de cette expérience sera effectuée par la suite. Les valeurs mesurées sont comparées aux valeurs maximales autorisées dans une eau de gâchage par la norme NF EN 1008.

	Cl <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
<b>Concentrations mesurées (mg/L)</b>	53,8	33,9	42,4
<b>Valeurs limites (mg/L) – NF EN 1008</b>	4500	500	2000

Tableau 2-2 : Concentrations mesurées et maximales en ions chlorure, nitrate et sulfate dans une eau de gâchage

L'eau de distribution courante est donc en accord avec les valeurs spécifiées par la norme NF EN 1008 et peut donc être utilisée pour la fabrication des éprouvettes de mortier.

Dans le but d'étudier l'impact de la quantité d'ions nitrates (nutriments pour la biomasse) présents dans la pâte cimentaire, l'eau de gâchage a été enrichie en ions nitrates, dans la limite autorisée par la norme NF EN 1008 (Tableau 2-2). La concentration en ions NO<sub>3</sub><sup>-</sup> mesurée dans l'eau du robinet est de 33,9 mg/L. Afin de se placer à la concentration maximale d'ions NO<sub>3</sub><sup>-</sup> autorisés, il est nécessaire de rajouter 466,1 mg/L d'ions nitrate. Pour cela, 0,760 g de nitrate de potassium sont dissous dans 1L d'eau du robinet.

## 1.2. Formulations

La thèse présentée dans ce manuscrit doit répondre à plusieurs objectifs. Dans un premier temps, il est nécessaire de mettre en place un dispositif expérimental pertinent permettant la colonisation d'un matériau cimentaire. Pour cela, un mortier normalisé est utilisé. Dans un second temps, l'impact de la formulation des matériaux sur la colonisation va être étudié. La formulation va être modifiée par l'utilisation de différents sable (sable siliceux ou calcaire) ou d'une eau de gâchage modifiée.

La nomination des différentes formulations de mortier étudiées durant cette étude est détaillée ci-dessous :

- MN : Mortier Normalisé (100% sable siliceux) ;
- SC25 : substitution de 25 % de sable siliceux par du Sable Calcaire ;
- SC50 : substitution de 50 % de sable siliceux par du Sable Calcaire ;
- SC75 : substitution de 75 % de sable siliceux par du Sable Calcaire ;
- SC100 : substitution de 100 % de sable siliceux par du Sable Calcaire ;
- NTE : eau de gâchage avec une concentration en nitrates de 500 mg/L.

Le Tableau 2-3 présente les quantités de matériaux utilisées pour fabriquer les éprouvettes de mortier.

Formulation	MN	SC25	SC50	SC75	SC100	NTE
-------------	----	------	------	------	-------	-----

	<b>Ciment (g)</b>	450	450	450	450	450	450
	<b>Sable siliceux (g)</b>	1350	1012,5	675	337,5	0	1350
	<b>Sable calcaire (g)</b>	0	337,5	675	1012,5	1350	0
	<b>Eau (g)</b>	225	225	225	225	225	225
<b>Eau</b>	<b>Eau (absorption par sable) (g)</b>	0	5	9,3	13	17	0
	<b>[NO<sub>3</sub><sup>-</sup>] (mg/L)</b>	33,9	33,9	33,9	33,9	33,9	500

Tableau 2-3 : Proportions en matières premières utilisées pour les confections d'éprouvettes de mortier

### 1.3. Confection des éprouvettes

Les éprouvettes de mortier sont réalisées en accord avec la norme NF EN 196-1. Le rapport E/C a été fixé à 0,5 pour toutes les manipulations. Cependant, pour les formulations utilisant du sable calcaire, une quantité supplémentaire d'eau de 1,23% par rapport à la masse sèche du sable a été ajoutée, d'après la fiche technique, afin de compenser l'absorption d'eau de ce dernier.

Chaque gâchée permet de fabriquer trois éprouvettes de mortier. Afin d'obtenir des mortiers ayant des caractéristiques relativement proches, il a volontairement été choisi de fabriquer les éprouvettes trois par trois (gâchée par gâchée). En effet, un volume important de mortier aurait conduit à un remplissage des moules étalé dans le temps. Une petite quantité d'eau aurait pu s'évaporer et impacter la porosité du mortier entre la première éprouvette confectionnée et la dernière.

La mise en œuvre des mortiers se fait dans un malaxeur d'une capacité de 5 L (Proviteq, Figure 2-5). Après avoir homogénéisé à petite vitesse (140 tours/min) le sable et le ciment, l'eau est ajoutée en 30 secondes, toujours sous petite agitation. L'ensemble est mélangé pendant 30 secondes supplémentaires à grande vitesse (285 tours/min). Les parois du récipient sont ensuite raclées en 30 secondes manuellement pour détacher les résidus des parois et les ramener au centre du bol. Pendant 60 secondes, le mélange est laissé au repos. Enfin pour terminer, le malaxage est repris pendant 60 secondes à grande vitesse. La pâte est ensuite placée dans des moules en polystyrène. Chaque moule permet de fabriquer trois éprouvettes de dimension 4 x 4 x 16 cm<sup>3</sup>. Les éprouvettes sont moulées en deux couches à l'aide d'une table à chocs normalisée (Proviteq, Figure 2-6). Les moules sont ensuite placés dans une chambre de conservation dont la température et l'humidité relative sont conservées constantes à 20±1°C et 95±5% respectivement. 24 heures après leur fabrication, les éprouvettes sont démoulées et conservées durant les 27 jours suivants dans la chambre de conservation. Il est important de noter qu'aucune inscription

n'est notée sur les éprouvettes, ceci dans le but d'éviter tout produit chimique pouvant repousser les organismes marins lors de la colonisation des surfaces.



Figure 2-5 : Malaxeur utilisé pour la confection des éprouvettes de mortier



Figure 2-6 : Table à chocs utilisée pour la confection des éprouvettes de mortier

## 2. CARACTERISATION CHIMIQUE DU MATERIAU

Afin d'évaluer l'effet qu'a le biofilm sur le mortier immergé, la composition chimique du matériau est suivie à échéances régulières durant le temps des manipulations. Pour chaque essai présenté dans la suite de cette partie, l'éprouvette de mortier est tout d'abord séchée dans une étuve réglée à 105 °C durant 2 jours, puis, à l'aide d'une perceuse à colonne, des échantillons de poudre sont récupérés à trois profondeurs différentes : 0 – 2 mm, 2 – 4 mm et 4 – 6 mm. Ces essais sont destructifs vis-à-vis du biofilm et du matériau, les éprouvettes étudiées ne sont donc pas réintroduites dans le milieu d'étude.

### 2.1. pH

Comme cela a été montré dans le chapitre 1, les micro-organismes qui forment le biofilm sécrètent des substances acides qui abaissent progressivement le pH de la surface colonisée (Figure 1-28). Par mesure du pH de la surface du mortier, il est donc possible d'évaluer la progression du biofilm sur celle-ci et par la suite dans les premières profondeurs de l'échantillon.

Afin de mesurer le pH de la pâte cimentaire, les échantillons de poudre sont mélangés avec de l'eau déminéralisée selon un rapport 1:9 en masse (Codina, 2007 ; Räsänen et Penttala, 2004). Les solutions sont agitées durant 15 min puis filtrées. Le pH du lixiviat est mesuré à l'aide d'un pH-mètre pH 510 (Eutech Instruments). En début d'immersion, les échantillons ne sont pas colonisés ; le pH mesuré est celui de la pâte cimentaire (~ 13).

## 2.2. Chromatographie ionique

Les micro-organismes ont besoin, afin de croître, de nutriments tels que les ions nitrates ou calcium. Lorsqu'ils se développent sur une surface, ils les puisent au sein de la matrice cimentaire. Pour suivre la consommation de ces ions, le lixiviat obtenu dans la partie précédente est caractérisé par chromatographie ionique. Cet essai permet de mesurer la quantité d'ions présents en phase aqueuse par passage de l'échantillon, entraîné par la phase mobile, dans une résine échangeuse d'ions (phase stationnaire). La résine va, en raison des différentes affinités électrostatiques existantes entre celle-ci et les ions, séparer ces derniers qui seront ensuite détectés en sortie de colonne par mesure de la conductivité de la solution. Un suppresseur est utilisé en sortie de colonne dans le but de diminuer le bruit de fond. Deux types de résine sont utilisés pour séparer soit les anions, soit les cations.

L'appareil utilisé pour cette étude est le 883 Basic IC Plus de l'entreprise Metrohm. Un passeur automatique permet d'analyser automatiquement les différents échantillons (Figure 2-7). Les caractéristiques des analyses effectuées sont détaillées dans le Tableau 2-4.

	<b>Cation</b>	<b>Anion</b>
<b>Colonne</b>	Metrosep C 6 150/4.0	MetrosepA Supp5 250/4.0
<b>Garde</b>	Metrosep C 4 Guard/4.0	MetrosepA Supp 4/5 Guard 4.0
<b>Temps d'analyse</b>	26 min	30 min
<b>Eluant</b>	- 0,3 mmol/L d'acide pyridine-2,6-dicarboxylique - 3 mmol/L d'acide nitrique	- 3,2 mmol/L de carbonate de sodium - 1,0 mmol/L de bicarbonate de sodium
<b>Débit de l'éluant</b>	0,9 mL/min	0,7 mL/min
<b>Ions analysés</b>	Ca <sup>2+</sup> , K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
<b>Etalonnage</b>	Sels de chlorure (1 – 5 – 10 – 25 – 50 ppm)	Sels de sodium (1 – 5 – 10 – 25 – 50 ppm)

Tableau 2-4 : Caractéristiques de la chromatographie ionique





Figure 2-7 : (gauche) Chromatographie ionique, (droite) passeur

Le lixiviat obtenu pour effectuer les mesures de pH du matériau dans la partie précédente est dilué au 1/25<sup>ème</sup> avec de l'eau ultra-pure. Cette dilution permet d'éviter une saturation du signal dans le détecteur. Les échantillons sont ensuite filtrés sur seringue 0,45  $\mu\text{m}$  pour enlever toutes les impuretés avant d'être injectés de façon automatique par le passeur dans l'injecteur de la chromatographie ionique.

### 2.3. Analyses thermogravimétriques

En plus de suivre la composition de la matrice cimentaire par chromatographie ionique, il est également possible de caractériser cette dernière au moyen d'analyses thermogravimétriques. Le principe de cet essai repose sur la mesure de la perte de masse d'un échantillon soumis à une élévation de température. Les températures de pertes de masse observées pour un matériau cimentaire sont connues et référencées et permettent ainsi de connaître la composition de l'échantillon de départ.

L'appareil utilisé pour effectuer les analyses thermogravimétriques est un STA 449 F5 (Netzch) dont le principe de fonctionnement est détaillé dans la Figure 2-8. Les essais se déroulent sur un intervalle de température de 20 °C à 1150 °C, avec une vitesse de chauffe de 10 °C/min et sous balayage d'azote à 50 mL/min (LCPC, 2005). Une atmosphère inerte a été utilisée dans le but de ne pas créer d'éventuelles réactions secondaires au moment de la chauffe du matériau.

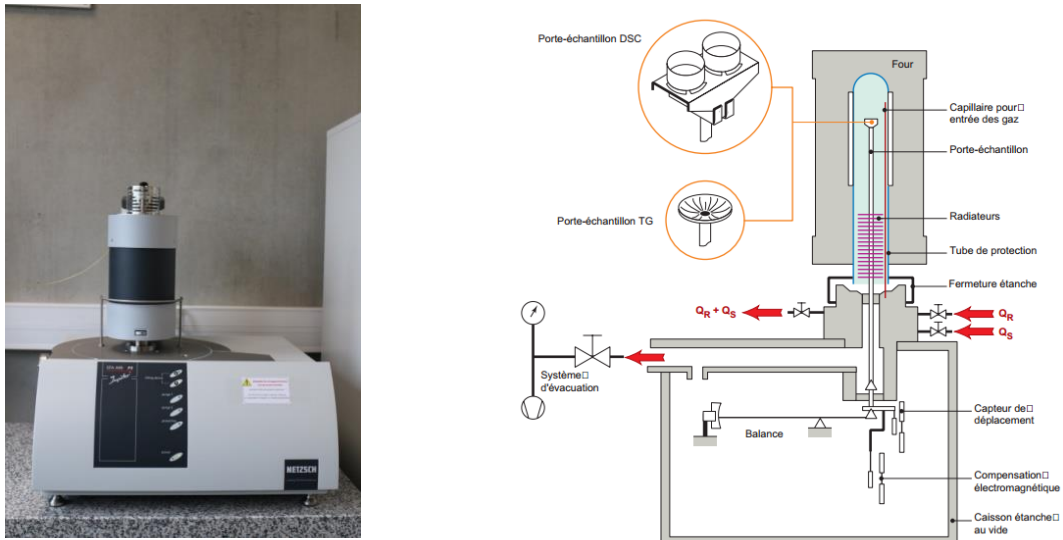


Figure 2-8 : (gauche) Thermogravimètre, (droite) principe de fonctionnement d'une thermobalance (LCPC, 2005)

Les échantillons de mortier à analyser sont prélevés à 0 – 2 mm, 2 – 4 mm et 4 – 6 mm de profondeur à l'aide d'une perceuse à colonne. Ils sont ensuite placés dans un creuset en platine puis analysés selon le protocole présenté ci-dessus. Les valeurs de perte de masse mesurées par l'appareil permettent de tracer un graphique (Figure 2-9) comprenant la perte de masse mesurée par minute (ATG) ainsi que sa dérivée (DTG).

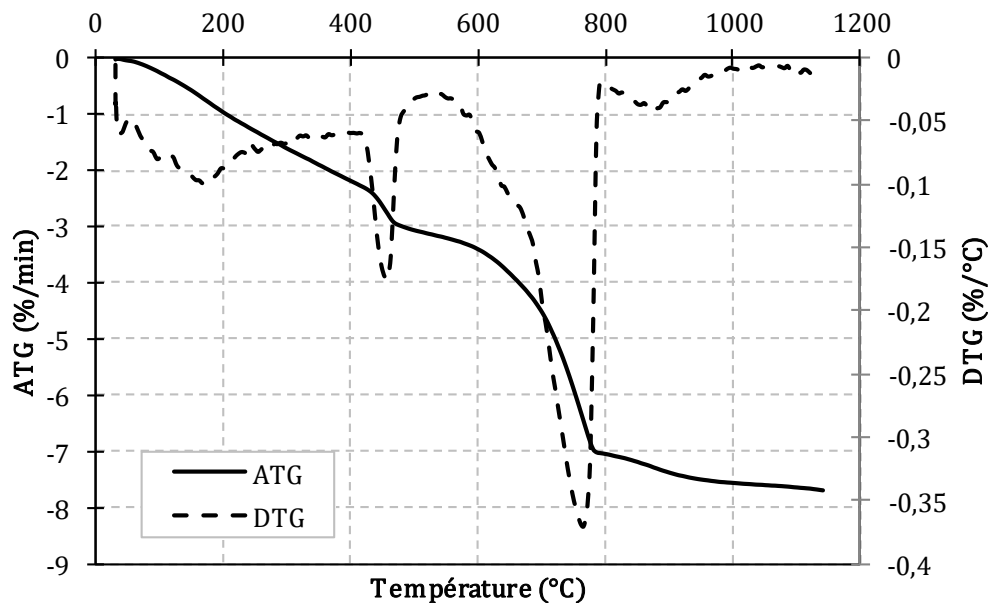


Figure 2-9 : ATG et DTG d'un mortier normalisé après 28 jours de cure, à une profondeur de 0 – 2 mm

En augmentant la température d'un échantillon cimentaire, celui-ci va se décomposer en libérant de l'eau ou du dioxyde de carbone à des températures connues (Page, 2017):

- 80 – 250 °C : déshydratation de l'ettringite puis du C-S-H ;
- 420 – 550 °C : décomposition de la portlandite (départ d'une molécule d'eau) ;

- 550 – 1000 °C : décomposition du carbonate de calcium (départ d'une molécule de dioxyde de carbone).

Grâce aux départs de ces molécules chimiques, il est alors possible de connaître les quantités de portlandite et de carbonate de calcium présentes dans le matériau. La méthodologie de détermination de la quantité de ces hydrates dans l'échantillon analysé va être détaillée dans la suite de cette partie.

### 2.3.1. Détermination de la quantité de portlandite

La portlandite est une espèce chimique de formule  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . C'est l'hydrate le plus soluble présent dans la pâte cimentaire et donc le premier à être sujet à la lixiviation. Sous l'action de la chaleur, la portlandite se décompose en eau et en chaux libre ( $\text{CaO}$ ) selon la réaction 2-1 :



La quantité d'eau dégagée est mesurée par perte de masse et permet de connaître la masse de portlandite présente dans le matériau au moment de l'échantillonnage selon la formule suivante (Equation 2 – 1) :

$$m_{\text{portlandite}} = \frac{M_{\text{portlandite}} \times m_{\text{eau}}}{M_{\text{eau}}} \quad \text{Equation 2-1}$$

Avec  $m_{\text{portlandite}}$  la masse de portlandite calculée en milligrammes,  $M_{\text{portlandite}}$  la masse molaire de la portlandite (73 g/mol),  $m_{\text{eau}}$  la masse d'eau en milligrammes perdue lors de la montée en température de l'échantillon dans la plage de température relative à la décomposition de la portlandite et  $M_{\text{eau}}$  la masse molaire de l'eau (18 g/mol).

### 2.3.2. Détermination de la quantité de carbonate de calcium

Le carbonate de calcium va se décomposer en dioxyde de carbone et en chaux sous l'action de la chaleur, selon la réaction 2-2 :



La perte de masse enregistrée par l'appareil correspond au départ du dioxyde de carbone qui permet ainsi de connaître la quantité de carbonate de calcium initialement présente dans l'échantillon analysé par l'intermédiaire de la formule suivante (Equation 2-2) :

$$m_{\text{CaCO}_3} = \frac{M_{\text{CaCO}_3} \times m_{\text{CO}_2}}{M_{\text{CO}_2}} \quad \text{Equation 2-2}$$

Avec  $m_{\text{CaCO}_3}$  la masse de carbonate de calcium calculée e, milligrammes,  $M_{\text{CaCO}_3}$  la masse molaire du carbonate de calcium (100 g/mol),  $m_{\text{CO}_2}$  la masse de dioxyde de carbone en milligrammes perdue lors de la montée en température de l'échantillon dans la plage de

température relative à la décomposition de la portlandite et  $M_{CO_2}$  la masse molaire du dioxyde de carbone (44 g/mol).

## 2.4. Rugosité

La rugosité d'une surface peut être définie comme l'irrégularité de celle-ci. Pour la caractériser, la mesure a été effectuée à l'aide d'un microscope numérique (VHX-6000, VHX-ZST, Keyence), à un grossissement de 20 et sous éclairage annulaire complet. La rugosité arithmétique Ra (moyenne des valeurs absolues sur la longueur de base) a été mesurée à différents emplacements de la surface de l'échantillon de mortier, comme le montre la Figure 2-10 (Gadelmawla et al., 2002).

Il est visible, à l'œil nu, que les éprouvettes de mortier présentent une certaine rugosité. Celle-ci est visible par mesure par microscopie numérique (image D de la Figure 2-10), où les valeurs oscillent entre des valeurs positives et négatives. Cette rugosité provient en réalité du moule utilisé pour fabriquer les éprouvettes. En effet, les moules utilisés sont des moules en polystyrène, présentant certaines irrégularités de surface.

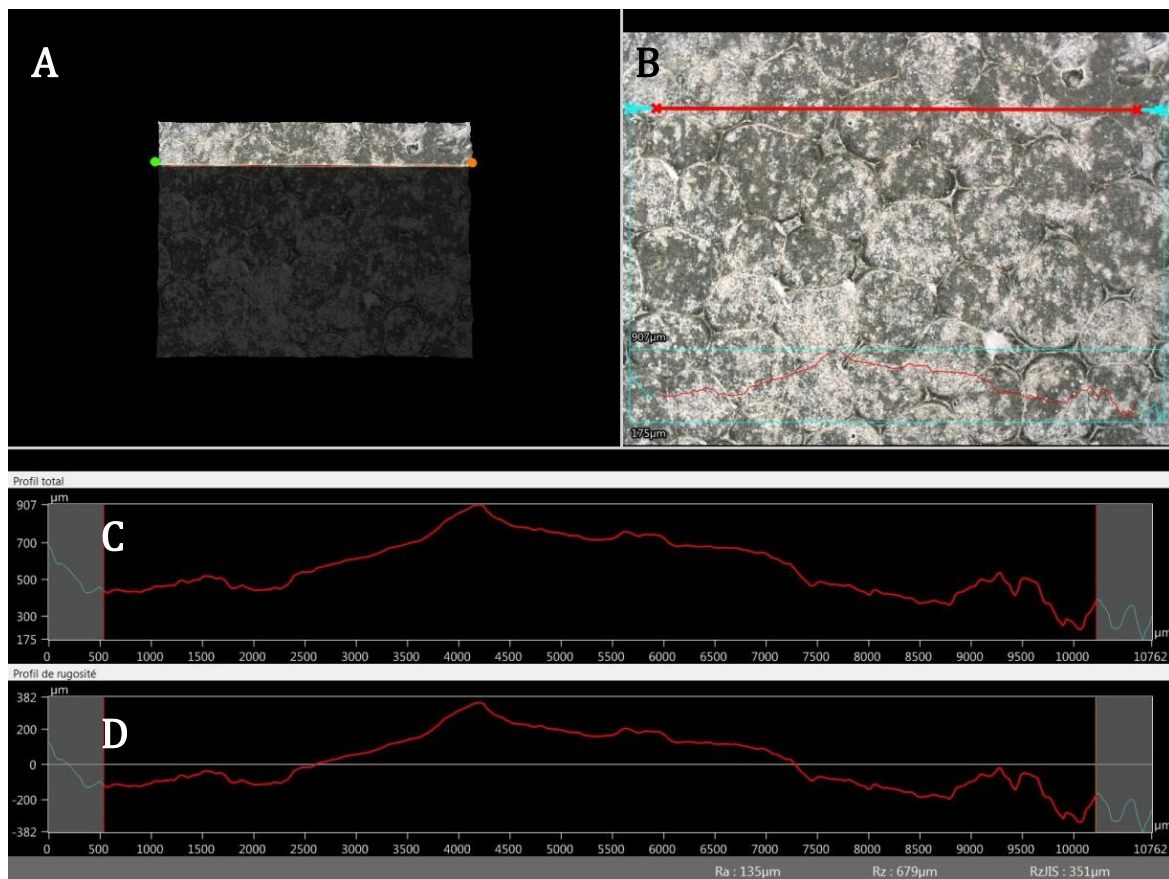


Figure 2-10 : Mesure de la rugosité par microscopie numérique. A : vue de l'échantillon, B : choix de l'emplacement de la mesure de rugosité, C : profil total (courbe établie à partir des coordonnées numérisées à intervalles réguliers), abscisse et ordonnée en  $\mu\text{m}$  ; D : profil de rugosité, abscisse et ordonnée en  $\mu\text{m}$ .

### 3. CULTURE DE LA SOUCHE DE DIATOMÉE

#### 3.1. Milieu de culture

La diatomée *Cylindrotheca closterium* utilisée dans l'étude provient de la collection de cultures de microalgues de l'Université de Caen (AlgoBank). Elle est cultivée dans le milieu de Conway. Ce milieu a été choisi car il est adapté à la culture des diatomées en grand volume et se prépare facilement. Ce point est important pour une étude multidisciplinaire telle que celle-ci, nécessitant des volumes de culture importants. Ce milieu est préparé à partir de trois solutions différentes, dont la composition est détaillée dans le Tableau 2-5 et le Tableau 2-6.

Solution	Formule chimique	Quantité (g/L)
1	Na <sub>2</sub> EDTA	45,0
	NaNO <sub>3</sub>	100,0
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	33,6
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	20,0
	MnCl <sub>2</sub>	0,360
	FeCl <sub>3</sub>	1,30
	Solution 2	1 mL
	Eau distillée	q.s.p 1L
2	ZnCl <sub>2</sub>	21,0
	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	20,0
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	9,00
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	20,0
	Eau distillée	q.s.p 1L
3	Vitamin B12	0,100.10 <sup>-3</sup>
	Vitamin B1	2,00.10 <sup>-3</sup>
4	Eau distillée	q.s.p 1L
	Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> , 5H <sub>2</sub> O	40,0
	Eau distillée	q.s.p 1L

Tableau 2-5 : Composition chimique du milieu de Conway

	A prélever pour 1 L d'eau de mer (mL)
Solution 1	1
Solution 3	0,1
Solution 4	1

Tableau 2-6 : Mise en œuvre du milieu de Conway

L'eau salée est fabriquée à partir de sels marins (Instant Ocean®, Spectrum Brand) dosés à 33,3 g/L. Ce dosage permet d'obtenir une composition en sels proche de celle trouvée en moyenne en mer.

Ions	Océan Atlantique	Instant Ocean
Cl <sup>-</sup>	17,8	18,5
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2,50	2,70
Na <sup>+</sup>	10,0	10,6
Mg <sup>2+</sup>	1,50	1,26
Ca <sup>2+</sup>	0,40	0,37
K <sup>+</sup>	0,30	0,37

Tableau 2-7 : Composition de l'eau de mer dans l'Océan Atlantique (Ollivier et Vichot, 2008) et par ajouts de sels de mer synthétiques Instant Ocean® (Atkinson et Bingma, 1997)

Pour conserver la souche de *C. closterium*, il est essentiel d'effectuer régulièrement des repiquages. Un repiquage consiste en un renouvellement du milieu afin d'entretenir la culture. Un faible volume de culture (inoculum) est prélevé dans la solution mère et mis en suspension dans la solution fille. Cette dernière est composée d'eau de mer et des nutriments dans les proportions présentées dans le Tableau 2-5. L'inoculum représente environ 10% du volume total final de la solution fille (Erdogan et al., 2016).

La diatomée *Cylindrotheca closterium*, comme tous les organismes photosynthétiques, a besoin pour croître de sels nutritifs et de lumière pour se développer. Les cultures sont ainsi exposées 24 heures par jour à la lumière (Nextrema LED, 30W) pour permettre leur croissance (Erdogan et al., 2016 ; Michael Kingston, 2009). Les cultures sont placées dans une pièce dont la température est régulée à 19,5±1°C. Cette température est optimale pour leur développement, comme cela a été montré par Affan (Figure 2-11).

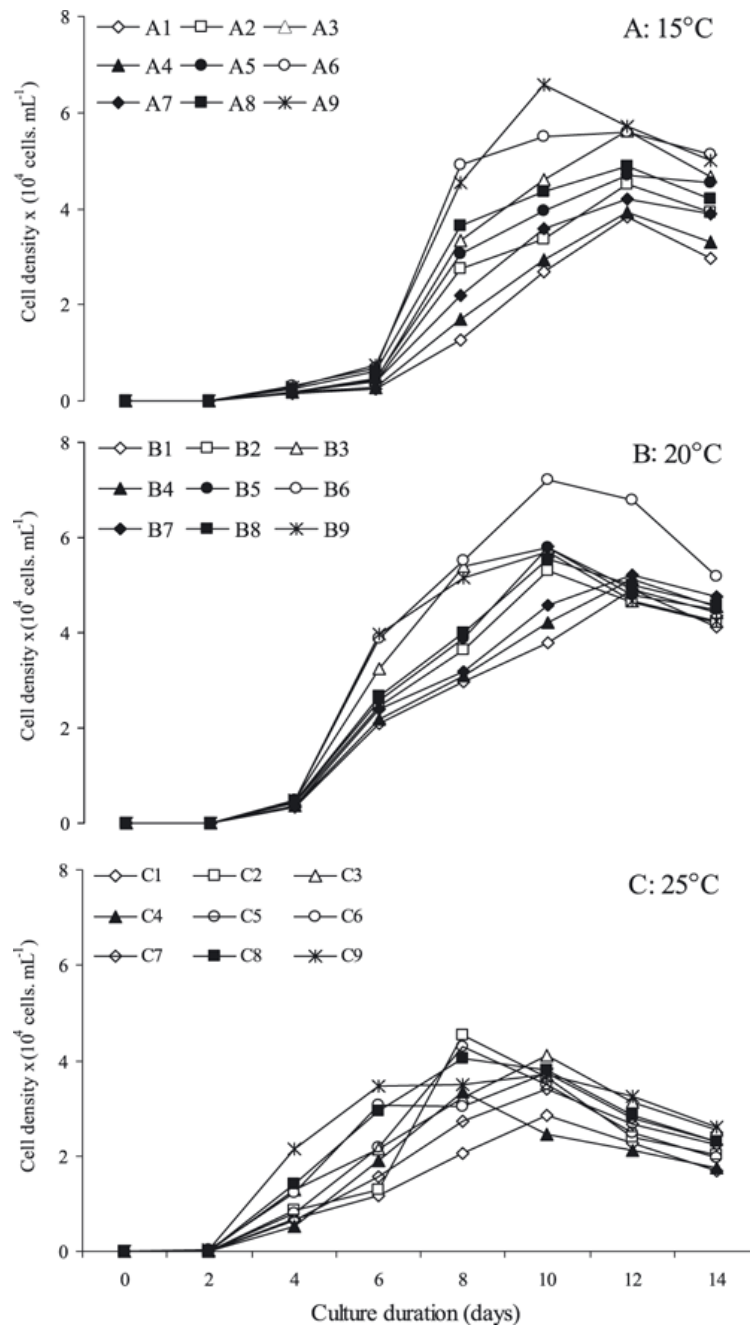


Figure 2-11 : Courbes de croissance de la diatomée *C. closterium* dans des milieux de culture à 15 °C, 20 °C et 25 °C. Les marqueurs utilisés représentent les différents milieux de culture qui ont été testés dans cette étude (Affan et al., 2009)

Les cultures, réalisées dans des erlenmeyers en verre (Figure 2-12), sont agitées manuellement une fois par jour, afin d'homogénéiser le milieu (Michael Kingston, 2009).

Figure 2-12 : Culture de la diatomée *C. closterium*

## 3.2. Croissance de la diatomée *Cylindrotheca closterium*

### 3.2.1. Suivi de la densité optique

Le suivi de la croissance des diatomées est effectué par spectrophotométrie UV-visible à l'aide d'un spectrophotomètre (Thermo Scientific). Les diatomées sont composées de pigments photosynthétiques qui absorbent la lumière à des longueurs d'ondes spécifiques. Entre 500 nm et 580 nm, peu de substances absorbent la lumière. C'est donc dans cette gamme de longueurs d'ondes qu'il est possible d'effectuer le suivi de la croissance sans être biaisé par des variations pigmentaires résultant de mécanisme de photoacclimatation. La mesure de la densité optique de la solution est effectuée trois fois sur le même échantillon à une longueur d'onde de 550 nm ; le milieu est homogénéisé avant chaque mesure (Demirel et al., 2015). La courbe de croissance obtenue est présentée dans la Figure 2-13.

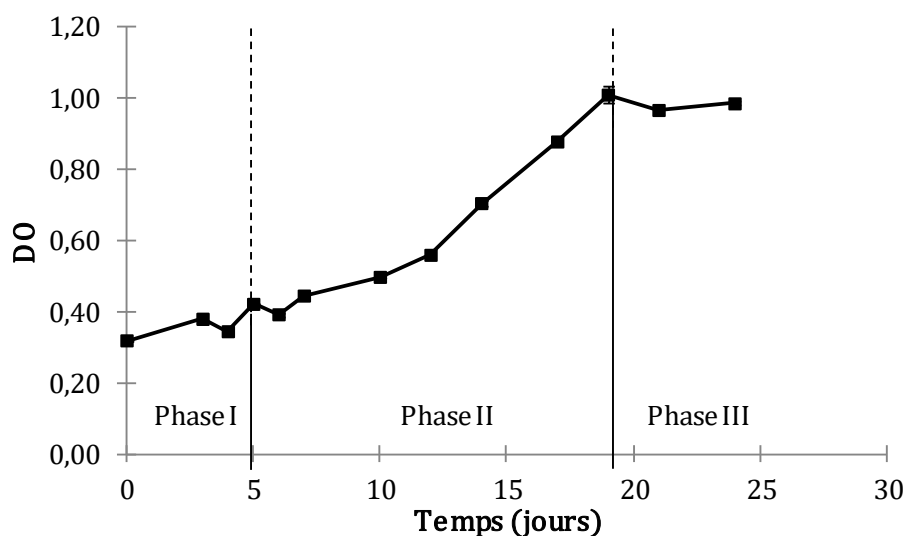


Figure 2-13 : Evolution de la densité optique (DO) à 550 nm dans le temps



Trois phases différentes peuvent être observées (Dalod, 2015 ; Tran, 2012):

- Tout d'abord, les diatomées se développent lentement sur une période de 10 jours. Elles s'acclimatent à leur nouveau milieu (phase I) ;
- Au bout de 10 jours, la croissance s'accélère fortement, jusqu'au 17<sup>ème</sup> jour (phase de croissance exponentielle, phase II) ;
- La croissance atteint ensuite un maximum, la densité optique n'évolue plus (phase stationnaire, phase III).

### 3.2.2. Suivi du pH du milieu de culture

Du fait de la réaction de photosynthèse (consommation de dioxyde de carbone) et donc du développement des diatomées, le pH de la solution algale va rapidement croître en l'espace de quelques jours (Figure 2-14).

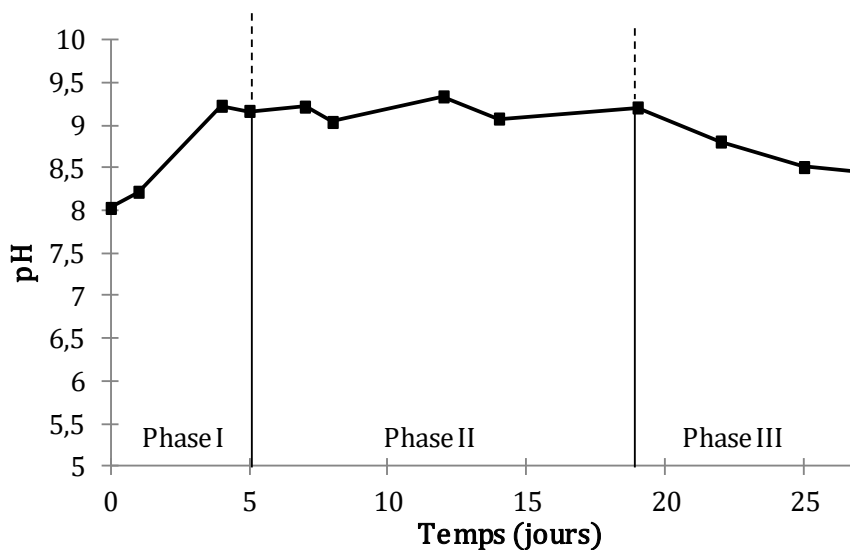


Figure 2-14 : Evolution du pH de la solution algale

L'équilibre chimique qui existe entre le dioxyde de carbone et les ions carbonates et bicarbonates est déplacé vers ces derniers, menant à une augmentation de pH (phase I). Une deuxième phase (phase II) est ensuite observable, pendant laquelle le pH reste relativement stable en raison d'un équilibre entre la réaction de photosynthèse et la respiration des diatomées. Cette phase dure, dans le cas de la culture de diatomées présentée dans cette étude, une dizaine de jours. Puis dans une troisième et dernière phase (phase III), le pH de la solution algale chute. La respiration devient supérieure à la photosynthèse, ce qui est renforcé par le développement des bactéries. La production de dioxyde de carbone devient ainsi supérieure à la consommation, ce qui se traduit par une baisse du pH.

### 3.2.3. Analyse du biofilm

Le biofilm de *C. closterium* a également été évalué par analyse thermogravimétrique. (Debiagi et al., 2017) ont mis en évidence que certains constituants du biofilm se dégradent à des températures spécifiques (Figure 2-15).

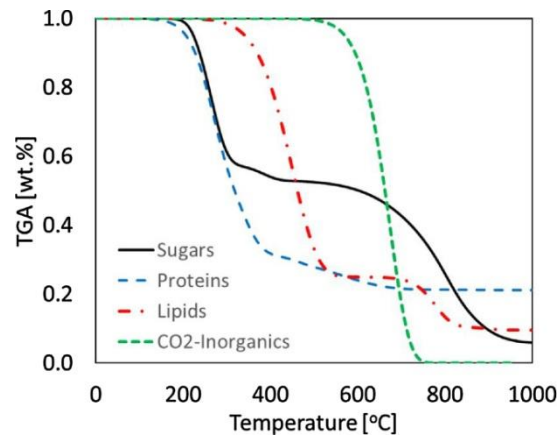


Figure 2-15 : Prédictions d'analyses thermogravimétriques pour les composés suivants : protéines, sucres, lipides et composés inorganiques à 10K/min (Debiagi et al., 2017)

Pour cela, une éprouvette de mortier a été immergée pendant 2 semaines dans de l'eau de mer artificielle en présence du milieu de culture afin de promouvoir le développement de la diatomée. La surface de l'éprouvette a ensuite été grattée pour récupérer une quantité représentative de biofilm. Ce dernier a été rapidement séché sur papier filtre puis placé dans un creuset en platine et analysé selon le protocole détaillé dans la partie 2.3. Les valeurs de pertes de masse (ATG) ainsi que sa dérivée (DTG) sont présentées dans la Figure 2-16.

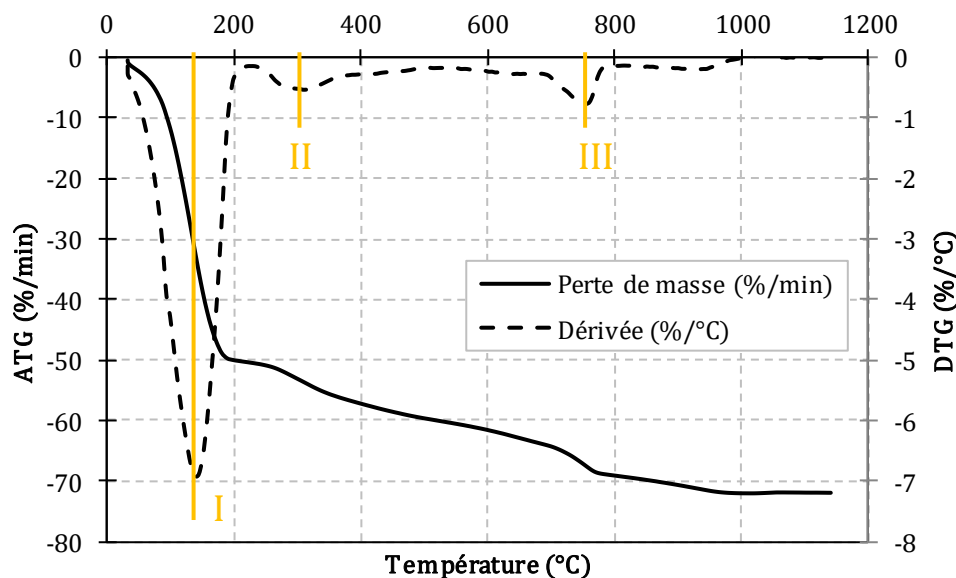


Figure 2-16 : Analyse thermogravimétrique du biofilm de *C. closterium* présent à la surface d'une éprouvette de mortier, après deux semaines d'immersion dans de l'eau de mer artificielle

Différentes étapes de dégradation de la diatomée sont visibles (Debiagi et al., 2017 ; Shuping et al., 2010) :

- I : 20°C – 200°C : perte de masse importante correspondant au départ d'eau libre contenue dans le biofilm ;
- II : 220 – 370°C : décomposition de la matière organique (sucres, protéines, lipides) ;

- III : 680 – 800°C : décomposition de la matière inorganique.

Il est intéressant d'observer un pic correspondant à la matière inorganique. Ce dernier pourrait être lié à l'activité photosynthétique des algues.

### 3.2.4. Synthèse

En corrélant les différents résultats obtenus par les mesures de densité optique du milieu de culture ou du pH, il a été choisi d'effectuer un repiquage de la culture de diatomées tous les 16 jours. Selon la Figure 2-13, les diatomées sont en pleine phase de développement et sont, d'après la Figure 2-14, en équilibre physico-chimique dans leur milieu.

## 4. CARACTERISATION DE LA COLONISATION

Les éprouvettes de mortier immergées dans l'eau de mer vont être peu à peu recouvertes par la diatomée *C. closterium*. Comme il a été vu dans le chapitre bibliographique, ce sujet est très peu étudié dans la littérature. Des outils simples ont donc été sélectionnés dans différentes études dont la thématique générale touche la colonisation des matériaux cimentaires. Le but est d'obtenir facilement des premiers résultats représentatifs et orienter par la suite les recherches. Parmi tous les outils et manipulations mis en œuvre dans les études touchant la colonisation des structures, l'utilisation des propriétés photosynthétiques des organismes est majoritairement mise à profit.

### 4.1. Intensité d'encrassement par spectrocolorimétrie

L'intensité d'encrassement est une grandeur utilisée dans le cadre des études concernant la colonisation des algues sur les façades des bâtiments (De Muynck et al., 2009 ; Dubosc, 2000 ; Escadeillas et al., 2009 ; Manso et al., 2014 ; Tran et al., 2012). Ce paramètre permet de chiffrer le degré d'encrassement des surfaces de façon non destructive. Dans le cadre de la colonisation en milieu marin, cet outil permettrait donc de caractériser l'intensité de colonisation des structures.

L'intensité d'encrassement est calculée à partir des valeurs de réflectance, mesurées à l'aide d'un spectrocolorimètre portable Ci60 (X-Rite) sur une gamme de longueurs d'ondes allant de 400 nm à 700 nm (Figure 2-17).



Figure 2-17 : Spectrocolorimètre Ci60 (X-Rite) utilisé

Selon (Braslavsky, 2007), la réflectance à une longueur d'onde donnée  $\rho(\lambda)$  est calculée comme étant le rapport entre le flux lumineux réfléchi  $\Phi_{r,\lambda}$  et le flux lumineux incident  $\Phi_{o,\lambda}$  à cette même longueur d'onde (Equation 2-3, Figure 2-18) :

$$\rho(\lambda) = \frac{\Phi_{r,\lambda}}{\Phi_{o,\lambda}} \quad \text{Equation 2-3}$$

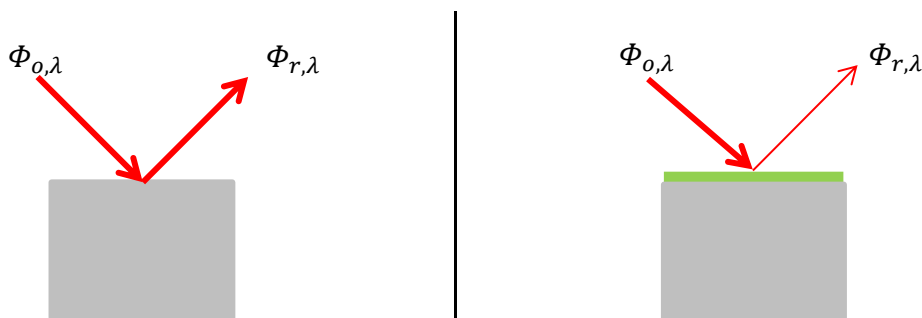


Figure 2-18 : Schématisation de la réflexion d'un rayon lumineux avant colonisation (gauche) puis après colonisation (droite)

Autrement dit, la mesure de la réflectance d'une surface est la mesure de la réflexion d'un faisceau lumineux à chaque longueur d'onde. En l'absence de biofilm, la surface de mortier réfléchit le flux incident à toutes les longueurs d'ondes à hauteur de 15 à 20% (Figure 2-18, Figure 2-19). En revanche, en présence de biofilm, le flux lumineux réfléchi est beaucoup moins important à certaines longueurs d'ondes caractéristiques, en raison de la présence de pigments photosynthétiques qui absorbent cette lumière (Figure 2-18). Il est donc observé, en particulier à 670 nm (pic d'absorption de la chlorophylle), une diminution importante de la réflectance, comme le montre la Figure 2-19.

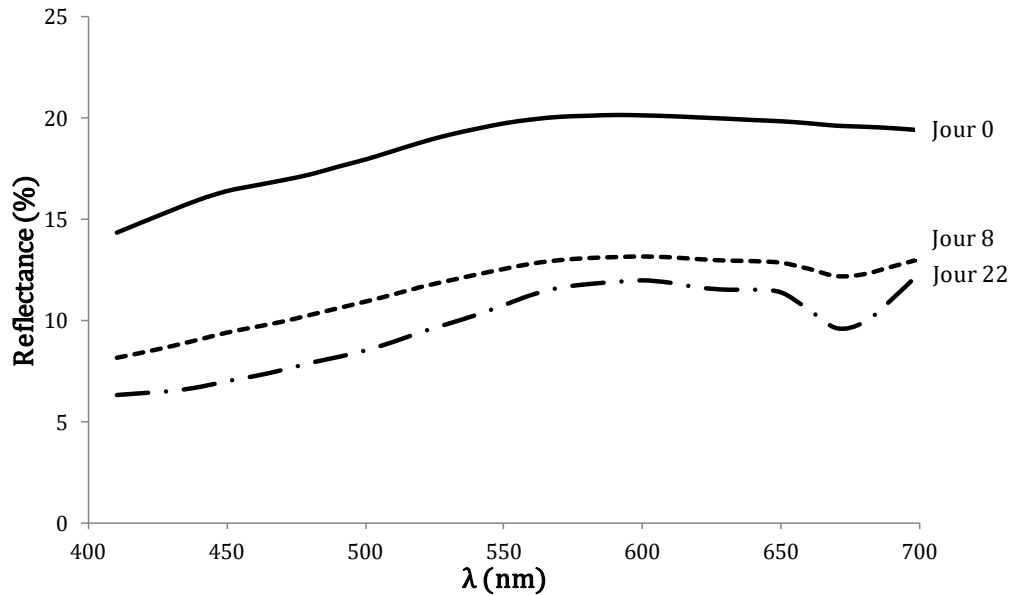


Figure 2-19 : Evolution du pourcentage de réflectance selon la longueur d'onde à la surface d'éprouvettes de mortier après 0, 8 et 22 jours d'immersion dans une eau de mer naturelle

A partir de ces valeurs de réflectance, il est alors possible de déterminer l'intensité d'encrassement, à l'aide de l'Equation 2-4 (De Muynck et al., 2009) :

$$\begin{aligned} \text{Intensité d'encrassement (\%)} & & \text{Equation 2-} \\ & = (R_{700nm} - R_{670nm})_{x \text{ jours, mouillé}} & 4 \\ & - (R_{700nm} - R_{670nm})_0 \text{ jours, sec} \end{aligned}$$

Avec  $R_{700nm}$  et  $R_{670nm}$  à  $x$  jours, mouillé le pourcentage de réflectance à 700 nm et 670 nm pour une éprouvette de mortier immergée après  $x = 1, 2, 3, \dots$  jours d'immersion et  $R_{700nm}$  et  $R_{670nm}$  à 0 jours, sec le pourcentage de réflectance à 700 nm et 670 nm pour une éprouvette de mortier non immergée dans l'eau de mer.

La zone analysée est un cercle de diamètre 8 mm. La Figure 2-20 représente une éprouvette de mortier dépliée, la réflectance est mesurée à :

- 2, 4, 8, 12 et 14 cm pour la face A ;
- 4, 8 et 12 cm pour les faces B1, B2 et C.

A chaque valeur de distance, la mesure est effectuée trois fois, à différents endroits sur l'axe des  $Y$  afin de caractériser le maximum de surface de l'éprouvette. Le spectrocolorimètre calcule automatiquement la moyenne des trois valeurs mesurées (représenté par un encadré rouge sur le schéma).

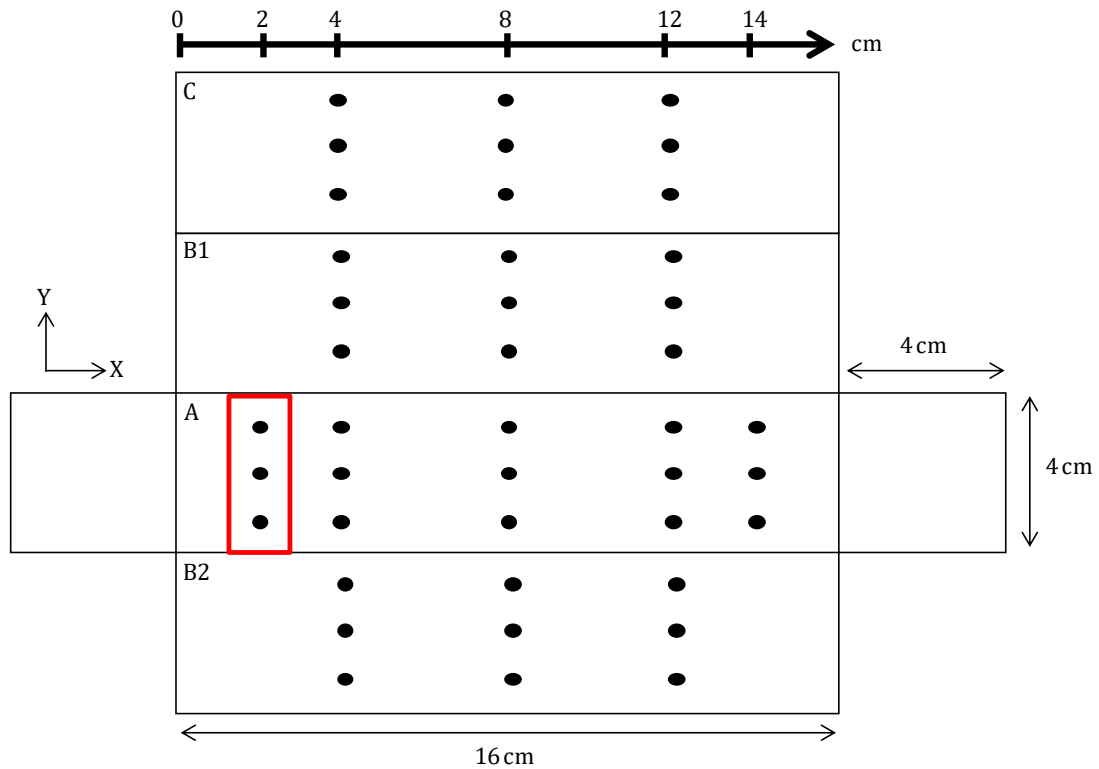


Figure 2-20 : Schéma d'une éprouvette de mortier dépliée, A : face supérieure, B1 : face latérale 1, B2 : face latérale 2, C : face inférieure. Les points noirs correspondent aux mesures de réflectance. L'encadré rouge donne un exemple des points utilisés pour calculer la moyenne de réflectance.

Au total, 14 valeurs de réflectance sont obtenues (5 valeurs sur la face A, 3 sur la face B1, 3 sur la face B2 et enfin 3 sur la face C).

Les éprouvettes de mortier, continuellement immergées, sont sorties deux fois par semaine du milieu d'étude. Elles sont tout d'abord nettoyées très délicatement avec de l'eau déminéralisée afin d'enlever les diatomées qui pourraient être posées sur les éprouvettes sans en être réellement attachées. (De Muynck et al., 2009) préconisent de faire sécher les éprouvettes durant 3h à 20°C dans le but d'éviter que la présence d'eau influence les valeurs de réflectance. En effet, en présence d'eau, le pourcentage de réflectance est beaucoup moins important (Figure 2-21).

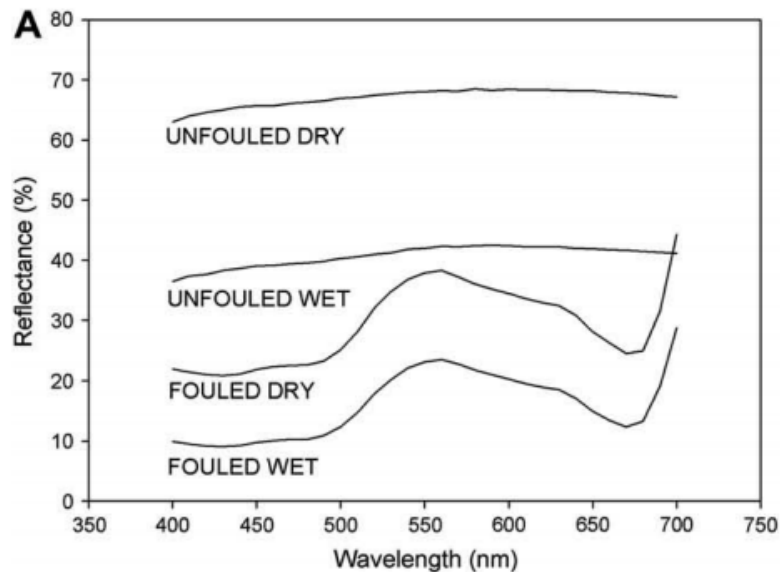


Figure 2-21 : Influence de l'humidité des échantillons sur les valeurs de réflectance d'éprouvettes propres et colonisées (De Muyndck et al., 2009)

Cependant, dans le cadre de cette thèse, les éprouvettes sont laissées à égoutter durant 30 minutes avant d'être caractérisées par réflectance. En effet, après avoir été caractérisées, elles sont replacées dans le milieu d'étude. Le fait de les sécher complètement pourrait dessécher le biofilm et avoir un impact sur la colonisation.

#### 4.2. Mesure de fluorimétrie

La mesure de la fluorescence de la chlorophylle est une méthode majoritairement utilisée dans le domaine de l'écophysiologie (Maxwell et Johnson, 2000). En effet, elle permet de connaître rapidement les performances photosynthétiques des végétaux grâce à un appareil simple d'utilisation et portable. Au sein des membranes des chloroplastes se trouvent des complexes enzymatiques portant le nom de photosystèmes. Il en existe deux : le photosystème I (PSI) et le photosystème II (PSII), qui sont branchés en série. Chaque photosystème est composé d'un centre réactionnel et d'une antenne collectrice (Féret, 2009). Lors de la réaction de photosynthèse, présentée dans le chapitre bibliographique, les pigments photosynthétiques (chlorophylle) sont excités par les photons qu'ils reçoivent. Ils émettent des électrons pour se décharger et leur permettre de revenir à leur état fondamental. Les électrons participent alors à la formation de molécules chimiques nécessaires à la construction de la cellule telles que l'ATP (Adénosine TriPhosphate) ou le NADPH (Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit). Il existe cependant deux autres processus de désexcitation des pigments chlorophylliens, que sont l'émission de chaleur et de fluorescence (Figure 2-22, A). Cette dernière consiste en l'émission d'un photon, à une longueur d'onde supérieure de celle reçue par la molécule chimique (ici, la chlorophylle) afin de revenir à son état fondamental. Cette émission de fluorescence provient de façon majoritaire du PSII (Morelle, 2017). Ces trois voies de désexcitation sont en compétition signifiant que la

diminution de l'efficacité de fonctionnement d'une de ces voies mène forcément à l'augmentation de l'efficacité des deux autres voies (Figure 2-22, B).

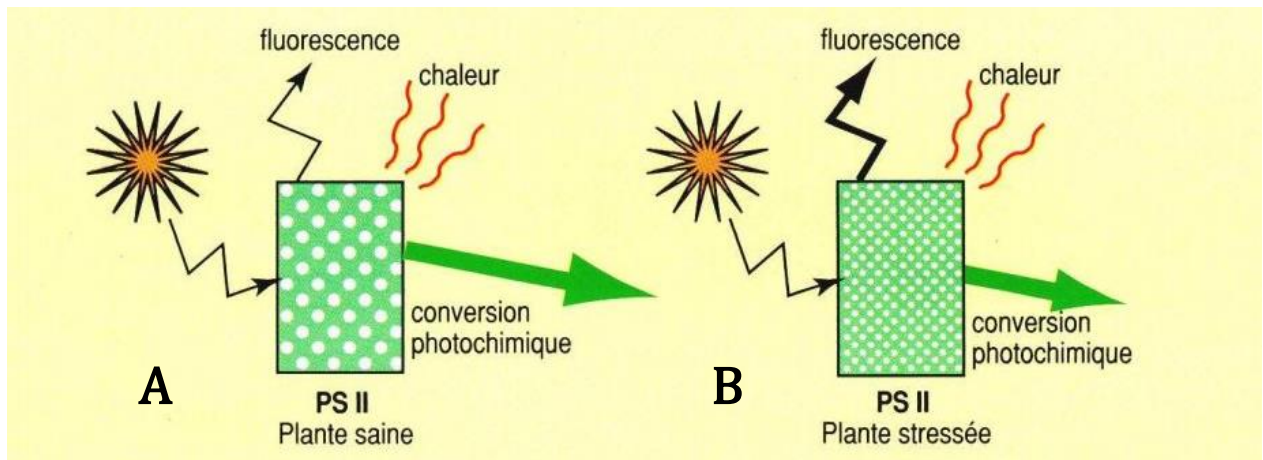


Figure 2-22 : Voies de désexcitation chez une plante saine (gauche) et une plante stressée (droite), (Bourrié, 2007)

En mesurant le rendement de la fluorescence chlorophyllienne, il est donc possible d'obtenir des informations sur l'efficacité de la photochimie de la cellule. Les paramètres obtenus seront détaillés par la suite.

L'appareil utilisé pour effectuer les mesures de fluorimétrie est un AquaPen-P AP-P 100 (Photon System Instruments) (Figure 2-23).



Figure 2-23 : AquaPen-P AP-P 100 (Photon System Instruments) utilisé

La zone analysée est un cercle d'un diamètre 15 mm. Les mesures sont effectuées à différentes distances par rapport au sommet de l'éprouvette (Figure 2-24) :

- 4, 8 et 12 cm pour la face A ;
- 8 cm pour les faces B1, B2 et C.



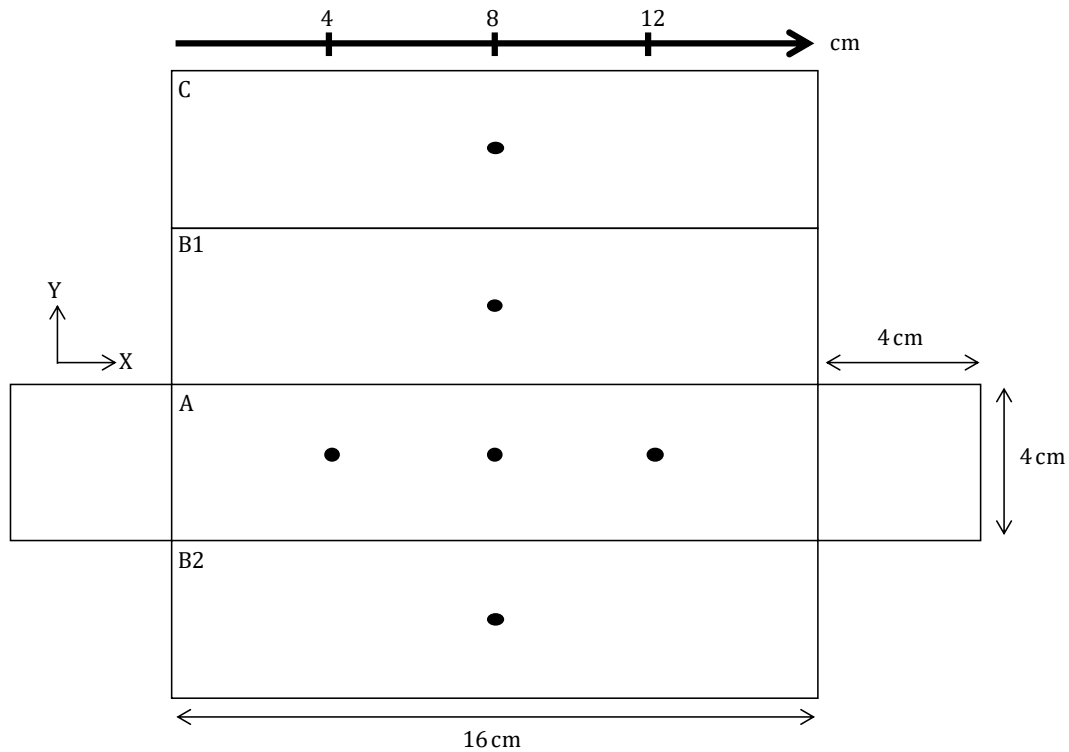


Figure 2-24 : Schéma d'une éprouvette de mortier dépliée, A : face supérieure, B1 : face latérale 1, B2 : face latérale 2, C : face inférieure. Les points noirs correspondent aux mesures.

Avant d'effectuer les mesures, les échantillons à analyser sont nettoyés très délicatement à l'aide d'eau déminéralisée, dans le même but que le nettoyage effectué pour les mesures de réflectance. Ils sont ensuite placés 10 minutes en obscurité totale, afin d'oxyder tous les centres réactionnels du photosystème II. Après ce temps minimal d'attente, l'appareil envoie tout d'abord une lumière de très faible intensité sur l'échantillon. Les photons reçus vont être transformés en énergie chimique par le photosystème et ceux non utilisés seront émis sous forme de fluorescence. Cette fluorescence minimale est notée  $F_0$ , elle est mesurée après  $50 \mu\text{s}$ . Un flash de lumière supersaturante est ensuite envoyé dans un délai très court (1 seconde) qui va fermer tous les centres réactionnels. La fluorescence va atteindre une intensité maximale, noté  $F_m$ . Cette mesure porte le nom de mesure OJIP (O étant la valeur de fluorescence mesurée en début d'essai, J celle à 3 ms, I à 30 ms et P à  $\sim 300$  ms) et montre des courbes typiques de réponse des cellules (Figure 2-25) à cette sollicitation (Kalaji et al., 2014).

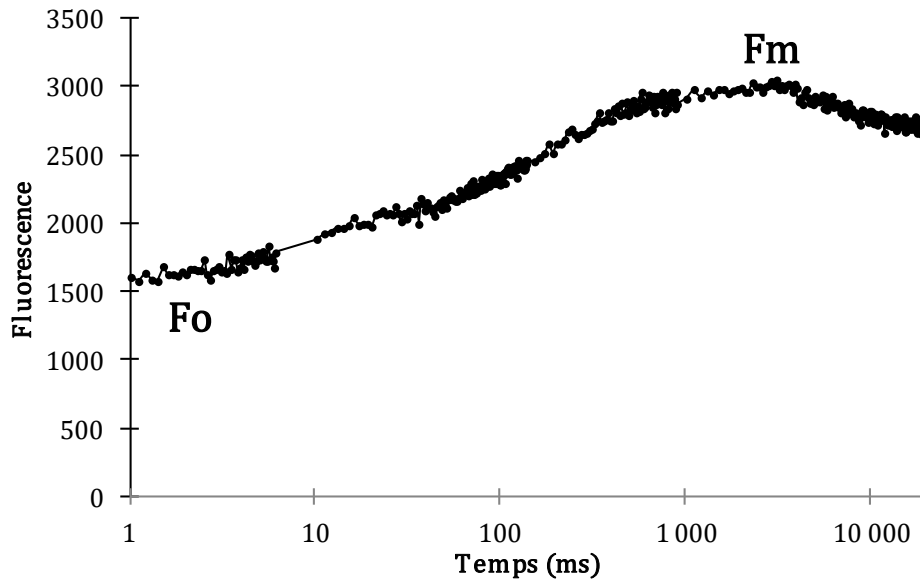


Figure 2-25 : Courbe OJIP de fluorescence dans le temps (échelle logarithmique) d'une éprouvette de mortier recouverte par un biofilm. Fo : valeur de fluorescence à 50  $\mu$ s, Fm : valeur maximale de fluorescence.

La quantité de biomasse Fo correspond à la biomasse chlorophyllienne présente sur l'échantillon au moment de la mesure (Herlory, 2005 ; Leroy et al., 2015). Il est également possible de déterminer le rendement quantique maximal de la photochimie selon l'Equation 2-5 :

$$\frac{Fv}{Fm} = \frac{Fm - Fo}{Fm} \quad \text{Equation 2-5}$$

Le rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème, noté Fv/Fm, traduit quant à lui l'efficacité du photosystème II à transformer l'énergie lumineuse en énergie chimique. Selon la valeur du ratio, l'état physiologique, ou l'acclimatation des cellules à leur milieu, n'est pas le même (Leroy et al., 2015):

- Un ratio compris entre 0,5 et 0,7 traduit un bon état physiologique des cellules ; elles sont bien acclimatées à leur milieu ;
- Un ratio compris entre 0,3 et 0,5 traduit un état physiologique moyen des cellules ;
- Un ratio inférieur à 0,3 indique un mauvais état physiologique des cellules.

### 4.3. Analyse d'images

L'analyse d'images est effectuée à partir de photographies d'éprouvettes. Le montage mis en place est présenté dans les Figure 2-26 et Figure 2-27. L'appareil photo utilisé est un Canon EOS 70D. Le montage est composé d'un caisson photographique, permettant d'isoler l'échantillon de l'extérieur. Un flash est également ajouté à l'intérieur afin d'obtenir une lumière homogène sur toute la surface de l'échantillon. L'appareil photo est monté sur pied et commandé par télécommande pour éviter tous mouvements de celui-ci lors du déclenchement des prises.

Comme dans les deux sous-parties précédentes, les éprouvettes sont nettoyées délicatement et laissées à égoutter durant une heure avant d'être prises en photo. L'eau a en effet tendance à rester enfermée dans le biofilm, apportant un reflet du flash sur la surface des éprouvettes lors des photographies.



Figure 2-26 : Montage photographique mis en place



Figure 2-27 : Montage à l'intérieur du caisson photographique

Les images obtenues sont analysées avec le logiciel ImageJ (Schneider et al., 2012). Afin de différencier le biofilm de la surface non colonisée du mortier, un seuillage couleur est utilisé dans l'espace couleur CIE Lab. Lorsque le seuillage a été déterminé, l'image est ensuite binarisée puis les pixels blancs (zone colonisée) et noirs (zone non colonisée) sont comptabilisés (Figure 2-28).

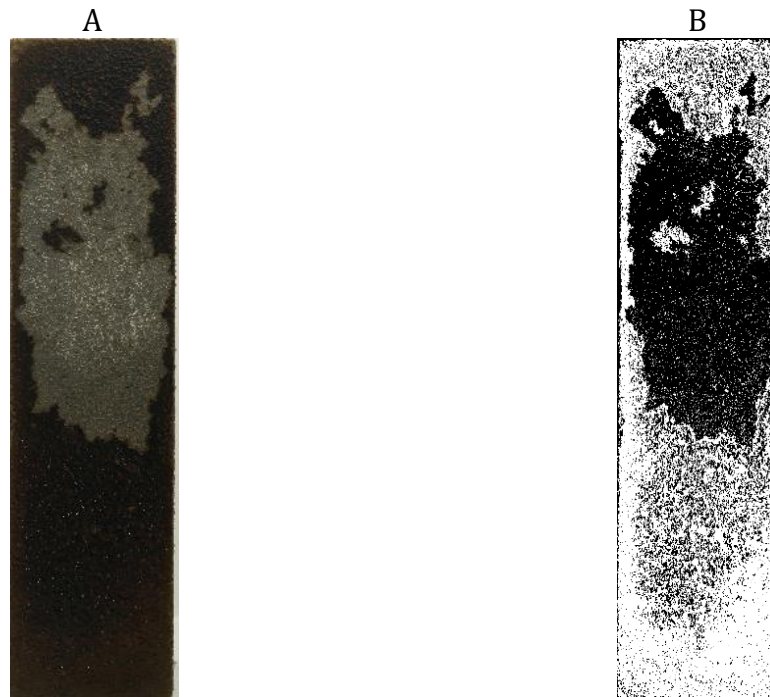


Figure 2-28 : Photographie d'une éprouvette de mortier recouverte d'un biofilm, avant traitement (A) et après traitement (B)

Le pourcentage de surface colonisée est défini de la façon suivante (Equation 2-6) :

$$\% \text{ Surface colonisée} = \frac{\text{pixels blancs}}{\sum \text{pixels blancs et noirs}} \times 100 \quad \text{Equation 2-6}$$

Le développement du biofilm est ainsi suivi dans le temps. Il est attendu qu'au fur et à mesure des expériences d'immersion, le nombre de pixels blanc augmente, ayant donc pour effet un accroissement du pourcentage de surface colonisée.

## 5. CARACTERISATION CHIMIQUE DE L'EAU DE MER

Comme cela a été mentionné dans le chapitre bibliographique, les algues, en se développant à la surface du matériau cimentaire, sécrètent différentes substances au caractère acide. Cette sécrétion entraîne une lixiviation de la matrice cimentaire dans le milieu environnant. Différents essais sont mis en place dans le but de caractériser et quantifier les espèces relarguées dans le milieu marin, en raison de la présence de micro-organismes.

### 5.1. pH

Le béton est sujet, lorsqu'il est immergé dans un milieu ayant un pH plus acide que celui-ci, au phénomène de lixiviation. La lixiviation entraîne la libération d'ions  $\text{HO}^-$  dans le milieu, qui a pour effet d'augmenter le pH de la solution. De plus, la présence de micro-organismes au contact de la surface du matériau cimentaire accentue ce phénomène.

Afin de mesurer le pH de la solution d'eau de mer, un échantillon de celle-ci est prélevé à intervalles réguliers. Le pH est immédiatement mesuré à l'aide d'un pH-mètre pH 510

(Eutech Instruments). La mesure rapide est une caractéristique importante de cet essai. En effet, lors de la prise d'échantillon d'eau de mer, des diatomées sont également prélevées. Elles continuent donc à effectuer la réaction de photosynthèse, indispensable à leur survie. Comme cela a été expliqué dans le chapitre bibliographie, le dioxyde de carbone est alors consommé, impactant directement la valeur du pH de la solution.

Deux phénomènes sont donc acteurs quant à la variation du pH de l'eau de mer durant les expériences :

- la lixiviation du béton, induite de façon chimique et biologique ;
- le mécanisme de photosynthèse des diatomées.

## **5.2. Chromatographie ionique**

En étant sujet à la lixiviation, le béton relargue en solution des ions qui peuvent être caractérisés chimiquement. De plus, la présence de micro-organismes, puisant dans la matrice cimentaire les nutriments dont ils ont besoin, entraîne un relargage de certains ions. L'utilisation de la chromatographie ionique permet de caractériser l'évolution de la composition chimique de l'eau de mer au cours des expériences.

L'eau de mer prélevée pour l'analyse de pH, expliquée dans la partie précédente, est utilisée pour effectuer cet essai. Les échantillons sont tout d'abord dilués au 1/100<sup>ème</sup> avec de l'eau ultra-pure dans le but de ne pas saturer le détecteur de la chromatographie ionique. Ils sont ensuite filtrés sur filtre seringue à 0,45 µm afin de retirer tout élément qui pourrait endommager la colonne. Enfin, à l'aide du passeur automatique, ils sont injectés dans l'injecteur de la chromatographie ionique pour être analysés. Les conditions des essais (composition des éluants, temps de l'analyse) sont celles détaillées dans le Tableau 2-4.

## CONCLUSION

Ce chapitre a permis de présenter dans une première partie les données relatives au matériau cimentaire. Les caractéristiques du ciment utilisé, ainsi que celles des sables et de l'eau de gâchage ont été détaillées. Les formulations des différents mortiers utilisés pour les expériences d'immersion ont également été explicitées, ainsi que leur mode de confection.

Dans le but de caractériser l'impact de la présence d'algues à la surface du matériau cimentaire sur celui-ci, plusieurs techniques d'analyse chimiques ont été choisies comme la mesure du pH ainsi que la composition chimique du matériau à différentes profondeurs (0 – 2 mm, 2- 4 mm et 4 – 6 mm), par l'intermédiaire d'analyses chromatographique et thermogravimétrique.

La micro-algue choisie pour effectuer les expériences en milieu artificiel est la diatomée *Cylindrotheca closterium*. Afin de la cultiver, le milieu de culture de Conway a été présenté. Ce milieu est utilisé en raison de sa facilité de préparation, mais également en raison des volumes importants de diatomées nécessaires pour le déroulé des expériences d'immersion. Pour bien maîtriser la culture de *C. closterium*, la croissance de cette dernière a été suivie au moyen de différentes techniques (densité optique, pH, chromatographie ionique), permettant de mieux appréhender le cycle de développement de cette micro-algue.

Les outils utilisés pour la caractérisation de la croissance du biofilm sur les éprouvettes de mortier ont ensuite été présentés. Ces outils sont déjà utilisés dans plusieurs autres études portant sur la colonisation des algues sur les façades de béton (De Muynck et al., 2009 ; Manso et al., 2014 ; Tran et al., 2012). Chacune des techniques d'évaluation a été individuellement étudiée, dans le but de comprendre le fonctionnement de celles-ci afin de les mettre correctement en œuvre par la suite.

Pour terminer, la composition de l'eau de mer est également un facteur important à suivre. En effet, le matériau cimentaire immergé est sujet à la lixiviation ; ce phénomène étant accentué de part la présence de micro-organismes à sa surface. La mesure du pH de l'eau de mer ainsi que la caractérisation de la composition chimique du milieu sont donc des outils intéressants pour suivre l'évolution des concentrations en solution.

Dans le chapitre suivant, le dispositif expérimental utilisé pour l'étude va être présenté. Les outils de caractérisation mentionnés dans ce chapitre vont ensuite être utilisés dans le but de valider l'utilisation du dispositif expérimental.

---

**Chapitre 3 :**  
**DISPOSITIF**  
**EXPERIMENTAL DE**  
**COLONISATION ET**  
**RESULTATS**

---

## INTRODUCTION

Actuellement, aucun dispositif expérimental n'a été mis en place pour caractériser en laboratoire la colonisation d'un matériau cimentaire en milieu marin, du fait de la complexité de ce dernier. Les dispositifs expérimentaux existants pour caractériser ce genre de colonisation sont largement répandus dans le domaine de l'étude de la colonisation des façades ou des réseaux d'assainissement (De Muynck et al., 2009 ; Dubosc, 2000 ; Herisson, 2013).

Dans ce chapitre, la mise en place du dispositif expérimental ainsi que l'évaluation de la pertinence des outils de caractérisation de la colonisation et de la biodétérioration vont être présentés et analysés. Une seule souche de micro-organismes va être étudiée (*Cylindrotheca closterium*) dans le but de faciliter la conception de ce dispositif et de ne pas ajouter des paramètres biologiques supplémentaires.

### 1. DISPOSITIF EXPERIMENTAL EN LABORATOIRE

Pour reproduire en laboratoire le milieu marin, il est nécessaire d'effectuer un inventaire des principaux facteurs intervenant dans un environnement marin naturel. Ces principaux facteurs, détaillés dans le chapitre bibliographique, sont les suivants :

- Lumière, apportée par le Soleil ;
- Composition de l'eau de mer (nutriments, salinité) ;
- Température ;
- Mouvement physiques de l'eau.

Ces paramètres vont donc être reproduits de façon artificielle, pour permettre de créer un dispositif expérimental qui sera utilisé pour toute la durée de l'étude.

#### 1.1. Lumière

Comme cela a été mentionné plusieurs fois dans les chapitres précédents, la diatomée *Cylindrotheca closterium* est un organisme autotrophe qui utilise la lumière du Soleil pour se développer, par l'intermédiaire de la réaction de photosynthèse. Le Soleil émet un rayonnement dont les longueurs d'ondes sont comprises entre 220 nm et 10 000 nm (Kanmogne et al., 2012) mais dont la majorité de l'énergie émise est comprise entre 400 et 800 nm, soit dans la gamme de la lumière du visible (Figure 3-1). Les organismes marins sont également soumis au cycle jour/nuit imposé par la rotation de la Terre autour du Soleil. De façon générale, le temps d'éclairage sur une journée complète varie de 8 heures à 14 heures (Goldstein, 2007 ; Moe, 2009).



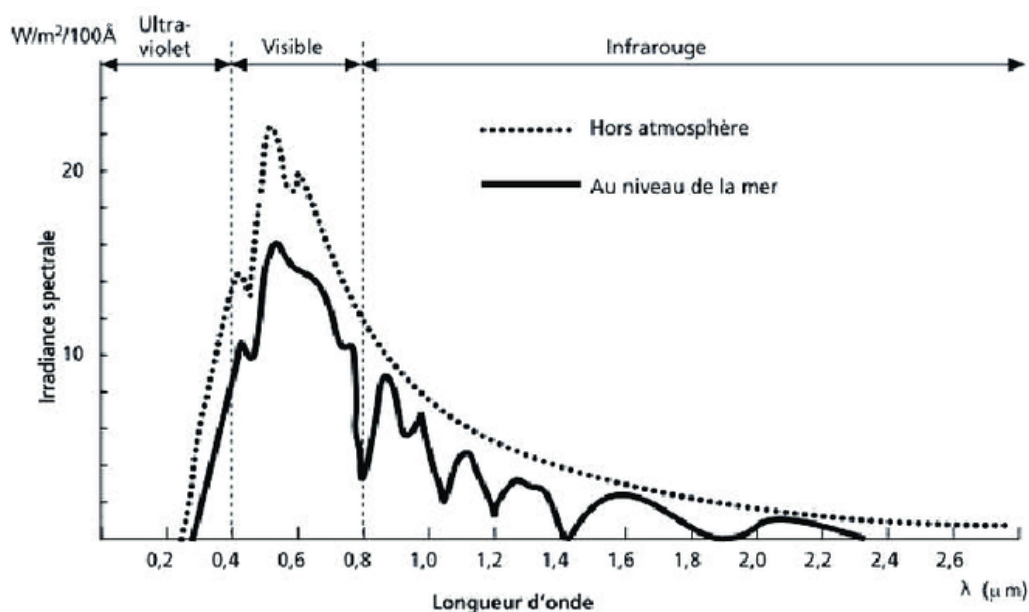


Figure 3-1 : Spectre du rayonnement solaire (Kanmogne et al., 2012)

En milieu artificiel, des lampes sont utilisées pour simuler la lumière naturelle. Elles ont été choisies sur la base d'un certain nombre de critères :

- Spectre de couleur proche de celui du Soleil ;
- Résistance aux cycles répétés d'allumage/extinction ;
- Dégagement de chaleur minimal pour limiter l'évaporation de l'eau ;
- Durée de vie importante.

Deux types d'éclairage artificiel peuvent être utilisés : les néons fluorescents ou l'éclairage par diode électroluminescente (DEL ou LED) (Moe, 2009).

- Les néons fluorescents sont largement répandus dans le commerce. Ils ont une durée de vie d'environ 10 000 heures et ne dégagent pas de chaleur. Cependant, ce type d'éclairage est très sensible aux cycles d'allumage-extinction répétés et nécessite un recyclage particulier lors de son élimination ;
- Les ampoules LED, quant à elles, ont une durée de vie bien plus importante que celle des néons fluorescents (pouvant atteindre 100 000 heures). Elles ont également la capacité de résister aux cycles répétés d'allumage-extinction, sont très peu consommatrices en électricité et ne dégagent pas de chaleur.

D'après ce rapide comparatif, les ampoules LED paraissent être la source de lumière la plus adaptée pour cette étude. Les lampes utilisées pour cette étude sont des LED X-Change Tube Daylight Sunrise (SERA). Leur spectre lumineux est enrichi aux longueurs d'ondes de 450 nm (bleu) et de 625 nm (rouge) auxquelles les végétaux marins absorbent la lumière comme le montre la Figure 3-2.

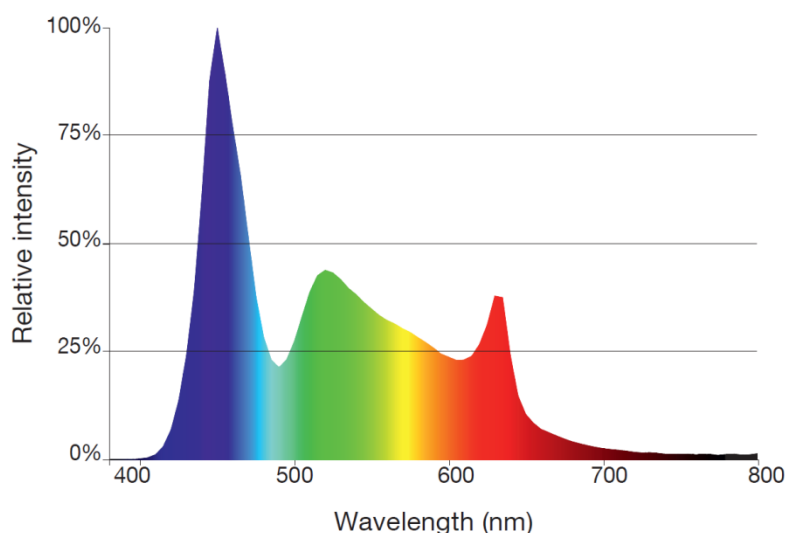


Figure 3-2 : Spectre lumineux du tube LED X-Change Tube Daylight Sunrise (SERA)

Il a été choisi de travailler avec une durée du jour de 12 heures ; ce cycle de 12h :12h a été utilisé dans d'autres études (Dalod, 2015 ; Tran, 2012) et permet de fixer de façon arbitraire la durée de la photopériode. D'après (Moe, 2009), 2 à 4 watts de puissance électrique par gallon d'eau sont nécessaires (1 gallon = 3,78 L). Dans cette étude, les bacs étant remplis de 50 L d'eau de mer artificielle, il sera alors nécessaire d'avoir une puissance allant de 26 watts à 52,8 watts. Cet intervalle de puissance est atteint en utilisant deux lampes LED par bac (2 fois 16 watts).

## 1.2. Composition du milieu marin et température

Comme cela a été expliqué dans le chapitre bibliographique, le développement de la diatomée *Cylindrotheca closterium* dépend également de la composition chimique du milieu marin, dans lequel elle trouvera les nutriments nécessaires à sa croissance. Les conditions de croissance optimales sont une salinité comprise entre 20 et 40 ; le dosage utilisé en sels marins artificiels est de 33 durant toute la durée des expériences. Le milieu nutritif de Conway permet d'apporter en quantités suffisantes les molécules chimiques nécessaires à son développement.

Enfin, la température doit être comprise entre 10 et 25°C (chapitre bibliographique). La température de la pièce dans laquelle se déroulent les expériences est de  $19 \pm 2^\circ\text{C}$ .

## 1.3. Aération et mouvement physique de l'eau de mer

En milieu marin naturel, les courants et marées permettent d'agiter en continu l'eau de mer afin d'éviter la sédimentation des diatomées, la photoinhibition et de permettre une proximité entre les cellules et les nutriments dont elles ont besoin (chapitre bibliographique).

La présence d'une pompe à air dans le milieu marin artificiel permet de créer un mouvement d'« upwelling » (remontée des eaux plus profondes et riches en nutriments) permettant dans le même temps aux algues d'obtenir une quantité de lumière plus

importante. Chaque bac est équipé d'une pompe à air d'aquarium vendue dans le commerce (APS 50, Tetra) et ayant un débit d'air de 50L/h .

## **1.4. Mise en place du dispositif expérimental**

### **1.4.1. Matériel**

Le dispositif expérimental mis en place utilise du matériel usuel. Il est tout d'abord composé d'un bac ayant une longueur de 56 cm, une largeur de 36 cm et une hauteur de 40 cm. Les parois de ce bac sont opaques dans le but de n'avoir qu'une seule arrivée possible de lumière sur le haut du bac.

Dix éprouvettes, âgées de 28 jours, sont placées en quinconce sur deux rangées dans chaque bac. Elles sont surélevées à 13 cm du fond du bac dans le but de permettre un mouvement permanent de l'eau et des diatomées autour. Pour les surélever, des tiges en plastiques sont placées sur des pots lestés et fermés hermétiquement. Les contacts entre les éprouvettes et les tiges sont minimales et se font à seulement deux endroits de l'éprouvette. Les éprouvettes sont toutes placées dans le même sens : la face lissée lors de la fabrication face au fond du bac. En effet, le lissage étant différent pour chaque éprouvette, l'état de surface est donc différent et peut par la suite apporter un facteur de colonisation supplémentaire. La face orientée vers le haut du bac est donc la face ayant été en contact avec le moule lors de la fabrication ; la rugosité est comparable entre les éprouvettes. La hauteur d'eau est de 25 cm (soit un volume de liquide de 50 L), permettant aux éprouvettes de se situer à mi-hauteur entre le fond du bac et la surface de l'eau. La composition de l'eau dans chacun des bacs est détaillée dans la partie suivante. Le milieu n'est pas renouvelé durant la manipulation. L'arrivée des pompes à air est placée en fond de bac et lestée. Les lampes LED sont placées sur le sommet du bac ; elles se trouvent à 15 cm de la surface de l'eau.

Le rapport  $L/A$ , avec  $L$  le volume de liquide en mL et  $A$  la valeur de la surface du matériau en  $\text{cm}^2$ , est calculé selon la norme NF EN 15863. Dans le cas d'un bac rempli de 50 L de liquide, dans lequel sont immergées 10 éprouvettes  $4 \times 4 \times 16 \text{ cm}^3$ , ce rapport est de  $17,4 \text{ mL/cm}^2$ .

La Figure 3-3 récapitule les données géométriques de chaque bac, la Figure 3-4 illustre le fonctionnement du procédé en conditions réelles.

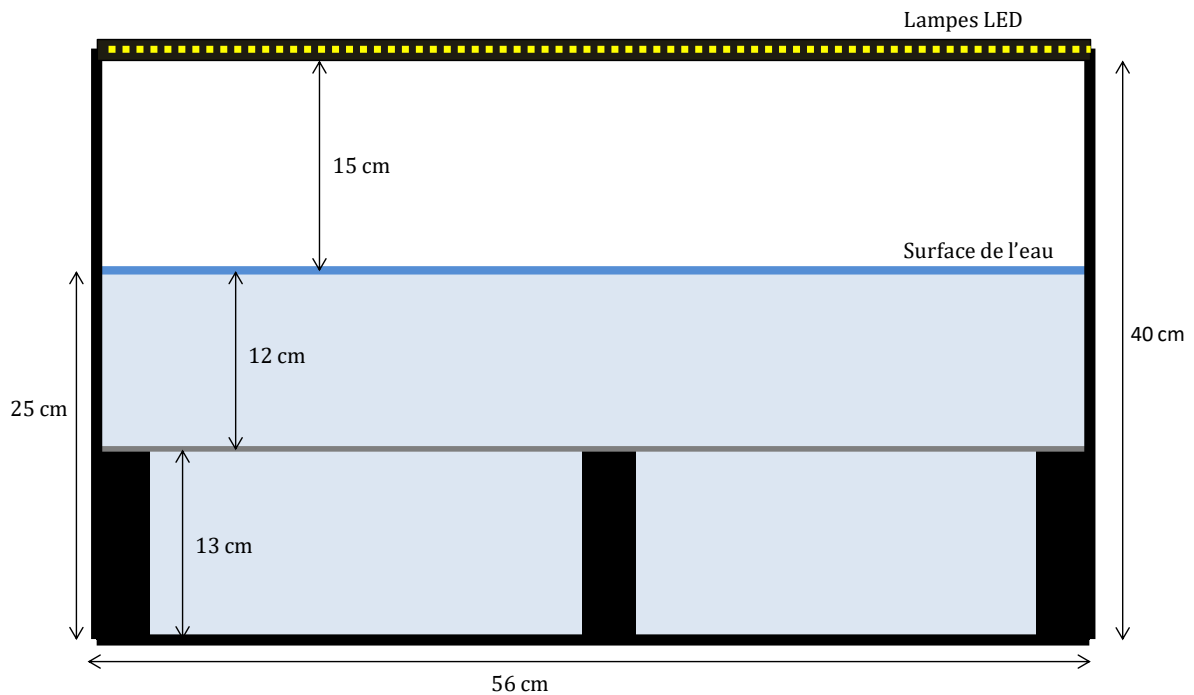


Figure 3-3 : Données géométriques du dispositif expérimental

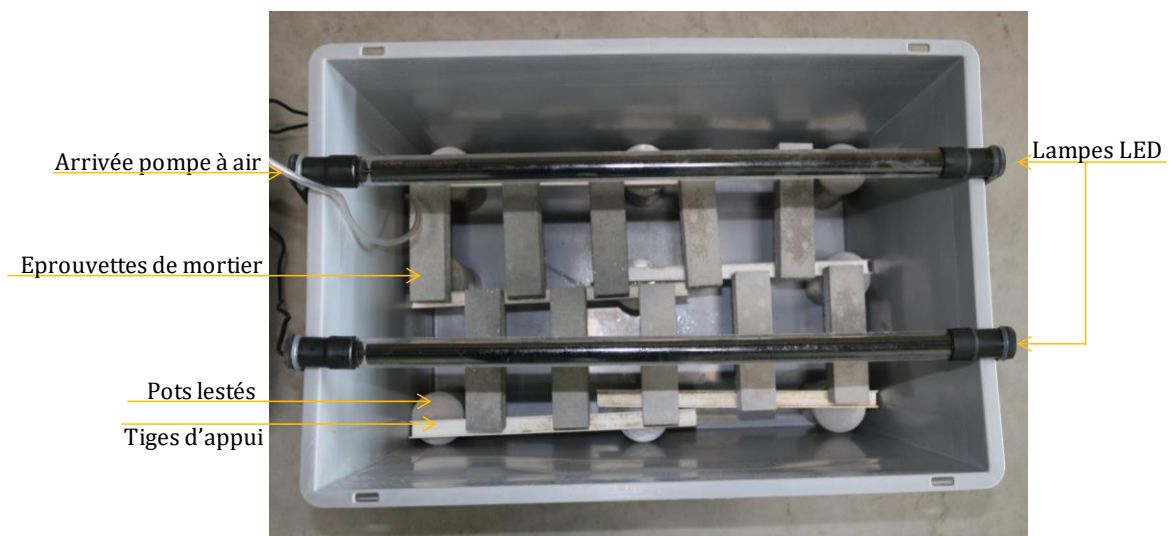


Figure 3-4 : Dispositif expérimental, sans eau de mer

Les expériences sont effectuées dans une salle isolée, placée dans l'obscurité durant toute la durée de l'étude. Le suivi de la colonisation est effectué durant six semaines à l'aide des outils présentés dans le chapitre précédent.

#### 1.4.2. Environnements d'étude

Deux environnements d'étude sont créés pour les expériences. Le premier correspond au milieu marin artificiel. Il est composé d'eau, de sels marins, de nutriments et de diatomées *Cylindrotheca closterium*. Le deuxième milieu étudié est uniquement composé d'eau et de

sels marins. La composition des deux environnements d'étude est détaillée dans le Tableau 3-1.

Volume	Milieu marin artificiel	Eau salée
Eau distillée + sels marins (33,3 g/L)	45 L	50 L
Algues + milieu Conway (selon dosage explicité dans le chapitre 2)	5 L (10% du volume total)	0 L
<b>Total</b>	50 L	50 L

Tableau 3-1 : Composition des deux environnements d'étude

L'utilisation de ces différents environnements permet donc de comparer les effets du biofilm de diatomées par rapport à un milieu salé.

## 2. SUIVI DE LA COLONISATION DES MORTIERS EN LABORATOIRE

Cet essai a pour principal objectif de valider le dispositif expérimental présenté dans la partie 1 et de conclure quant à l'utilisation des outils choisis pour effectuer les différents suivis (outils présentés dans le chapitre matériels et méthodes). Des éprouvettes de mortier normalisé ont été immergées pendant six semaines dans le milieu artificiel détaillé dans le chapitre précédent, selon le dispositif expérimental décrit dans la partie 1. La composition des éprouvettes de mortier est détaillée dans le Tableau 3-2.

Constituant	Masse (g)
Ciment	450
Sable siliceux	1350
Eau	225

Tableau 3-2 : Composition du mortier normalisé utilisé pour l'essai de validation du dispositif expérimental

Afin d'évaluer le dispositif expérimental mis au point pour cette étude, l'expérience a été lancée trois fois en parallèle. Trois bacs d'étude ont donc été utilisés (MN\_Exp1, MN\_Exp2, MN\_Exp3) ainsi que trois bacs référence (MN\_Ref1, MN\_Ref2, MN\_Ref3). Chaque bac est composé de 10 éprouvettes de mortier normalisé, immergées dans 50 L de solution (eau de mer artificielle dans le cas des bacs d'étude et eau salée pour les bacs référence). Chaque bac est indépendant des cinq autres de sorte qu'aucun échange de matière n'est possible entre eux. Trois outils ont été sélectionnés afin de caractériser la colonisation des surfaces des éprouvettes de mortier par la diatomée *Cylindrotheca closterium*. Ces trois outils sont les suivants :

- Analyse d'image ;
- Spectrocolorimétrie ;
- Fluorimétrie.

Leurs principes de fonctionnement ainsi que la façon dont ils ont été utilisés dans cette thèse ont été détaillés dans le chapitre matériel et méthodes.

## 2.1. Suivi de la colonisation

### 2.1.1. Face supérieure

La face supérieure est définie comme étant celle directement orientée face à la lumière artificielle. La rugosité de toutes les faces supérieures des éprouvettes sont comparables car ce sont elles qui étaient en contact direct avec le moule en polystyrène lors de la fabrication des échantillons. La face supérieure devrait théoriquement être la plus colonisée du fait de la présence de lumière directe. Cette face a donc été caractérisée de façon plus précise avec un nombre de points de mesure augmenté et également un suivi par analyse d'image. Pour cette première expérience, il a été choisi de prendre en photo une fois par semaine la face supérieure des éprouvettes de mortier et d'effectuer deux fois par semaine les mesures de spectrorimétrie et de fluorimétrie.

#### 2.1.1.1. Analyse d'image

Une fois immergées, les éprouvettes de mortier normalisé ont été sujettes à un recouvrement progressif d'un biofilm de *Cylindrotheca closterium* (Figure 3-5).

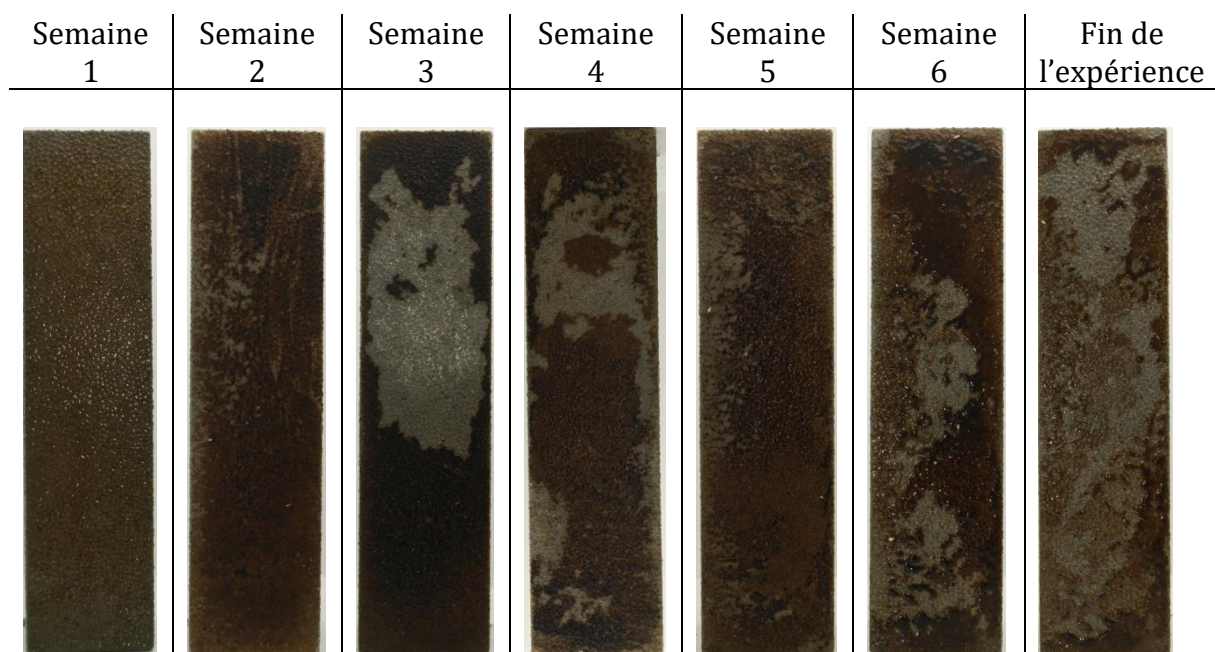


Figure 3-5 : Evolution de la surface colonisée par la diatomée *Cylindrotheca closterium* sur une éprouvette de mortier normalisé (face orientée à la lumière)

Les images obtenues ont permis de calculer la surface recouverte par le biofilm selon la méthode présentée dans le chapitre 2. Le graphique présenté dans la Figure 3-6 illustre l'évolution du pourcentage de surface de mortier recouverte par le biofilm de *C. closterium* dans le temps.

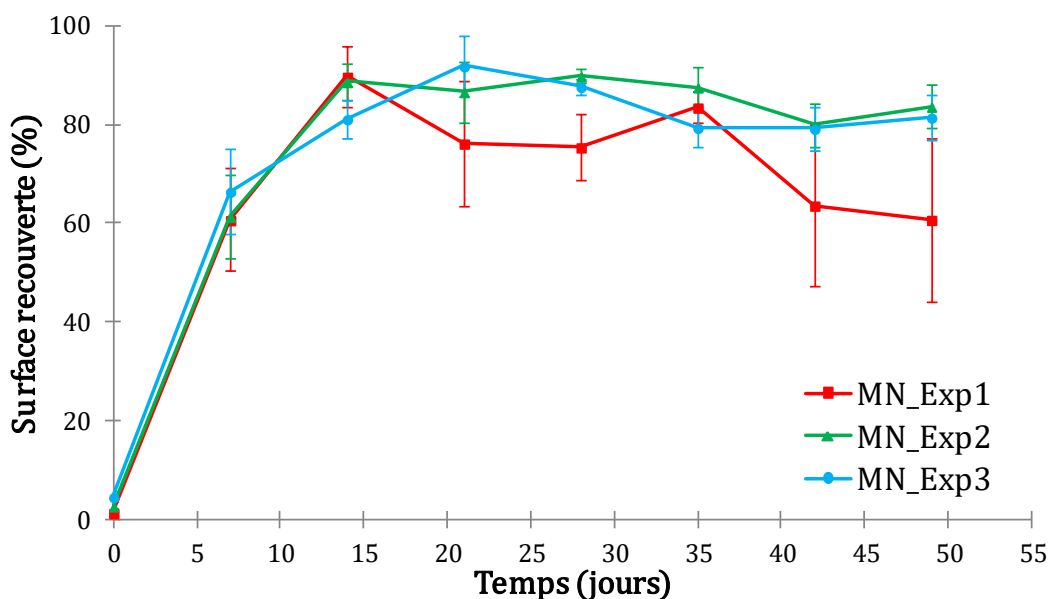


Figure 3-6 : Evolution de la surface colonisée au cours de l'expérience, obtenue par analyse d'images

Le pourcentage de recouvrement augmente de façon très rapide durant les quatorze premiers jours pour les éprouvettes immergées dans les bacs MN\_Exp1 et MN\_Exp2 et dans les 21 premiers jours pour celles immergées dans le bac MN\_Exp3. Près de 90% de la surface des éprouvettes est recouverte par un biofilm de diatomées. Cette colonisation est bien visible à l'œil nu, comme cela est illustré dans la Figure 3-5. La surface des échantillons du bac MN\_Exp1 est ensuite, et jusqu'à la fin de l'expérience d'immersion, de moins en moins recouverte par le film ; au contraire des éprouvettes présentes dans les bacs MN\_Exp2 et MN\_Exp3, dont le pourcentage de surface recouverte reste assez stable, malgré une faible diminution une fois le maximum de colonisation atteint. Il est également intéressant de noter qu'une fois le maximum de colonisation dépassé les valeurs sont beaucoup plus dispersées (écart-type important).

#### 2.1.1.2. Spectrocolorimétrie

La colonisation a été suivie par spectrocolorimétrie afin d'obtenir des valeurs d'intensité d'encrassement dans le temps. Ces valeurs sont regroupées dans la Figure 3-7.

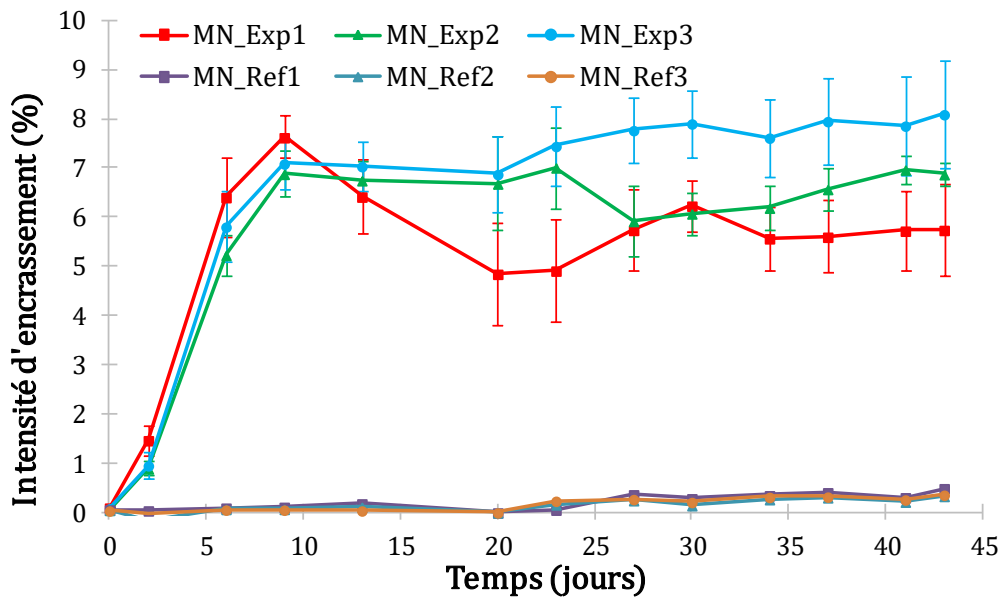


Figure 3-7 : Evolution de l'intensité d'encrassement sur la face supérieure des éprouvettes de mortier

Après une première phase de recouvrement relativement proche entre chaque bac, la colonisation dans les trois bacs s'effectue de manière différente. Durant les neuf premiers jours d'immersion des échantillons, l'intensité d'encrassement croît de façon importante quelque soit le bac d'étude. Au 9<sup>ème</sup> jour, deux tendances se dégagent. La première concerne le bac MN\_Exp1 qui a alors atteint sa valeur maximale d'intensité d'encrassement (7,6%). A partir de ce jour, l'intensité ne sera qu'inférieure à cette valeur. Une chute des valeurs est observée du 9<sup>ème</sup> au 20<sup>ème</sup> jour pour tomber à 4,8% d'intensité d'encrassement, puis à partir du 23<sup>ème</sup> jour, les valeurs de l'intensité d'encrassement se mettent à croître de nouveau pour se stabiliser au 34<sup>ème</sup> jour autour d'une valeur de 5,5%. Les deux autres bacs (MN\_Exp2 et MN\_Exp3) ont une variation de leurs valeurs d'intensité d'encrassement complètement différente. Au 9<sup>ème</sup> jour d'immersion, l'intensité d'encrassement, au lieu de chuter, se stabilise autour d'une valeur de 7%. Par la suite, l'intensité d'encrassement va se stabiliser jusqu'à la fin de l'expérience autour d'une valeur légèrement plus faible pour le bac MN\_Exp2 (environ 6,5%) et légèrement plus supérieure pour le bac MN\_Exp3 (environ 8%).

Il est également intéressant de s'attarder sur les valeurs des écart-types durant le suivi. Durant la première phase de colonisation, ces derniers sont faibles en raison du recouvrement uniforme du biofilm sur les échantillons (Figure 3-5). Pour les éprouvettes du bac MN\_Exp1, les valeurs sont très dispersées une fois que le maximum d'intensité d'encrassement est atteint. Pour les éprouvettes des bacs MN\_Exp2 et MN\_Exp3, les valeurs deviennent dispersées lorsque les intensités d'encrassement évoluent distinctement.

#### 2.1.1.3. Fluorimétrie

La Figure 3-8 présente l'évolution de la quantité de biomasse  $F_0$ , mesurée par fluorimétrie, durant le temps de l'expérience d'immersion.



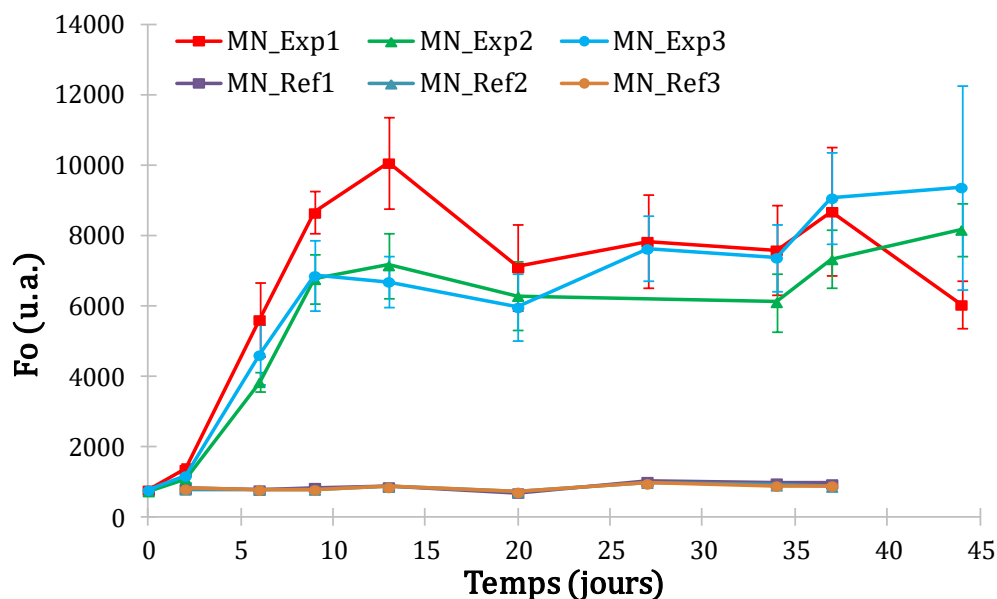


Figure 3-8 : Evolution de la quantité de biomasse Fo durant l'expérience sur les faces supérieures

De la même façon que pour le suivi par spectrophotométrie, la colonisation des échantillons s'effectue de manière différente entre les bacs. Dans la première phase dite de recouvrement des éprouvettes, la quantité de biomasse augmente dans chacun des bacs pour atteindre une valeur maximale. Ce maximum est atteint en treize jours pour le bac MN\_Exp 1 et en neuf jours pour les bacs MN\_Exp2 et MN\_Exp3. L'évolution de la quantité de biomasse diffère ensuite, entre le bac MN\_Exp1 et les bacs MN\_Exp2 et MN\_Exp3, de la même manière que le suivi par spectrophotométrie. Pour le bac MN\_Exp1, une fois le maximum de quantité de biomasse atteint au 13<sup>ème</sup> jour, une chute de cette quantité est observée jusqu'au 20<sup>ème</sup> jour puis une stabilisation de la valeur jusqu'à la fin de l'expérience. En revanche, une fois avoir atteint leur Fo maximum au 9<sup>ème</sup> jour d'immersion, les éprouvettes immergées dans les bacs MN\_Exp2 sont recouvertes d'une quantité de biomasse qui reste relativement stable dans le temps avec une augmentation en fin d'expérience. Dans le bac MN\_Exp3, après une légère diminution de la quantité de biomasse entre les jours 9 et 20, cette dernière est ensuite en augmentation franche jusqu'au 44<sup>ème</sup> jour. Les valeurs des écart-types sont également intéressantes à observer : les valeurs deviennent de plus en plus dispersées à mesure que l'expérience avance dans le temps. Cette observation est donc à relier avec celle effectuée dans le cas des écart-types des valeurs d'intensité d'encrassement.

#### 2.1.1.4. Comparaison des trois outils

La face supérieure des éprouvettes de mortier a donc été caractérisée de trois façons différentes. La Figure 3-9 résume les tendances observées ; chaque graphique présente les résultats obtenus pour chacun des bacs en mettant en perspective les trois méthodes de caractérisation.

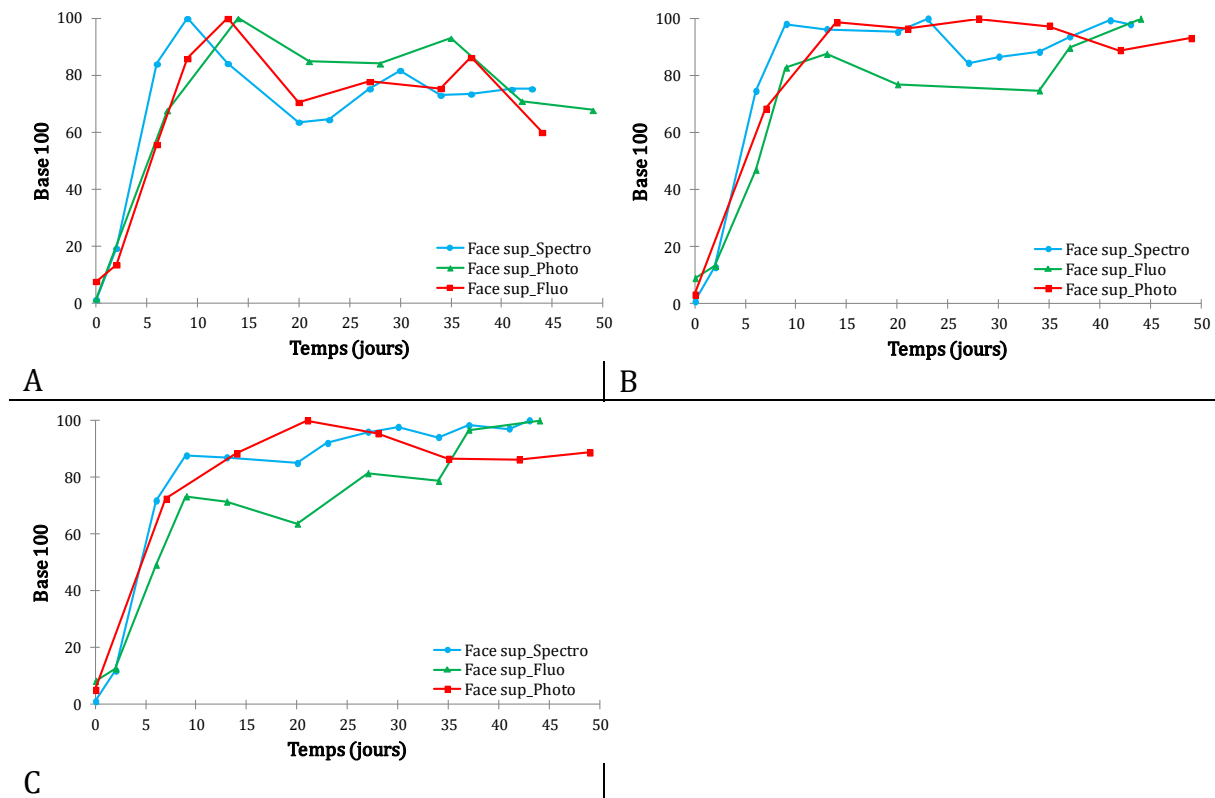


Figure 3-9 : Comparaison de la tendance des résultats avec les trois outils de caractérisation (Spectro : spectrorimétrie, Photo : analyse d'image, Fluo : fluorimétrie). A : MN\_Exp1, B : MN\_Exp2, C : MN\_Exp3

Pour chaque bac, les méthodes de caractérisation donnent des résultats cohérents. En effet, pour trois méthodes différentes, les mêmes tendances sont observées en terme de colonisation de la surface.

Bien entendu, un suivi à des échéances plus rapprochées, notamment pour la prise de photographies, pourrait permettre d'avoir des résultats encore plus concordants. La même chute de colonisation est ensuite observée après avoir atteint ce pic maximum. Enfin, la phase de stabilisation jusqu'à la fin de la manipulation est ensuite présente, malgré quelques divergences. Les graphes relatifs aux bacs MN\_Exp2 et MN\_Exp3 sont analysés de la même façon.

Pour toutes les méthodes utilisées, la dispersion des résultats suit la même variation. En début de colonisation, les écart-types sont faibles, puis une fois que le pic maximum de colonisation est dépassé, ces derniers deviennent plus conséquents. Cette observation met en évidence le phénomène de remplacement du biofilm à la surface des éprouvettes, bien visible dans la Figure 3-5. Ce phénomène est bien connu des biologistes, bien que les données concernant cette étape du cycle de vie des biofilms soient encore trop peu importantes (Squinazi, 2013). Le détachement du biofilm peut avoir lieu pour plusieurs raisons : la colonisation de nouvelles surfaces, le manque de nutriments ou encore l'action de mouvements physiques tels que les flux d'eau ou d'air dans le cas de ce travail (Donlan, 2002). Le biofilm se détachant à des endroits aléatoires, il peut se détacher à l'endroit où la mesure de la colonisation s'effectue. L'appareil utilisé (spectrorimètre ou fluorimètre) ne va alors pas détecter la présence de matière végétale, ce qui contribuera

aux valeurs élevées d'écart-types. L'analyse d'images permet quant à elle d'avoir une vision plus globale de la surface. Il est donc important de connaître la notion de détachement du biofilm, afin de prendre du recul sur les résultats obtenus.

D'après les résultats présentés ci-dessus, il semble que la colonisation s'effectue de manière correcte sur les éprouvettes de mortier. Il est cependant important d'avoir une indication concernant l'état d'acclimatation des cellules à leur nouveau milieu sur lequel elles se développent. En effet, une mauvaise acclimatation de la diatomée ne permettra pas de tirer des conclusions intéressantes quant au fonctionnement du dispositif expérimental. La Figure 3-10 résume donc les valeurs mesurées par fluorimétrie. Un dégradé de couleur a également été rajouté, afin de bien différencier les différents états d'acclimatation et leurs valeurs seuils, qui ont été définies dans le chapitre précédent.

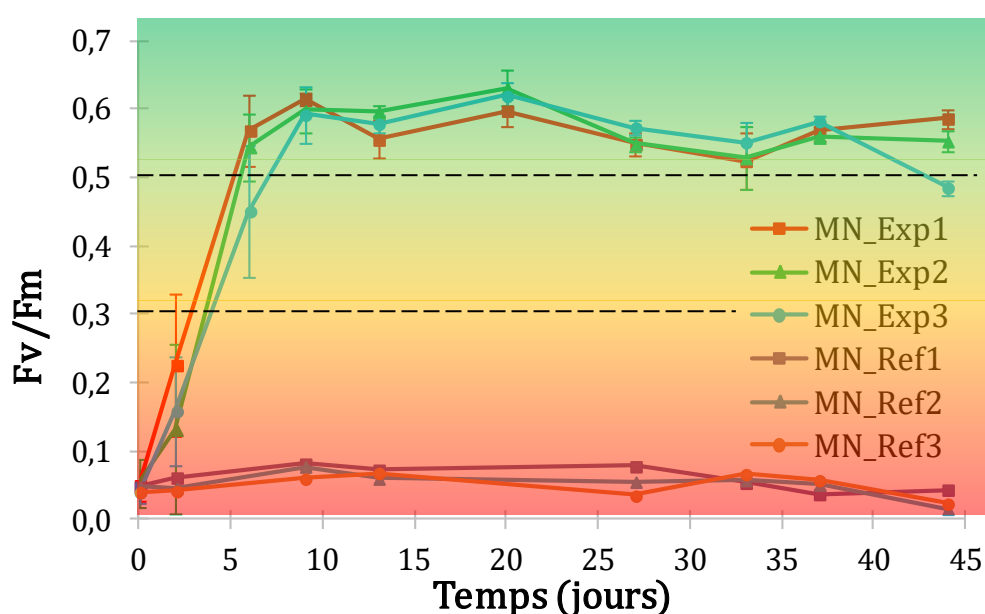


Figure 3-10 : Evolution du rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème ( $F_v/F_m$ ) de la diatomée *C. closterium* à sur la face supérieure des éprouvettes de mortier

Dès le 6<sup>ème</sup> jour de colonisation, les cellules, quelque soit le bac dans lequel sont immergées les éprouvettes, sont bien acclimatées à leur milieu ( $F_v/F_m$  supérieure à 0,5). Elles le resteront pendant toute la durée de l'expérience. Une légère diminution des valeurs est observable à partir du 20<sup>ème</sup> jour d'immersion, qui pourrait traduire le commencement d'un manque en nutriments de la part des cellules. Elles semblent cependant bien s'accoutumer à ce manque, puisque la valeur de  $F_v/F_m$  se stabilise en fin de manipulation. Le pic maximum de colonisation  $F_0$  observé dans la Figure 3-8 coïncide avec les valeurs maximales du ratio  $F_v/F_m$ . Au maximum de colonisation, les cellules sont donc dans leur état le plus acclimaté possible aux éprouvettes de mortier.

La dispersion des résultats s'effectue dans le sens inverse de celle qui concerne la colonisation des surfaces. En début de colonisation, les écart-types sont très importants. Les cellules s'accrochent plus ou moins rapidement à la surface et s'acclimatent donc à des rythmes différents à cette dernière. La dispersion des valeurs est ensuite beaucoup

plus faible une fois le pic maximum de colonisation dépassé (9<sup>ème</sup> jour d'immersion). Globalement, toutes les cellules sont alors fixées de façon durable sur les surfaces des éprouvettes.

### 2.1.2. Faces latérales

Les faces latérales ont été caractérisées par spectrorimétrie et fluorimétrie. Bien que les faces latérales ne soient pas directement orientées à la lumière, l'intensité lumineuse reçue n'est pas négligeable, du fait de la réfraction des faisceaux lumineux par l'eau. La rugosité des faces latérales est elle aussi similaire entre chaque éprouvette pour la même raison que la face supérieure. Cette rugosité offre donc des points d'accroche aux diatomées présentes dans l'eau de mer artificielle (Figure 3-11).

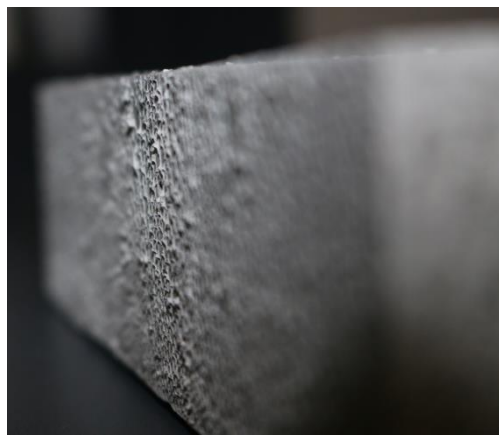


Figure 3-11 : Mise en évidence des reliefs existant sur les faces latérales des éprouvettes de mortier

#### 2.1.2.1. Spectrorimétrie

L'intensité d'encrassement des faces latérales est présentée dans la Figure 3-12.

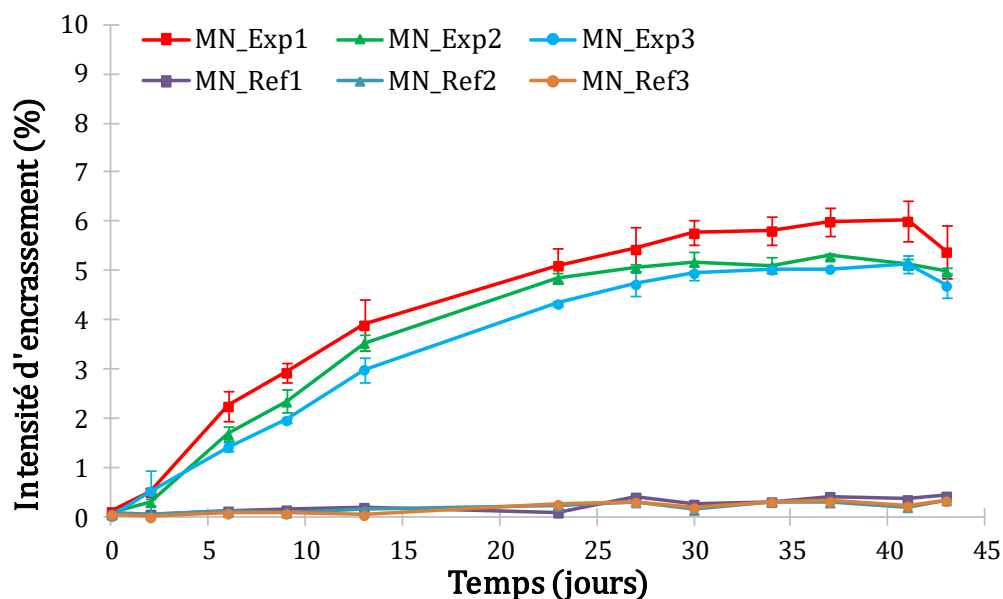


Figure 3-12 : Intensité d'encrassement (%) pour les faces latérales

La colonisation des surfaces des éprouvettes de mortier se fait de façon comparable dans les trois différents bacs. La période de recouvrement est relativement longue puisque le pic correspondant au maximum de l'intensité d'encrassement est atteint après 41 jours d'immersion (intensité d'encrassement de 6% pour le bac MN\_Exp1, 5,3% pour le bac MN\_Exp2 et 5,1% pour le bac MN\_Exp3). Une fois ce pic atteint, les valeurs décroissent immédiatement dans les trois bacs. Du fait de la phase de colonisation relativement lente dans le temps, la dispersion des valeurs est faible ; le biofilm se développe donc de manière uniforme sur toutes les surfaces.

#### 2.1.2.2. Fluorimétrie

La quantité de biomasse qui se développe peu à peu sur les faces latérales a aussi été quantifiée par fluorimétrie (Figure 3-13).

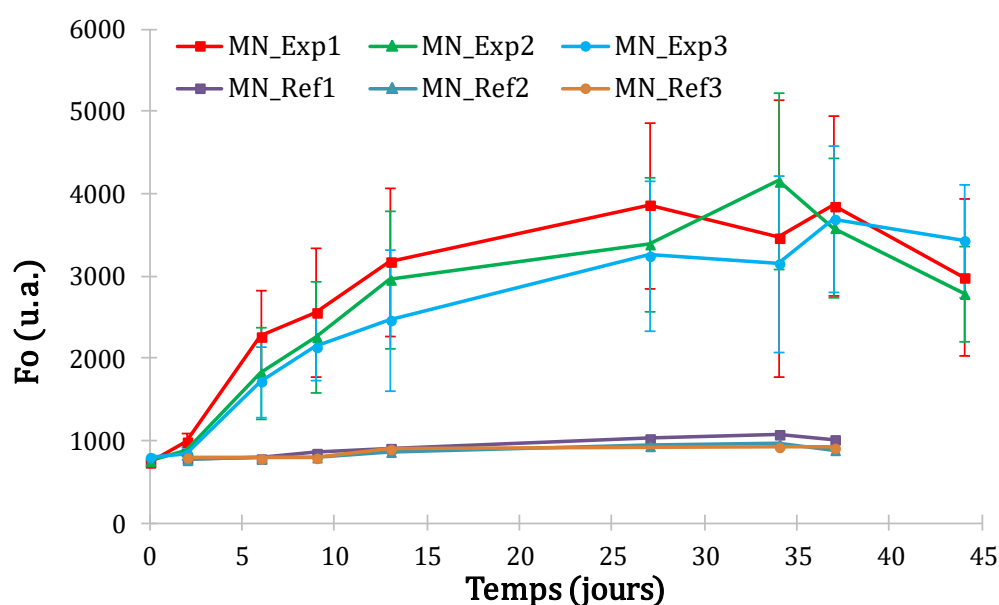


Figure 3-13 : Quantité de biomasse Fo durant l'expérience sur les faces latérales

Cette dernière augmente lentement pendant toute une partie de l'expérience. Le maximum de colonisation est atteint après 37 jours pour le bac MN\_Exp1, 34 jours pour le bac MN\_Exp2 et 37 jours pour le bac MN\_Exp3 avant de chuter également. Les écarts-types sont cependant extrêmement importants. Cela pourrait être dû au fait que la mesure de fluorimétrie n'est effectuée qu'en un point de la surface latérale, diminuant la pertinence des résultats.

#### 2.1.2.3. Comparaison des deux outils

Tout comme l'analyse de la caractérisation de la face supérieure, les résultats correspondant à chaque méthode de mesure par bac ont été regroupés dans la Figure 3-14.

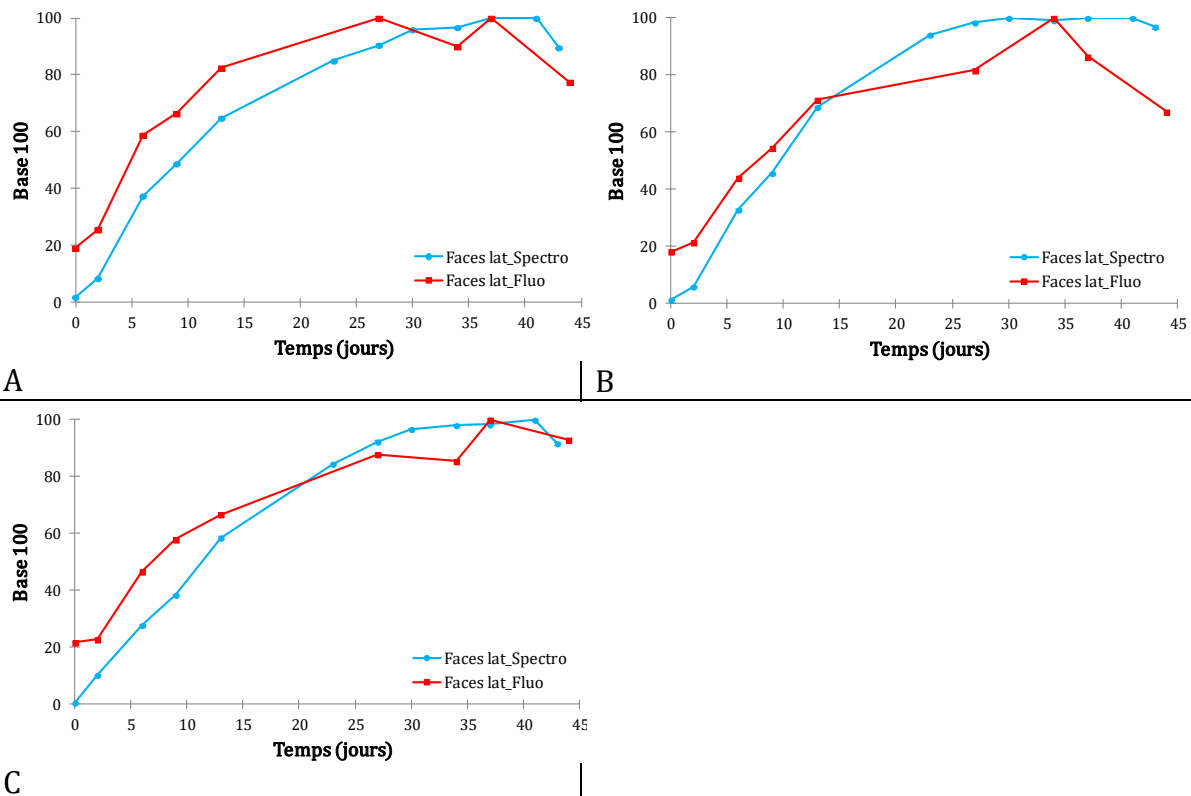


Figure 3-14 : Comparaison de la tendance des résultats avec les deux outils de caractérisation (Spectro : spectrophotométrie, Fluo : fluorimétrie). A : MN\_Exp1, B : MN\_Exp2, C : MN\_Exp3

Au travers des deux méthodes de caractérisation utilisées, la même tendance de colonisation est observée. Le recouvrement des éprouvettes se fait sur une durée de 35 à 40 jours avant de chuter immédiatement. Le phénomène de remplacement du biofilm, mis en évidence dans la partie précédente, n'est pas encore visible sur ces faces.

D'après les résultats obtenus, la colonisation s'effectue malgré une quantité de lumière moins importante que sur la face supérieure. Il est donc intéressant de se pencher sur l'état d'acclimatation des cellules dans le but de savoir comment ces dernières s'adaptent à leur nouveau support. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 3-15.

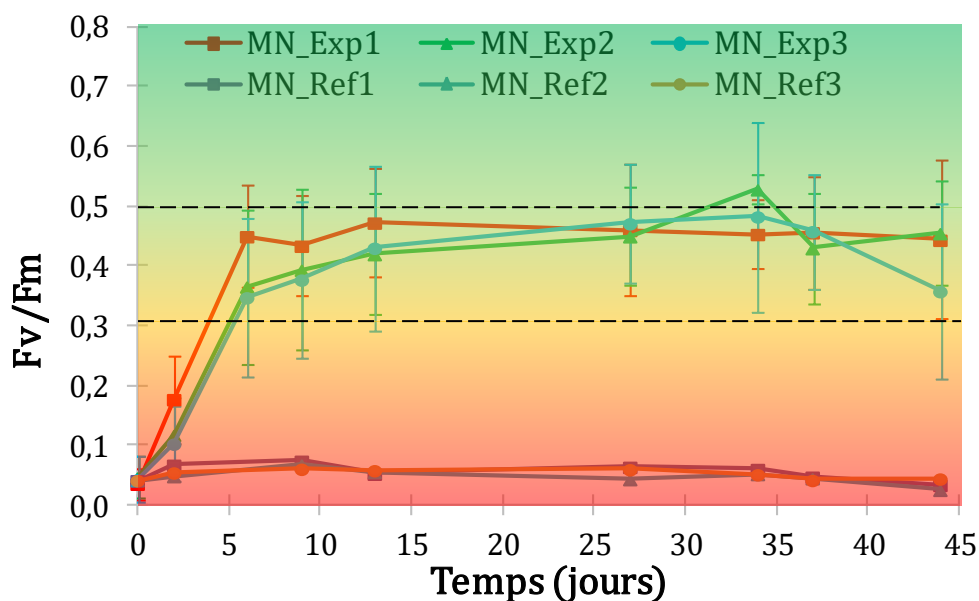


Figure 3-15 : Evolution du rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème ( $F_v/F_m$ ) de la diatomée *C. closterium* à sur les faces latérales des éprouvettes de mortier

Pendant le temps de suivi de l'expérience d'immersion, le ratio  $F_v/F_m$  augmente à vitesses comparables entre les bacs. Les bacs MN\_Exp1, MN\_Exp2 et MN\_Exp3 atteignent le maximum du rapport en début d'immersion ( $F_v/F_m = 0,473$  pour MN\_Exp1,  $0,420$  pour MN\_Exp2 et  $0,430$  pour MN\_Exp3). Une fois ce maximum atteint, les valeurs du rapport restent plutôt stable dans le temps excepté pour le bac MN\_Exp3 dans lequel une chute du ratio est observée après 34 jours d'immersion. De façon générale durant toute la manipulation, le rapport  $F_v/F_m$  ne dépasse pas la valeur de  $0,5$ , signifiant que les cellules ne sont que moyennement acclimatées à leur nouveau milieu. Cette mauvaise acclimatation pourrait être en majorité expliquée par le manque de lumière qui limite le développement de ces dernières (Dubosc, 2000 ; Morelle, 2017 ; Napoléon, 2012 ; Thorel, 2014). Les valeurs sont cependant extrêmement dispersées, en raison du nombre moins important de mesures.

### 2.1.3. Face inférieure

La dernière face à avoir été caractérisée est la face inférieure, c'est-à-dire celle qui n'est pas exposée à la lumière. Cette face présente une rugosité différente entre chaque éprouvette puisque c'est celle qui a été arasée à la main lors de l'étape de fabrication. Elle a été volontairement placée dans le contexte de croissance le moins favorable aux diatomées puisque, ne recevant que très peu de lumière, il est très peu probable que le développement des cellules se fasse mieux sur cette face que sur la surface supérieure exposée à la lumière directe. La face inférieure a été caractérisée par spectrocolorimétrie et fluorimétrie, de la même façon que les faces latérales.

#### 2.1.3.1. Spectrocolorimétrie

La Figure 3-16 illustre l'évolution de l'intensité d'encrassement sur la face inférieure.

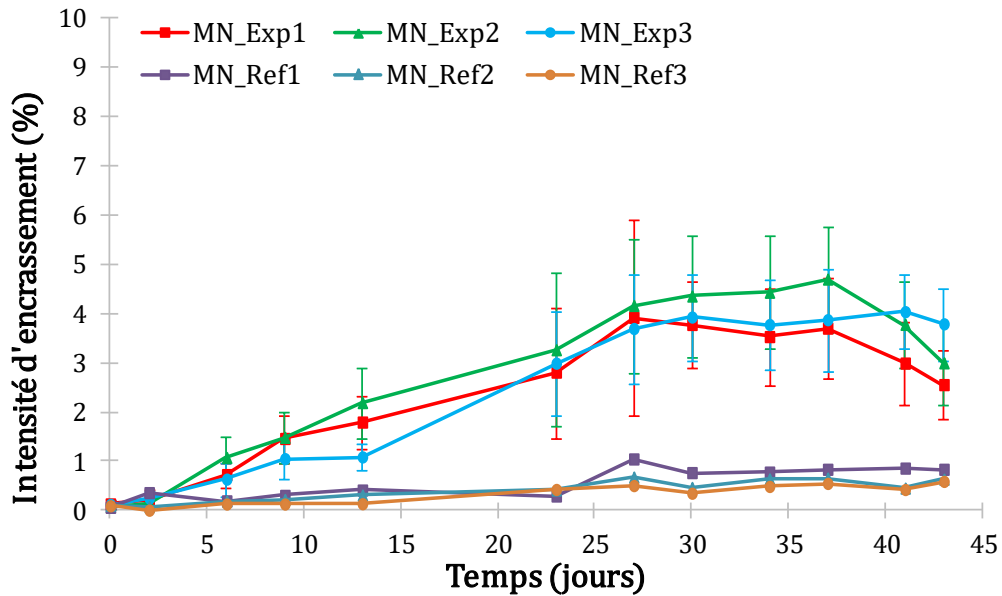


Figure 3-16 : Intensité d'encrassement (%) pour la face inférieure

La tendance de colonisation est comparable entre les trois bacs d'étude. La période de colonisation est également longue ; le maximum d'intensité d'encrassement est atteint après 27 jours d'immersion pour le bac MN\_Exp1 (FI = 4,1%), 37 jours pour le bac MN\_Exp2 (FI = 4,7%) et enfin 41 jours pour le dernier bac (FI = 3,9%). Pour les trois différents bacs, il existe une période de stabilité, lorsque le maximum de colonisation est atteint, pendant laquelle l'intensité d'encrassement évolue faiblement. En fin d'expérience, dans les trois manipulations, une diminution importante de l'intensité d'encrassement est visible.

La dispersion des valeurs est importante lorsque les valeurs d'intensité d'encrassement atteignent leur maximum. En raison du nombre faible de prises de mesures, le développement du film est moins bien quantifié.

#### 2.1.3.2. Fluorimétrie

Bien que les données obtenues concernant la quantité de biomasse à la surface des faces inférieure sont assez peu exploitables, quelques tendances sont tout de même observables (Figure 3-17).



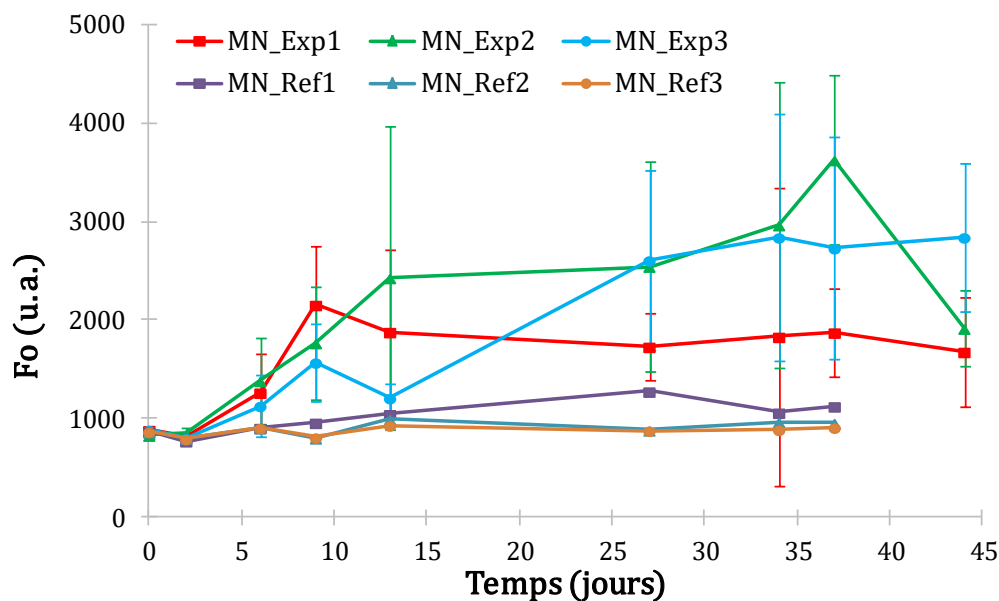


Figure 3-17 : Quantité de biomasse Fo pendant l'expérience sur la face inférieure

Les éprouvettes immergées dans le bac MN\_Exp1 atteignent, après neuf jours d'immersion, le maximum de quantité de biomasse. Par la suite de l'expérience, les valeurs restent relativement stables. Pour les éprouvettes immergées dans les bacs MN\_Exp2 et 3, l'évolution de Fo se fait d'une façon différente. La valeur de la quantité de biomasse augmente jusqu'au 37<sup>ème</sup> jour pour le bac MN\_Exp2 et jusqu'au 34<sup>ème</sup> jour pour le bac MN\_Exp3.

Il est important de nuancer les résultats obtenus du fait des valeurs importantes des écarts-types. En effet, la face inférieure étant la moins exposée à la lumière directe, le développement d'un biofilm se fait difficilement et les valeurs sont beaucoup plus dispersées.

### 2.1.3.3. Comparaison des deux outils

Les résultats obtenus par les méthodes spectrocolorimétriques et fluorimétriques ont été comparées bac par bac (Figure 3-18).

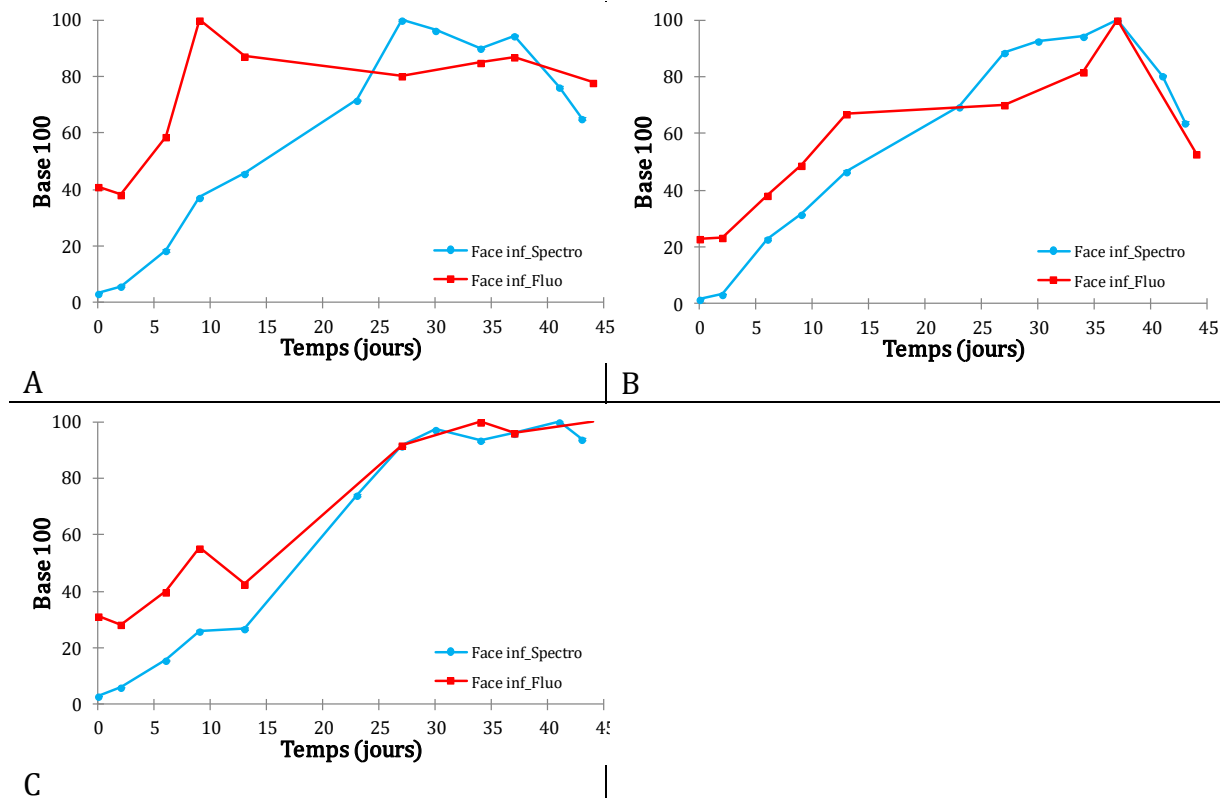


Figure 3-18 : Comparaison de la tendance des résultats avec les 3 outils de caractérisation (Spectro : spectrocolorimétrie, Fluo : fluorimétrie). A : MN\_Exp1, B : MN\_Exp2, C : MN\_Exp3

A l'exception du bac MN\_Exp1, les tendances de colonisation de la face inférieure des éprouvettes de mortier sont extrêmement proches : les maxima sont atteints dans une échelle de temps très proche. Cependant, en raison du manque de lumière très important, il serait probable que l'état d'acclimatation des cellules à leur support ne soit pas bon. Ces valeurs sont présentées dans la Figure 3-19.

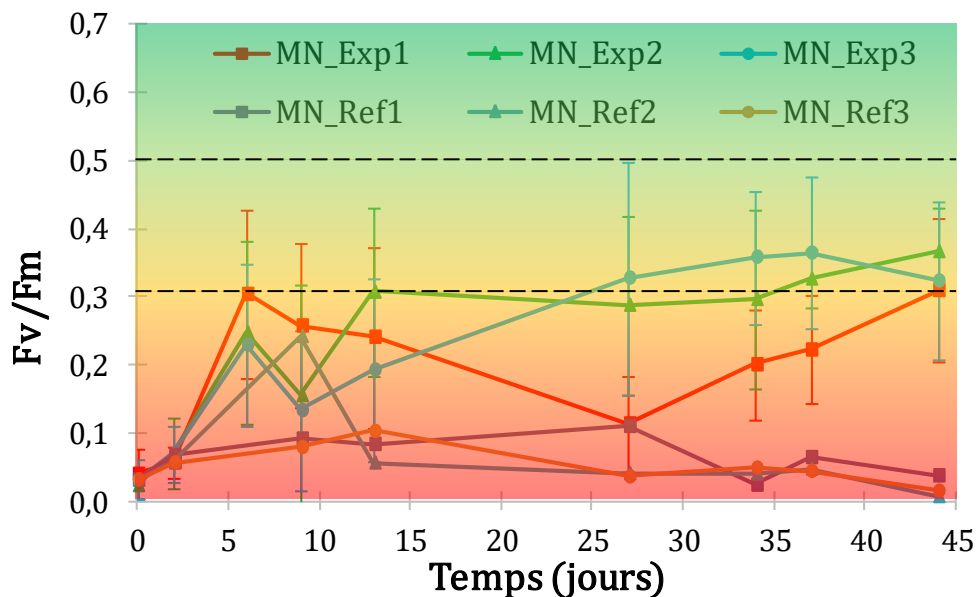


Figure 3-19 : Evolution du rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème ( $F_v/F_m$ ) de la diatomée *Cylindrotheca closterium* sur les faces inférieures des éprouvettes de mortier

Les valeurs du rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème ne dépassent pas la limite de 0,3 dans le cas du bac MN\_Exp1, et la dépasse très faiblement en fin d'expérience pour les bacs MN\_Exp2 et MN\_Exp3. Comme attendu, les cellules sont donc dans un mauvais état d'acclimatation à leur milieu, en raison du manque important de lumière. Le niveau de biomasse plus faible impacte également le rapport signal/bruit. En effet, le niveau de détection est trop faible et le bruit de fond altère la mesure.

## **2.2. Synthèse**

Le dispositif expérimental permet le développement de la culture de diatomées et par la suite son accroche sur un support immergé. Le bullage d'air créé un mouvement continu des cellules dans les différents bacs. Le milieu artificiel étant enrichi pour favoriser la croissance des diatomées, les phases de colonisation puis de remplacement du biofilm sont observées dans une échelle de temps relativement courte. Cette faible échelle de temps permet de faire un nombre important de manipulations.

### **2.2.1. Outils de caractérisation**

Trois outils, aux modes de fonctionnement différents (absorption de lumière pour la spectrophotométrie, émission de lumière à une autre longueur d'onde pour la fluorimétrie ou analyse de la couleur du support pour l'analyse d'image), ont été utilisés afin de caractériser de façon pertinente la surface des éprouvettes de mortier immergées dans un milieu marin artificiel. Ces différents outils ont été choisis en raison de leur usage satisfaisant dans d'autres études portant sur la colonisation des algues sur les façades de bâtiments (De Muynck et al., 2009 ; Dubosc, 2000 ; Manso et al., 2014 ; Tran et al., 2012). Pour chaque face étudiée, les résultats obtenus par spectrophotométrie, fluorimétrie et analyse d'image (uniquement pour la face supérieure) convergent vers les mêmes conclusions. Les outils utilisés paraissent donc donner des résultats cohérents et pertinents et pourraient être utilisés dans des manipulations futures.

Cependant, l'outil d'analyse d'image permettant le choix des surfaces colonisées ou non s'effectue par un seuillage couleur manuel. Outre une bonne qualité de photographie, il est donc indispensable d'avoir une teinte de support qui diffère avec celle apportée par le film de diatomées (De Muynck et al., 2009 ; Manso et al., 2014 ; Tran, 2012). La Figure 3-20 (A et B), tirée d'une étude de De Muynck portant sur la mise en place d'un procédé permettant d'accélérer la colonisation des façades en béton, illustre cette remarque. Le ciment utilisé étant blanc, il existe une grande différence de couleur entre la surface non colonisée et celle recouverte par les algues. La différenciation par analyse de couleur est donc facilement réalisable et peu encline aux erreurs d'appréciations. Dans le cadre de cette étude, le ciment utilisé est un ciment gris. Une fois immergées, les surfaces prennent une teinte gris foncé (Figure 3-20).

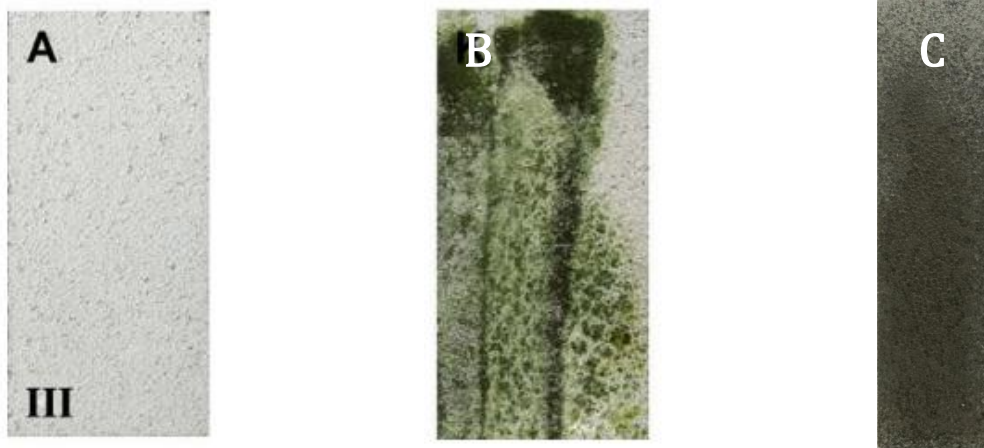


Figure 3-20 : Evolution de la colonisation d'un échantillon de béton après 0 (A) et 11 (B) semaines de suivi de colonisation (De Muynck et al., 2009). C : teinte d'une éprouvette de mortier normalisé après 1 semaine d'immersion, séchée pendant 1 heure

Le film de diatomées qui se développe sur les éprouvettes est quant à lui de couleur marron (Figure 3-5). Par analyse d'image il est donc plus difficile de distinguer les surfaces colonisées de celles qui ne le sont pas. De plus, après quelques semaines d'immersion, le biofilm créé est conséquent ; l'eau reste emprisonnée au sein de celui-ci et l'égouttage des éprouvettes se fait plus lentement. La lumière, utilisée par l'intermédiaire du flash dans la cellule photographique créée, est alors réfléchiée par l'eau encore présente dans le biofilm, menant à l'apparition de taches blanches sur le biofilm. Ces tâches blanches interfèrent dans la détermination des couleurs lors du seuillage par le logiciel. L'analyse photographique ne permet donc pas d'avoir des résultats exacts mais sert plutôt à titre informatif pour suivre le développement du film.

### 2.2.2. Comparaison de la colonisation des faces des éprouvettes

Les trois faces de l'éprouvette (supérieure, latérale et inférieure) ont été caractérisées durant la manipulation. La Figure 3-21 récapitule les résultats obtenus pour chaque méthode de caractérisation, pour un bac choisi, en comparant les résultats obtenus pour chacune des faces. L'ensemble des résultats regroupant le comparatif par bac et par méthode de caractérisation est placé en ANNEXE D.

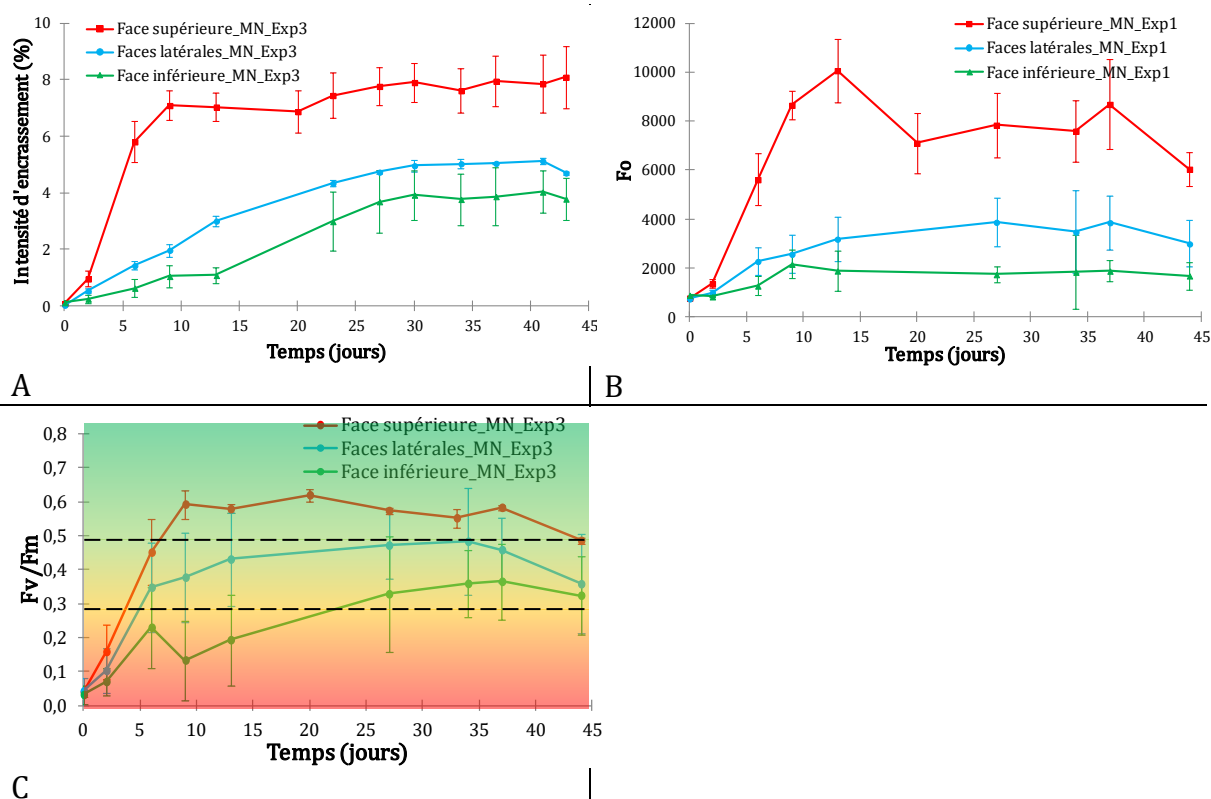


Figure 3-21 : (A) Comparaison de l'intensité d'encrassement dans le bac MN\_Exp3, (B) Quantité de biomasse dans le bac MN\_Exp1, (C) Fv/Fm dans le bac MN\_Exp3

L'étude d'analyse d'image n'ayant été effectuée que sur la face supérieure, les résultats de comparaison avec les autres faces ne sont pas possible.

Dans le cas des deux méthodes de caractérisation, il ressort que la face supérieure est celle qui est la plus colonisée par rapport aux faces latérales et à la face inférieure. Cette différence de colonisation est flagrante que ce soit par analyse spectrocolorimétrique ou fluorimétrique. Au bout de neuf jours, l'intensité d'encrassement atteint un premier palier qui ne cessera d'augmenter légèrement tout au long de la manipulation, alors qu'il faudra 41 jours pour les faces latérales et inférieures. Au niveau de la fluorimétrie, les mêmes observations sont valables. Un maximum est atteint de façon claire pour la face supérieure après treize jours d'immersion. Les cellules des diatomées sont très bien adaptées à leur nouveau support puisque le ratio Fv/Fm dépasse la valeur seuil de 0,5 dès la première semaine d'immersion. Les cellules présentes sur les faces latérales et inférieures ne sont que moyennement voire pas du tout acclimatées à leur support. La lumière reçue par les cellules est la cause principale de cette différence de colonisation et d'acclimatation de ces dernières à leur milieu. La face supérieure recevant la lumière de façon directe, les diatomées se développent mieux sur cette face. Les faces latérales reçoivent quant à elles une quantité de lumière supérieure à la face inférieure, ce qui explique la colonisation plus importante sur les côtés des éprouvettes. Enfin, les faces latérales ayant été en contact avec le moule lors de leur fabrication, des reliefs permettent aux diatomées de s'y fixer (Figure 3-11), contrairement à la face inférieure.

Le suivi de la colonisation sur la face supérieure présentant de bien meilleurs résultats que celui des faces latérales et inférieures, il a donc été décidé pour la suite des manipulations et dans l'optique d'un gain de temps, de ne suivre que l'évolution du recouvrement par les diatomées de la face supérieure. Les échéances concernant la spectrophotométrie et la fluorimétrie sont conservées (deux mesures par semaine). En effet, il est nécessaire de sortir les éprouvettes de leur milieu puis de les égoutter pour effectuer les mesures. Rajouter une échéance pourrait être néfaste pour le développement du film qui serait trop exposé à un cycle de mouillage/séchage et qui pourrait perdre de son intensité. Bien que l'analyse photographique soit utilisée à titre informatif, une échéance dans la prise de photographie a été ajoutée, afin d'obtenir un visuel de colonisation plus précis.

### **3. EVALUATION DES PARAMETRES CHIMIQUES DES MORTIERS ET DU MILIEU MARIN ARTIFICIEL**

Le biofilm présent sur les surfaces des échantillons de mortier exerce sur ce dernier une action chimique. La durée de l'expérience étant limitée à six semaines, l'impact de la présence d'un biofilm sur les propriétés mécaniques du matériau (évolution de la résistance mécanique dans le temps par exemple) n'a pas été caractérisé. En revanche, des évolutions chimiques sont visibles très rapidement que ce soit dans le matériau cimentaire (phénomène de biodétérioration) ou dans le milieu artificiel. Cette partie vise donc à évaluer ces évolutions afin de mieux comprendre les interactions existantes dans ce type d'étude.

#### **3.1. Rappels des outils utilisés**

Deux milieux ont été suivis durant l'expérience d'immersion des éprouvettes de mortier : le milieu « solide » correspondant au matériau cimentaire et le milieu « liquide » correspondant au milieu d'eau de mer artificielle. La caractérisation a été effectuée au moyen de différents outils selon le milieu étudié.

Le matériau cimentaire, lieu d'accroche et de support du biofilm, va être sujet à des modifications de sa composition chimique en raison de l'activité des diatomées, qui porte le nom de phénomène de biodétérioration. L'étude se déroulant en milieu aqueux avec des composés inorganiques, un suivi par chromatographie ionique du matériau à différentes profondeurs a été effectué. La concentration de plusieurs ions a été quantifiée :

- Ion nitrate : étant un nutriment pour les organismes marins, il est intéressant d'évaluer sa concentration et son évolution au sein du matériau ;
- Ion chlorure : principale source de désordres dans le cas de structures renforcées en acier immergées en milieu marin ;
- Ion calcium : élément majoritairement présent dans le ciment, sujet à la lixiviation lorsqu'il se trouve sous la forme de portlandite ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) et pouvant se trouver

sous la forme de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) lors des phénomènes de carbonatation intervenant à la surface des matériaux cimentaires ;

- Ion sulfate : la présence de ces ions dans la matrice cimentaire favorise l'instabilité du produit de réaction entre les ions chlorure et le  $\text{C}_3\text{A}$  ;
- L'ion sodium a été quantifié à titre informatif.

Concernant l'analyse du matériau cimentaire par chromatographie ionique, les résultats seront présentés en pourcentage de présence. Ce pourcentage est calculé selon l'équation 3 - 1 :

$$\text{Pourcentage de présence ion} = \frac{[\text{ion}]_{x \text{ semaines, matériau}}}{[\text{ion}]_{\text{avant immersion, matériau}}} \times 100 \quad \text{Equation 3 - 1}$$

Avec  $[\text{ion}]_{x \text{ semaines, matériau}}$  la concentration de l'ion analysé en g/L dans 1 gramme de matériau à  $x = 2, 4, 6$  semaines et  $[\text{ion}]_{\text{avant immersion, matériau}}$  la concentration de l'ion analysé en g/L dans 1 gramme de matériau avant d'être immergé.

Les concentrations initiales des ions dans le matériau cimentaire avant immersion sont placées en ANNEXE E.

Le pH du matériau cimentaire a été mesuré à différentes profondeurs afin de mieux appréhender l'effet du biofilm sur le phénomène de lixiviation et celui de la carbonatation. Enfin, des suivis d'analyse thermogravimétriques ont été effectués dans le but de quantifier et de voir la présence de nouveaux composés inorganiques ayant pu être créés par la présence des diatomées.

A la différence du suivi de caractérisation présenté dans la partie précédente, les essais physico-chimiques sont destructifs pour le support cimentaire. Les échantillons de poudre ont été récupérés à différentes profondeurs sur la face supérieure : 0 - 2 mm, 2 - 4 mm et 4 - 6 mm.

Concernant le milieu artificiel, ce dernier a également été caractérisé par des prélèvements réguliers d'eau de mer dans le but de suivre l'évolution des concentrations ioniques et du pH dans le temps. Les ions quantifiés sont les mêmes que ceux évalués dans le cadre de la caractérisation de la biodétérioration, c'est-à-dire les ions chlorures, nitrates, sulfates, sodium, potassium et calcium. De plus, la technique de la fluorescence a été utilisée dans le but de connaître l'état d'acclimatation des cellules au milieu marin artificiel qui a été créé.

### 3.2. Evaluation de la biodétérioration

Une fois les surfaces de mortier colonisées, un microenvironnement se crée à l'interface matériau cimentaire / diatomées. Ces dernières vont se lier entre elles et au matériau par la création d'un biofilm. Pour croître, elles vont utiliser des nutriments présents non seulement dans le milieu marin, mais vont également en puiser dans le matériau. A long terme, cet enrichissement va avoir des impacts sur les propriétés physiques et

mécaniques du matériau. La création d'un réseau poreux et de pressions internes va mener à la formation de fissures et à la pénétration facilitée d'espèces chimiques au cœur du matériau (Javaherdashti et al., 2009).

Dans cette étude, chaque expérience a une durée de 6 semaines. Des outils chimiques ont été utilisés dans le but de suivre la pénétration de certains ions dans le matériau. Les essais effectués en milieu marin artificiel portent le nom de MN\_Exp et ceux effectués en eau salée le nom de MN\_Ref.

### 3.2.1. Ions chlorure

En milieu marin, les ions chlorure sont présents à une concentration relativement importante (chapitre bibliographique). Ils sont particulièrement nocifs dans le cas d'infrastructures en béton armé et sont une cause importante de détérioration de structures marines. Il est donc intéressant d'observer la pénétration de cet ion au sein d'un matériau cimentaire en présence ou non d'un biofilm (Figure 3-22).

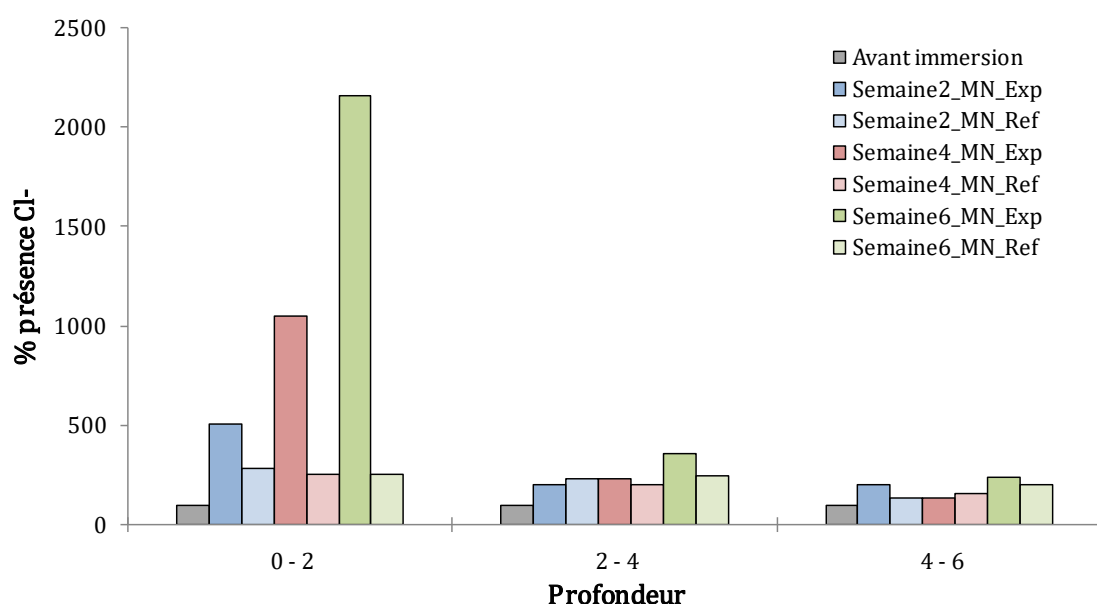


Figure 3-22 : Evolution de la présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire, à 3 profondeurs différentes

La concentration en ions chlorure étant plus importante dans le milieu marin artificiel que dans le matériau, la diffusion va se faire du milieu aqueux vers l'échantillon, d'où des pourcentages de présence en ions chlorure supérieurs à 100% dans le temps. Cette diffusion est observable à chaque échéance : le pourcentage d'ions chlorure présents dans la première couche (0 – 2 mm) est toujours supérieur à celui des couches inférieures. Cette observation est valable lorsque l'échantillon de mortier est immergé dans un bac contenant les diatomées (MN\_Exp) mais aussi lorsqu'il est immergé dans un bac référence (MN\_Ref).

En présence de biofilm sur l'échantillon, les ions chlorure ont une facilité plus importante à pénétrer dans le matériau. En effet, après deux semaines d'immersion, la présence d'ions chlorure dans la première couche de l'éprouvette est déjà égale au double de celle dans le



bac référence. Cet effet ne fait que s'accroître dans le temps, puisqu'après quatre semaines d'immersion ce facteur est multiplié par cinq puis par onze après six semaines d'immersion. La présence de biofilm sur le mortier pourrait donc mener à la création d'un microréseau dans le matériau, facilitant la pénétration des ions chlorure au sein de celui-ci.

### 3.2.2. Ions sulfate

Le comportement des ions sulfate dans le matériau montre les mêmes tendances que celles observées pour les ions chlorure (Figure 3-23) : le pourcentage des ions sulfate présent dans le matériau est plus important dans la première couche en présence de biofilm.

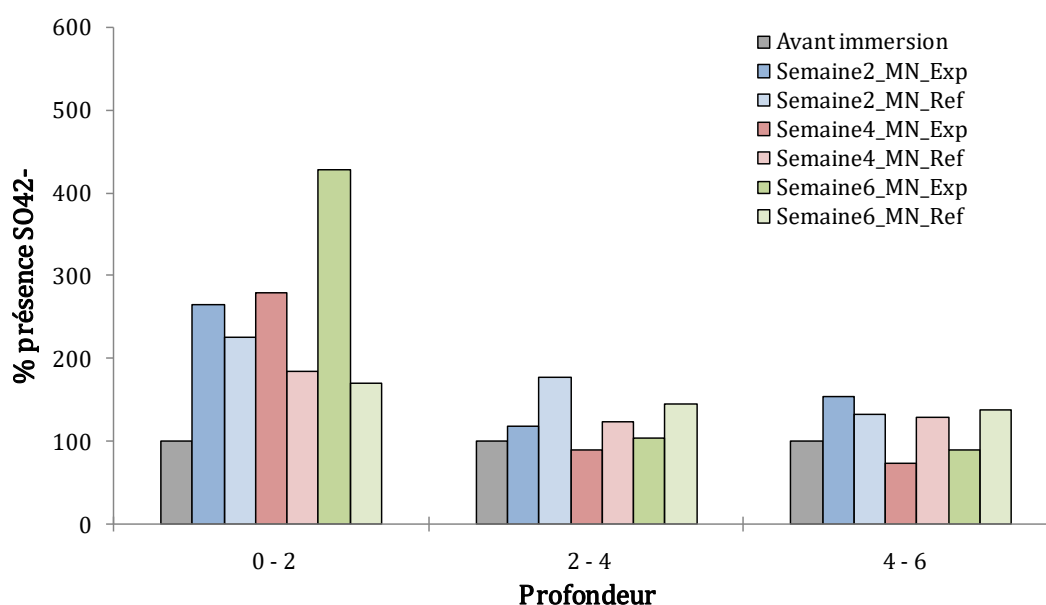


Figure 3-23 : Evolution de la présence des ions sulfate dans le matériau cimentaire selon 3 profondeurs dans le temps

A la différence des chlorures, cet effet n'est pas observable dans les deux couches inférieures pendant le temps de l'expérience. En effet, les ions chlorure se trouvent dans l'eau de mer artificielle à une concentration environ 280 fois plus importante que dans le matériau alors que celle des ions sulfate dans le milieu aqueux est seulement 40 fois plus importante. Le gradient de diffusion des ions chlorure dans le matériau est donc plus important que celui des ions sulfate, permettant de justifier une pénétration des ions chlorure plus profondément dans celui-ci.

La présence d'un microréseau à la surface du matériau pourrait également être mise en évidence en raison de la pénétration plus facile des ions sulfate dans le matériau immergé en présence de diatomées.

### 3.2.3. Ions sodium

Il est observé avec les ions sodium le même phénomène de pénétration des ions en présence de biofilm sur les éprouvettes (Figure 3-24).

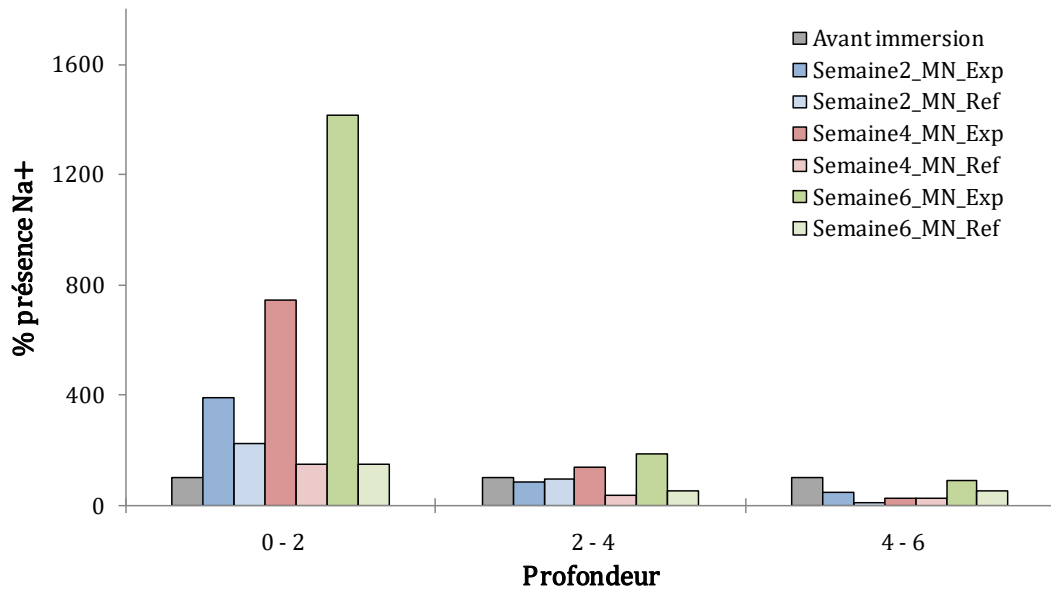


Figure 3-24 : Evolution de la présence des ions sodium dans le matériau cimentaire selon 3 profondeurs dans le temps

Les ions sodium pénètrent plus rapidement dans la première couche du matériau (0 – 2 mm) couvert de biofilm, mettant également en évidence la possible création d'un microréseau du fait de l'action des diatomées.

### 3.2.4. Ion calcium

La Figure 3-25 illustre les résultats obtenus après analyse thermogravimétrique des échantillons de matériau cimentaire prélevés dans la première couche du matériau (0 – 2 mm), après 0, 2, 4 et 6 semaines d'immersion dans le milieu contenant les diatomées ou non. La dérivée première est ici montrée.

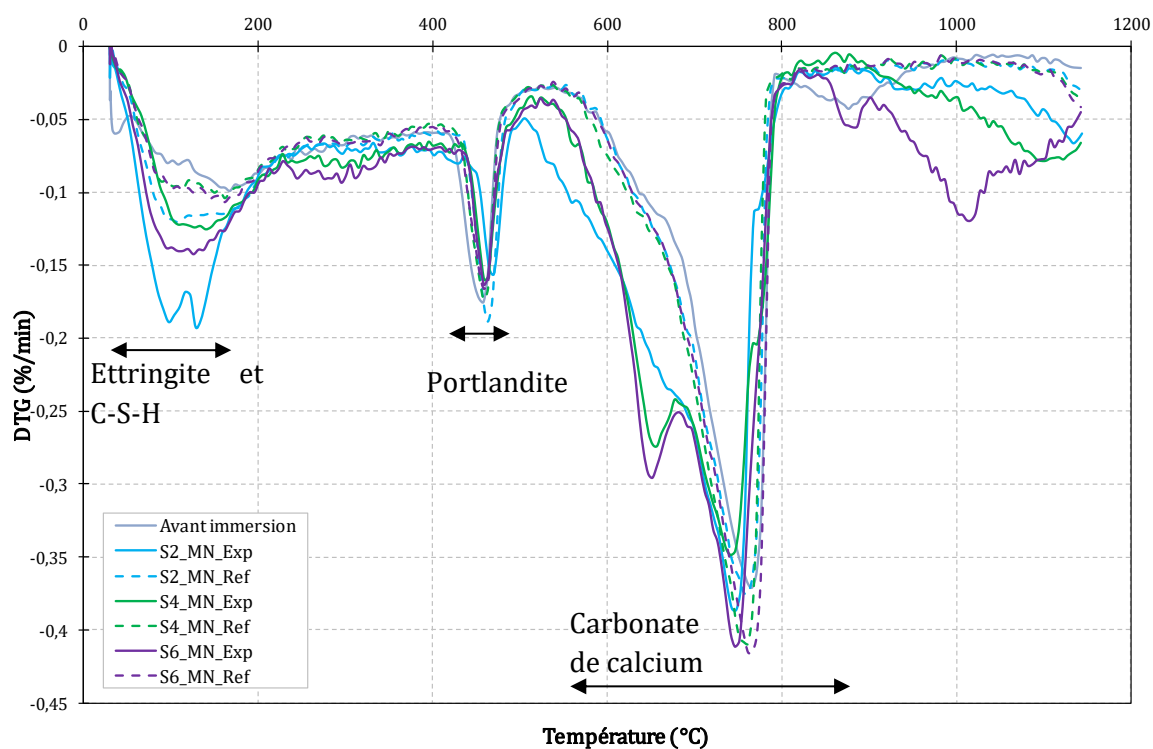


Figure 3-25 : Analyse thermogravimétrique (DTG) du matériau cimentaire à 4 échéances différentes (0, 2, 4, 6 semaines) dans la gamme de profondeur 0 - 2 mm

Plusieurs zones sont facilement identifiables :

- 95 – 135 °C : déshydratation de l'ettringite et du gel de C-S-H (deux pics) ;
- 420 - 480 °C : décomposition de la portlandite en eau et en chaux libre ;
- 510 – 800 °C : décomposition du carbonate de calcium en dioxyde de carbone.

#### 3.2.4.1. Portlandite

L'évolution de la quantité de portlandite dans les mortiers MN\_Exp et MN\_Ref aux trois profondeurs d'étude (0 – 2 mm, 2 – 4 mm et 4 – 6 mm) dans le temps est présentée dans la Figure 3-26.

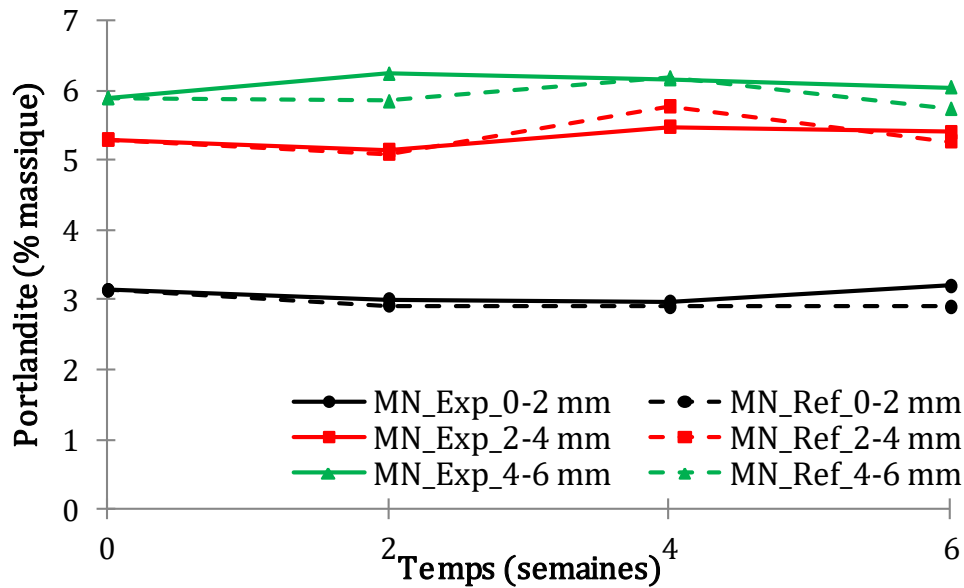


Figure 3-26 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les mortiers MN\_Exp et MN\_Ref, aux trois profondeurs d'étude, après deux, quatre et six semaines d'immersion

D'une façon générale, la quantité de portlandite, à n'importe quelle profondeur, et dans les deux formulations, diminue lentement dans le temps. Cette diminution met en évidence le phénomène de lixiviation. Ce phénomène est lent puisqu'après six semaines d'immersion, la quantité de portlandite dans les échantillons est encore importante (Figure 3-25, Figure 3-26).

La lixiviation de la portlandite est comparable entre les mortiers recouverts de biofilm et ceux immergés en eau salée en l'absence de diatomées, quelque soit la profondeur à laquelle l'échantillon est étudié.

#### 3.2.4.2. Carbonate de calcium

Il existe trois polymorphe du carbonate de calcium : la calcite, la vaterite et l'aragonite. La calcite est le polymorphe qui est majoritairement retrouvé en raison de sa stabilité et qui est visible par ATG entre 750 et 950 °C. Selon (Drouet, 2010), la vaterite et l'aragonite sont formés par l'action d'organismes vivants et sont trouvés en ATG à des températures légèrement inférieures que la calcite (530 – 760 °C). Cependant, (Drouet, 2010 ; Morandau, 2013) précisent que d'autres facteurs pourraient également intervenir dans la formation de ces différents polymorphes tels que l'humidité relative, la température ou encore la nature du réactif. En effet, la présence de vaterite et d'aragonite serait liée à la carbonatation des C-S-H alors que celle de la portlandite mènerait à la présence de calcite.

Après quatre semaines d'immersion, il est à noter sur la Figure 3-25 l'apparition d'un 2<sup>ème</sup> pic entre 540 et 680 °C. Ce dernier met en évidence la présence de vaterite ou d'aragonite, caractéristique de carbonate de calcium qui pourrait être issu de l'action des diatomées. L'apparition de ce pic coïncide avec le développement du biofilm sur l'éprouvette de mortier. L'identification de tels polymorphes pourrait alors être un outil pour suivre, par analyse thermogravimétrique, la progression d'organismes vivants au sein de la matrice

cimentaire. Les graphiques correspondant au suivi de la composition durant l'expérience, à la même profondeur sont placés en ANNEXE F.

La Figure 3-27 illustre l'évolution du pourcentage massique en carbonate de calcium dans les échantillons immergés en milieu marin artificiel (MN\_Exp) et en eau salée (MN\_Ref).

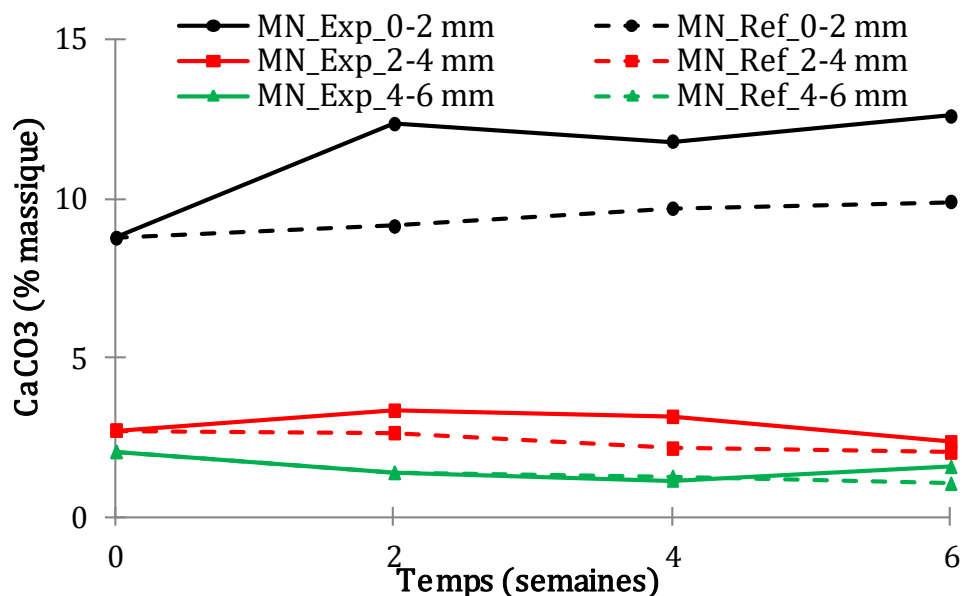


Figure 3-27 : Evolution de la quantité de carbonate de calcium dans les mortiers MN\_Exp et MN\_Ref, aux trois profondeurs d'étude, après deux, quatre et six semaines d'immersion

A une profondeur de 0 – 2 mm, la quantité de carbonate de calcium augmente durant l'expérience, quelque soit le milieu dans lequel est plongé le matériau cimentaire. En présence de biofilm sur les éprouvettes, la quantité de carbonate de calcium est plus importante à n'importe quelle échéance. A des profondeurs de 2 – 4 mm et 4 – 6 mm, les variations sont moins marquées. A 2 – 4 mm, il semblerait que les matériaux couverts de biofilm aient une quantité de carbonate de calcium légèrement plus importante que ceux immergés dans de l'eau salée.

La présence de biofilm à la surface des éprouvettes joue donc un rôle dans la carbonatation du matériau cimentaire. L'activité photosynthétique des diatomées pourrait intervenir dans ce phénomène.

### 3.2.5. Ions nitrate

Pour que les diatomées puissent se développer en pénétrant à l'intérieur du matériau cimentaire, elles ont besoin d'un apport en nutriments. Celui-ci a été mesuré par l'intermédiaire de la présence des ions nitrate dans les échantillons, à différentes profondeurs (Figure 3-28). Le milieu nutritif n'ayant pas été ajouté dans les bacs servant de référence, les résultats obtenus ne peuvent pas servir de comparatif pour les éprouvettes immergées en présence de diatomées, ils n'ont donc pas été présentés ici.

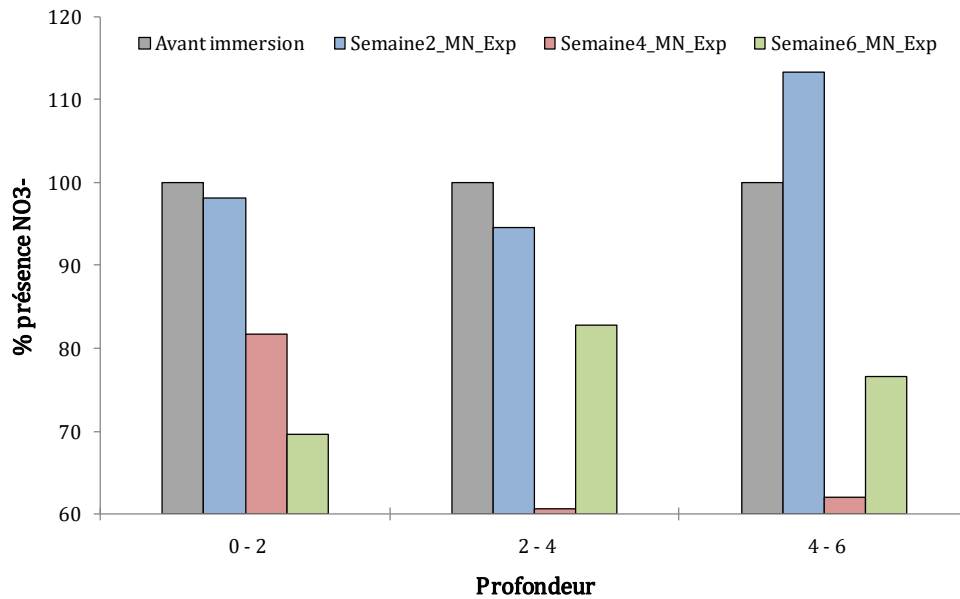


Figure 3-28 : Evolution du pourcentage de présence des ions nitrate dans le matériau durant l'expérience, selon trois profondeurs différentes

Lors de la deuxième semaine d'immersion (en bleu sur la Figure 3-28), le pourcentage de présence des ions nitrate est légèrement inférieur à celui avant immersion. Les diatomées s'étant développées de façon importante sur les éprouvettes lors des deux premières semaines d'immersion, les ions nitrate peuvent donc avoir été consommés rapidement. A la quatrième semaine d'immersion (couleur rouge sur le graphique), une présence plus importante d'ions nitrate dans la première couche est notée. Cela pourrait être du au phénomène de diffusion des ions nitrate vers le matériau. Dans les couches inférieures, le pourcentage diminue. Enfin, à la sixième semaine d'immersion (couleur violette), le pourcentage de présence des ions nitrate dans la couche 0 – 2 mm a chuté, en raison de la consommation de ce nutriment par les diatomées. Il est de plus observé une importante hausse de ce pourcentage dans les couches inférieures, qui pourrait être lié à la diffusion des nitrates facilitée par la pénétration du biofilm au sein du matériau.

La présence des ions nitrate dans le matériau pourrait faciliter la pénétration des diatomées au sein de celui-ci, en leur permettant d'avoir accès facilement à des nutriments.

### 3.2.6. Mesure du pH des mortiers

Pour terminer la caractérisation de la biodétérioration, le pH de l'échantillon a été évalué dans la même gamme de profondeur (0 - 2 mm, 2 – 4 mm et 4 – 6 mm) que le suivi ionique présenté dans les parties précédentes. Le résultat est détaillé dans la Figure 3-29.

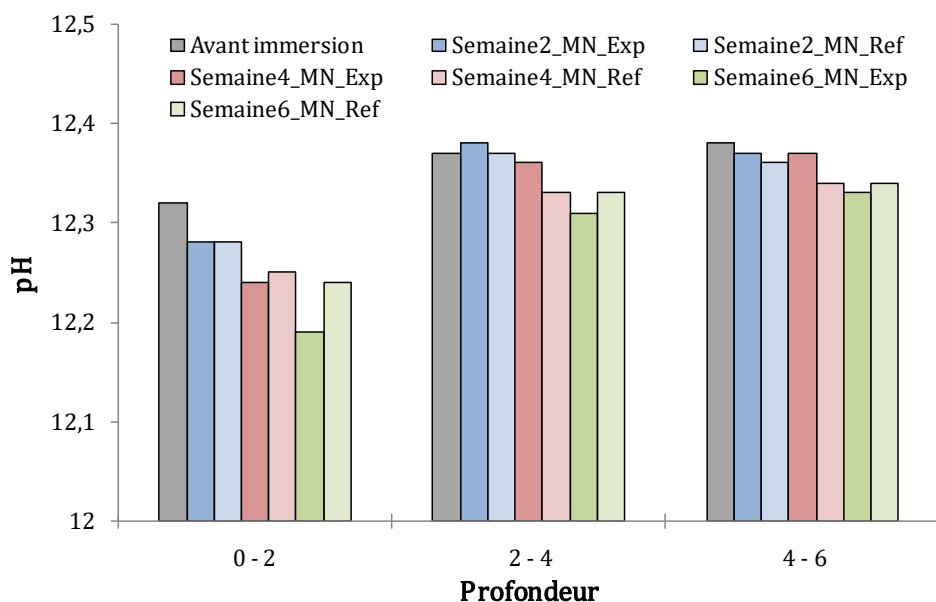


Figure 3-29 : Suivi du pH du matériau cimentaire aux trois profondeurs d'étude, durant le temps de l'expérience

Les évolutions de pH sont à prendre avec précaution en raison de la faible variation de celui-ci et de la précision des mesures.

Avant immersion, le pH du matériau est élevé (~12,3 - 12,4) en raison des hydrates basiques fabriqués lors du mécanisme de prise et détaillés dans le chapitre 1. Ce pH est toutefois moins élevé que les valeurs trouvées dans la littérature, du fait probablement de la carbonatation qui a eu lieu lors de la cure des échantillons en chambre humide.

Après deux semaines d'immersion, une diminution du pH est déjà observable dans la première couche (0 - 2 mm) pour les échantillons immergés dans les deux bacs (MN\_Exp et MN\_Ref). Cette baisse du pH est également observable, mais de façon moins importante dans les couches inférieures. En effet, la couche se trouvant à 0 - 2 mm de profondeur étant la plus proche du milieu marin artificiel, c'est celle-ci qui sera la première à être lixiviée. Après six semaines d'immersion, le pH de surface continue de diminuer pour les échantillons des deux bacs. Néanmoins, la présence du biofilm à la surface du matériau semble accélérer la lixiviation, puisque les valeurs de pH en milieu expérimental montrent une diminution plus rapide.

### 3.3. Suivi de la composition chimique du milieu

Selon leur utilisation par les diatomées ou les éventuels changements des paramètres physico-chimiques du milieu aqueux, la concentration des ions évolue de manière différente.

#### 3.3.1. Ions nitrate

Il est intéressant de commencer cette analyse par celle des ions nitrates, présents en solution comme nutriments pour les diatomées (Figure 3-30).

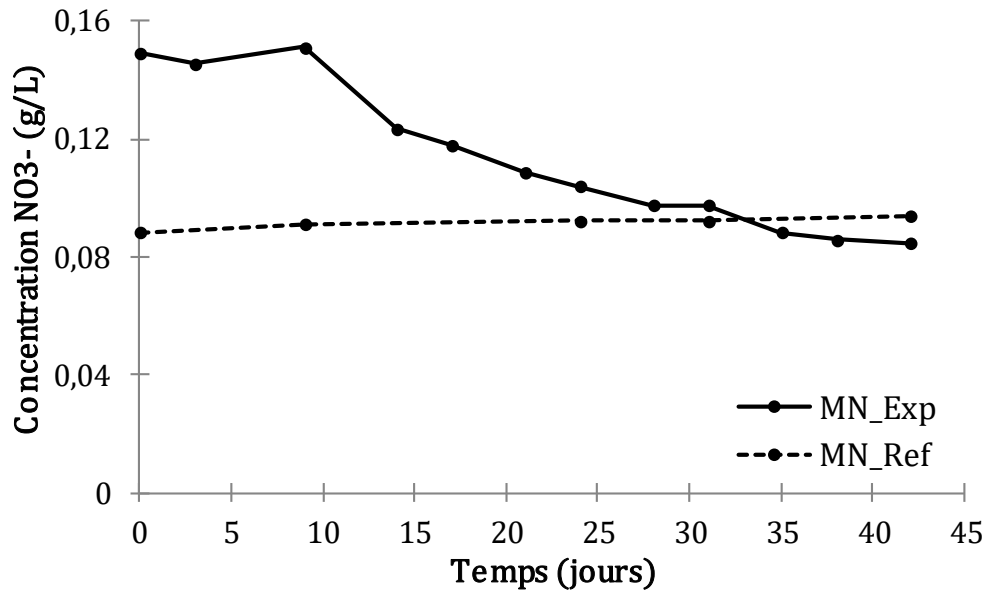


Figure 3-30 : Evolution de la concentration des ions nitrate dans le milieu d'eau de mer artificielle

Comme attendu, la concentration en ions nitrate, initialement élevée dans le bac contenant les diatomées ( $[\text{NO}_3^-]=0,149 \text{ g/L}$ ), chute au cours du temps. Les ions sont donc consommés par les cellules pour qu'elles puissent survivre dans leur nouveau milieu.

Une concentration en nitrates élevée est observée dans le bac servant de référence à la manipulation. Ce milieu n'a pas été enrichi en nitrate mais contient les ions nitrate présents dans l'eau déminéralisée utilisée pour remplir les bacs. Cette concentration n'évolue pas puisque ce bac ne contient pas d'organismes vivants.

### 3.3.2. Ions majeurs en eau de mer

Les Figure 3-31, Figure 3-32, Figure 3-33 et Figure 3-34 présentent respectivement l'évolution de la concentration en sodium, chlorure, sulfate et potassium dans le milieu aqueux. Dans les quatre cas, il n'existe pas de différences flagrantes entre la courbe présentant la concentration en ions en présence d'algue et celle représentant l'évolution de la concentration sans algues. Une légère augmentation des concentrations, quel que soit le bac, est visible. Elle pourrait être due à l'évaporation de l'eau présente dans les bacs ou bien à la perte d'eau dans les bacs lors de la sortie des éprouvettes de leur milieu pour effectuer les différents essais de caractérisation.

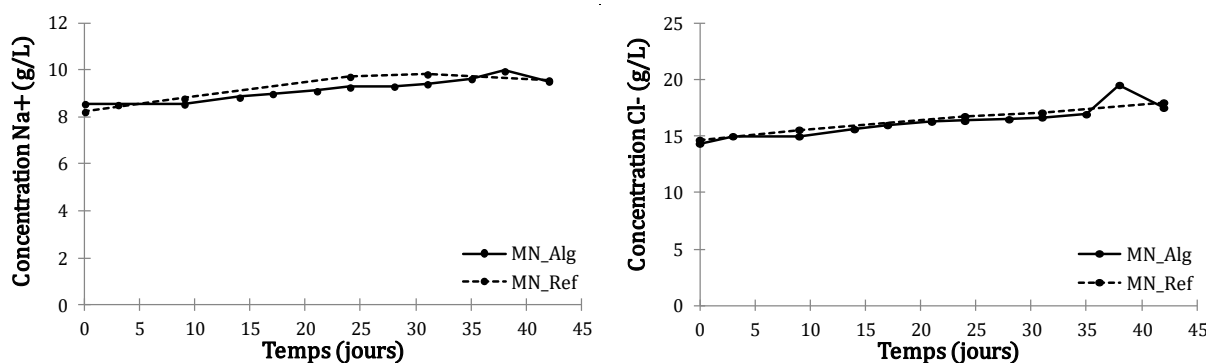




Figure 3-31 : Evolution de la concentration en ions sodium dans le milieu d'eau de mer artificielle

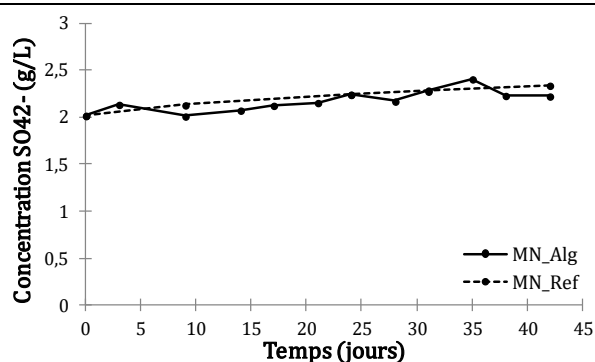


Figure 3-33 : Evolution de la concentration en ions sulfate dans le milieu d'eau de mer artificielle

Figure 3-32 : Evolution de la concentration en ions chlorure dans le milieu d'eau de mer artificielle

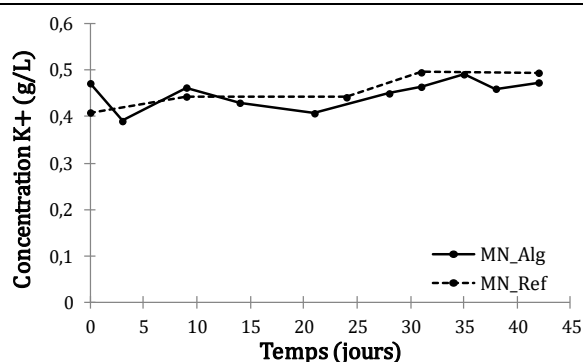


Figure 3-34 : Evolution de la concentration en ions potassium dans le milieu d'eau de mer artificielle

### 3.3.3. Ions calcium

Le suivi de l'évolution de la concentration de calcium dans le temps dans le milieu artificiel a également été effectué (Figure 3-35). La concentration en ions calcium dans le milieu aqueux évolue autour d'une valeur d'environ 0,3 g/L. Il est à noter que la quantification par chromatographie ionique des ions calcium est délicate en raison des facteurs de dilution importants utilisés pour ne pas saturer le détecteur en ions sodium. Les ions calcium étant les derniers ions à sortir de la colonne, leur détection est donc moins aisée.

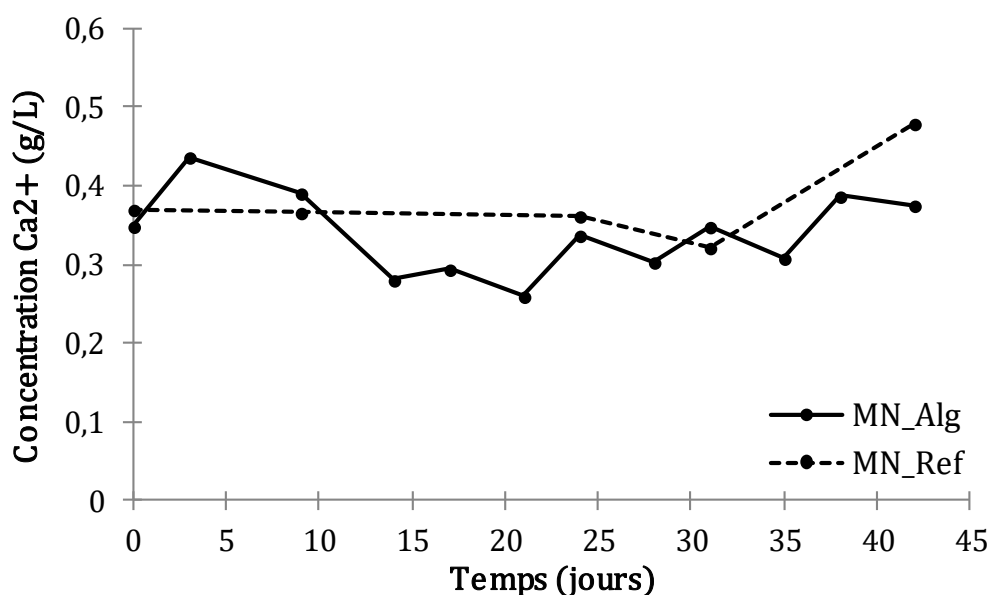


Figure 3-35 : Evolution de la concentration en ions calcium dans le milieu d'eau de mer artificielle

Cependant, il est quand même intéressant de noter que la concentration en ions calcium n'augmente pas de façon importante durant l'expérience dans le bac contenant les diatomées. Cette observation est en phase avec l'hypothèse formulée précédemment ; les ions calcium libérés lors de la lixiviation sont précipités pour former du carbonate de

calcium, de par la présence du biofilm sur la surface des éprouvettes. La chute importante de la concentration durant les 20 premiers jours de l'expérience laisserait penser que les ions calcium présents dans le milieu artificiel précipiteraient, au voisinage du biofilm, de la même façon que les ions calcium relargués par la matrice cimentaire.

### 3.3.4. Mesure du pH

L'évolution du pH a été suivie durant toute la manipulation. Les données sont présentées dans la Figure 3-36.

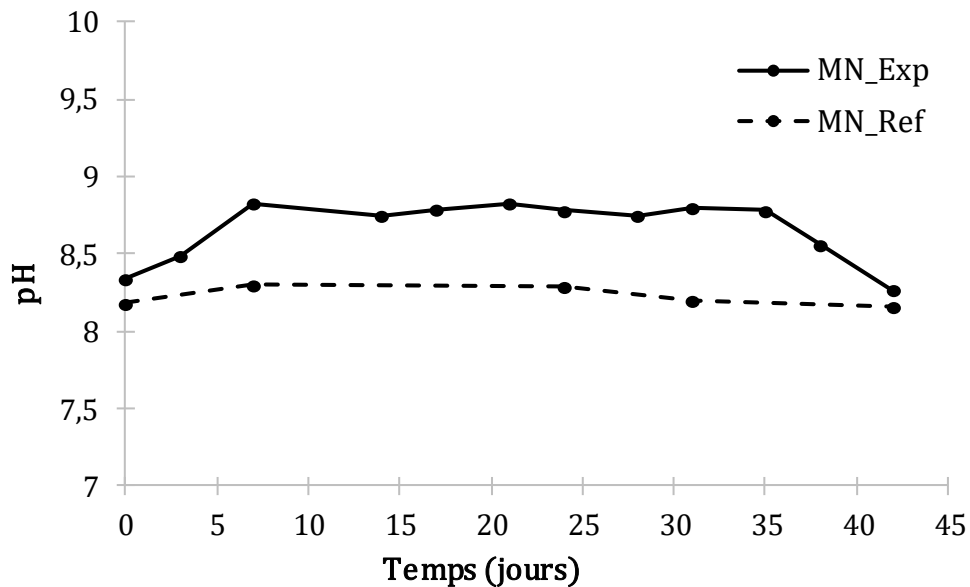


Figure 3-36 : Evolution du pH dans le temps dans le milieu artificiel d'eau de mer

Plusieurs conclusions peuvent découler de ce graphique. Tout d'abord, concernant la courbe relative au pH du milieu artificiel sans présence d'algues, les valeurs augmentent dans les premiers jours de la manipulation (+ 0,1 unité) pour atteindre un pH de 8,2. Une fois la valeur de pH de 8,2 atteinte après une semaine d'immersion des éprouvettes de mortier, le pH n'augmente pas et se stabilise jusqu'à la fin de l'expérience. Le nombre d'éprouvettes immergées (10 éprouvettes par bac) permet donc de s'affranchir de l'augmentation brusque du pH liée au phénomène de lixiviation.

Cette observation permet donc de conclure que l'évolution du pH du milieu dans le cas du bac contenant des diatomées est directement liée à l'activité de ces dernières. Trois phases sont visibles :

- Dans une première phase, d'une durée de sept jours, le pH de l'eau de mer artificielle augmente fortement en raison de la lixiviation des éprouvettes de mortier mais aussi de la consommation du dioxyde de carbone par les diatomées ;
- Puis dans une seconde phase, l'équilibre entre le mécanisme de la photosynthèse et de la respiration se met en place. Le pH oscille autour d'une valeur de 8,8 pendant 28 jours ;

- Enfin dans une troisième et dernière phase, le pH de l'eau de mer chute ; la respiration devient supérieure à la photosynthèse, phénomène renforcé par le développement bactérien. En effet, les bactéries respirent et fabriquent du dioxyde de carbone qui a pour effet de diminuer le pH de la solution.

### 3.3.5. Rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème

Le rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème ( $F_v/F_m$ ) a également été mesuré dans le milieu artificiel (Figure 3-37).

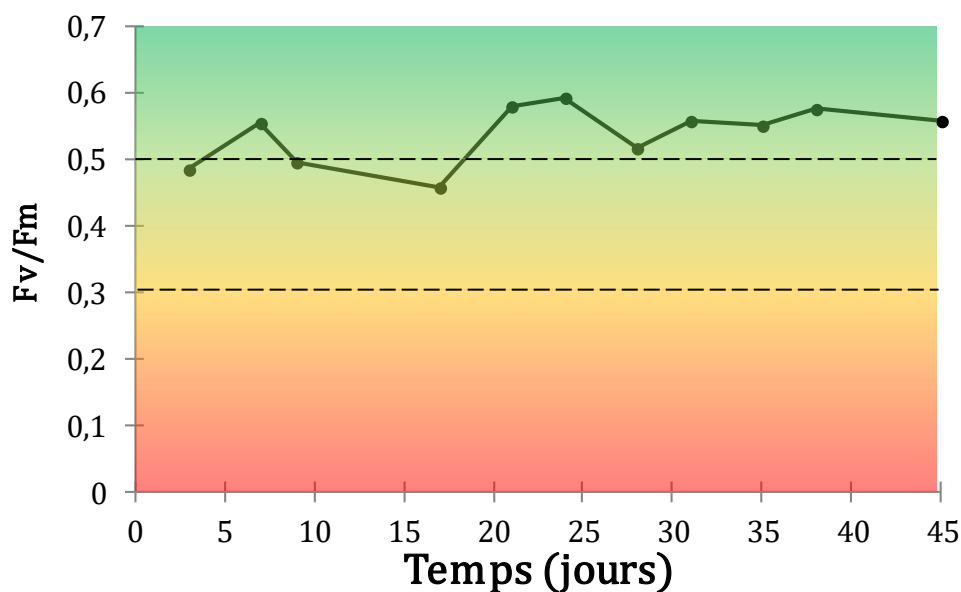


Figure 3-37 : Evolution du rapport  $F_v/F_m$  dans l'eau de mer artificielle

Dès le début de l'expérience d'immersion, les diatomées sont bien acclimatées au milieu dans lequel elles se trouvent et le restent jusqu'à la fin de l'expérience. Malgré une quantité importante de bactéries en fin d'expérience, observable par la brusque chute du pH à partir du 35<sup>ème</sup> jour d'immersion (Figure 3-36), les diatomées restent dans un bon état physiologique.

## CONCLUSIONS

Plusieurs points ont été abordés dans ce chapitre. Tout d'abord, la réflexion qui a mené au dispositif expérimental puis la mise en place de ce dernier ont été présentés. La lumière, la circulation du milieu aqueux ainsi que le taux de remplissages des bacs sont des facteurs importants qui ont été fixés dès le départ.

Les outils servant à caractériser la colonisation ont ensuite été étudiés. Ces outils sont au nombre de trois et utilisent différentes technologies pour détecter la présence de diatomées :

- Spectrocolorimétrie : utilise les propriétés d'absorption de la lumière par la chlorophylle ;
- Fluorimétrie : utilise les propriétés d'émission de la lumière à une autre longueur d'onde par la chlorophylle ;
- Analyse d'image : utilise les propriétés de couleur pour une détection visuelle des algues sur le matériau.

Les méthodes utilisant la spectrocolorimétrie ainsi que la fluorimétrie ont donné des résultats satisfaisants, cohérents entre eux et pertinents. Ce sont donc deux outils facilement utilisables pour suivre le développement des diatomées sur des surfaces de mortier. En revanche, l'analyse d'image s'est trouvée être un outil beaucoup plus approximatif et basée sur l'unique appréciation de l'opérateur. Le ciment utilisé dans cette étude étant de couleur grise, la distinction entre biofilm de diatomées et surface non colonisée est difficile à faire. Cet outil est donc utilisable à titre informatif puisqu'il permet de voir de façon concrète le développement de micro-organismes, mais ne peut pas être utilisé à des fins scientifiques dans cette étude.

Toutes les faces des éprouvettes de mortier ont été caractérisées. La face supérieure est celle qui a montré la meilleure colonisation, en raison de son orientation préférentielle à la lumière.

Le dispositif expérimental a permis aux diatomées de se développer et de coloniser les éprouvettes de mortier. Au bout de quelques jours seulement le biofilm se développait déjà sur ces dernières. L'analyse par fluorimétrie a permis d'observer que les cellules étaient bien acclimatées à leur nouveau substrat.

La biodétérioration a été évaluée à l'aide de la chromatographie ionique et d'analyses thermogravimétriques. Plusieurs observations ont été effectuées durant cette expérience :

- Les ions chlorure, sulfate et sodium pénètrent de façon plus importante dans la matrice cimentaire en présence de biofilm sur la surface des échantillons. La présence du biofilm sur le matériau pourrait créer un microréseau à l'intérieur de celui-ci ;

- Malgré le phénomène de lixiviation, la présence en ions calcium dans le matériau augmente avec le temps. Cela est expliqué par la formation de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ), visible par analyses thermogravimétriques. Sa présence pourrait être liée à l'activité photosynthétique des diatomées présentes dans le biofilm.

Enfin pour terminer, la composition de l'eau de mer artificielle a été caractérisée durant la durée de l'étude présentée dans ce chapitre. Il a été mis en évidence la consommation des ions nitrate dans le milieu par les diatomées, leur servant de nutriment pour croître. Cette consommation réduit alors peu à peu les ressources disponibles. L'évolution de pH a pu mettre en évidence l'activité photosynthétique des diatomées au sein du dispositif expérimental.

De façon générale, le dispositif expérimental mis au point a permis de simuler un milieu marin et de permettre la colonisation d'éprouvettes de mortier par la diatomée *Cylindrotheca closterium*. Cette dernière s'est bien adaptée à son nouveau milieu. Les outils de caractérisation biologiques et chimiques s'avèrent pertinents et permettent de suivre la colonisation et la biodétérioration du matériau, à l'exception du suivi par analyse d'image. L'ensemble de ces outils va donc pouvoir être utilisés dans d'autres études, présentées dans les chapitres suivants.



---

# **Chapitre 4 : ETUDE DES FACTEURS D'INFLUENCE SUR LA COLONISATION**

---

## INTRODUCTION

Le chapitre 3 a permis de mettre au point le dispositif expérimental utilisé pour évaluer la colonisation et la biodétérioration d'un matériau dans un milieu marin artificiel. Une formulation de mortier normalisé a été immergée afin de prendre en main et conclure quant à la pertinence des outils de caractérisation. Il a été décidé, à l'aide des résultats obtenus, que la face supérieure des éprouvettes serait la seule face caractérisée lors des prochaines manipulations. En raison de l'orientation favorable de cette face par rapport à la lumière, le développement des diatomées est en effet plus important. Les outils de caractérisation de la colonisation étaient initialement au nombre de trois (spectrocolorimétrie, fluorimétrie et analyse d'image) mais il a été décidé de ne plus utiliser l'outil d'analyse d'image, en raison de l'approximation trop importante des résultats obtenus. Les outils de suivi de la biodétérioration restent inchangés, ils permettent d'obtenir des résultats pertinents et faciles à évaluer.

Comme cela a été détaillé dans le chapitre bibliographique, le phénomène de colonisation des matériaux cimentaires est influencé, entre autres, par la composition chimique du matériau. Bien que les outils utilisés dans le chapitre précédent aient montré des résultats satisfaisants, la pertinence de ces derniers est évaluée à nouveau à la surface de matériaux ayant une composition différente de celle du chapitre 3.

A la suite de l'étude de pertinence des outils utilisés sur des formulations de mortier différentes, ce chapitre va ensuite s'intéresser aux facteurs pouvant impacter la colonisation des matériaux. Dans un premier temps, l'influence de la composition du matériau cimentaire sur la colonisation de celui-ci sera étudiée. Tout d'abord, le sable siliceux présent dans le mortier sera substitué par du sable calcaire à différents pourcentages. Puis, des nutriments des diatomées (ions nitrates) seront incorporés dans la matrice cimentaire. Ces différentes études seront effectuées en laboratoire, à l'aide du dispositif expérimental mis au point dans le chapitre précédent. Dans un second temps, l'effet des conditions environnementales sur le développement du biofilm sera évalué, grâce à des immersions du mortier dans un milieu semi-naturel à différentes périodes de l'année. Le mortier étudié sera un mortier normalisé, étudié à l'aide du dispositif expérimental mis au point, adapté pour une utilisation en milieu semi-naturel.



## COMPARAISON DES RESULTATS DE LA COLONISATION SUIVIE PAR SPECTROCOLORIMETRIE ET FLUORIMETRIE

Il a été choisi, pour cette étude de pertinence des outils de caractérisation de la colonisation, de substituer le sable siliceux présent dans le mortier normalisé par du sable calcaire à différents taux : 25%, 50%, 75% et 100%. Ces formulations prendront les noms de SC\_25 (pour la formulation contenant 25% de sable calcaire), SC\_50, SC\_75 et enfin SC\_100. Leur composition est détaillée dans le chapitre Matériels et méthodes.

La colonisation a été suivie avec deux outils : le spectrocolorimètre et le fluorimètre. L'outil d'analyse d'image et de la prise de photographies est utilisé à titre informatif pour illustrer certains propos.

Les résultats sont présentés dans les Figure 4-1 à Figure 4-4. Les valeurs ont été rapportées à une même échelle (Base 100) en donnant à la valeur maximale de chaque série la valeur de 100 ; ces valeurs sont rassemblées dans le Tableau 4-1. Par proportionnalité, les autres valeurs ont ensuite été calculées.

		SC_25	SC_50	SC_75	SC_100
Spectrocolorimètre	Jour	8	8	22	4
	Valeur (%)	5,97	6,61	8,55	8,30
Fluorimètre	Jour	40	40	40	36
	Valeur (u. a.)	18 373	18 368	18 399	16 504

Tableau 4-1 : Valeurs maximales de colonisation mesurées pour chaque formulation de sable calcaire, par spectrocolorimétrie et fluorimétrie

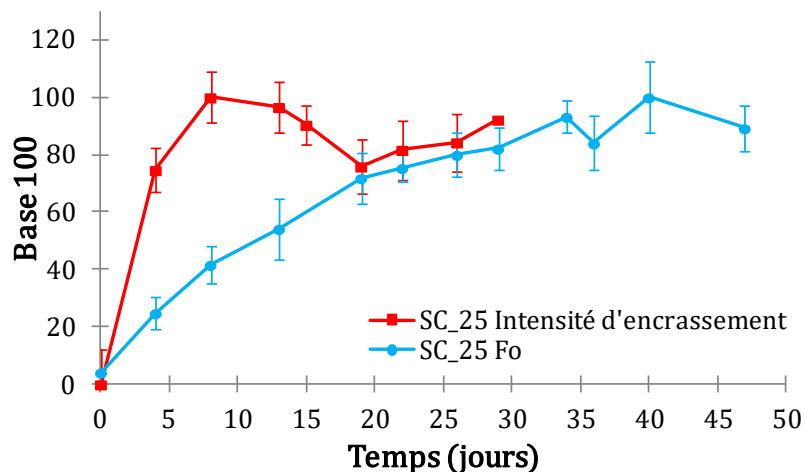


Figure 4-1 : Evolution de l'intensité d'encrassement et de la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes de mortier contenant 25% de sable calcaire

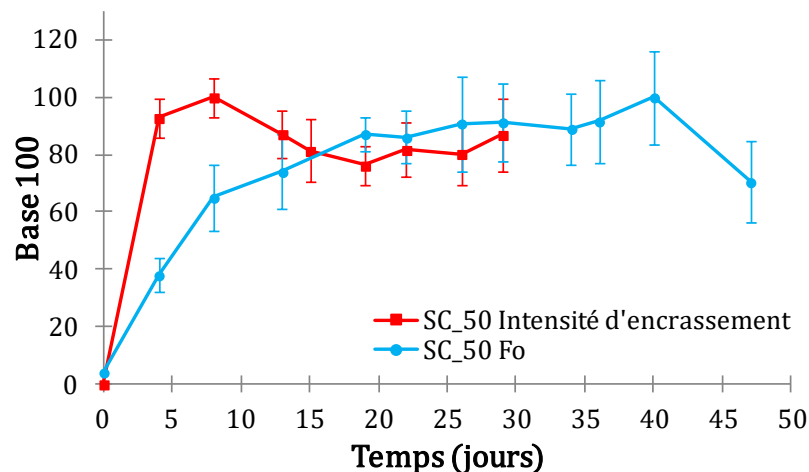


Figure 4-2 : Evolution de l'intensité d'encrassement et de la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes de mortier contenant 50% de sable calcaire

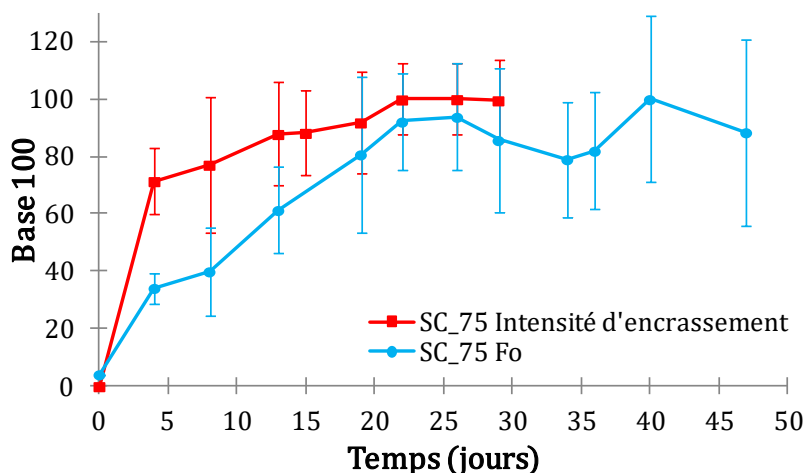


Figure 4-3 : Evolution de l'intensité d'encrassement et de la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes de mortier contenant 75% de sable calcaire

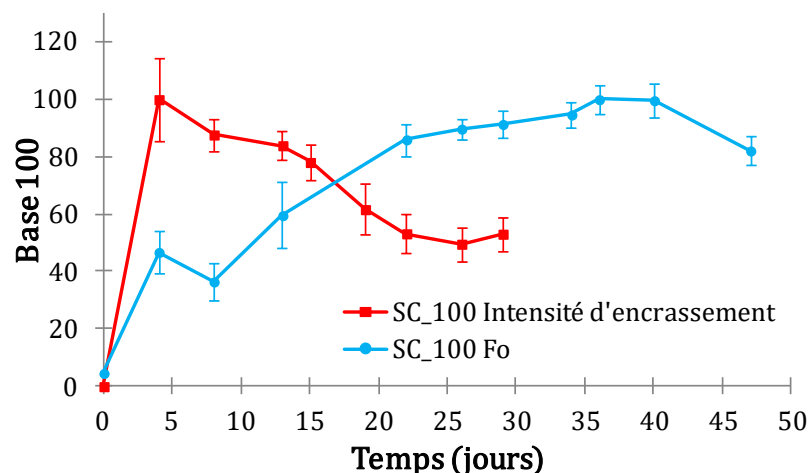


Figure 4-4 : Evolution de l'intensité d'encrassement et de la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes de mortier contenant 100% de sable calcaire

La Figure 4-1 présente l'intensité d'encrassement ainsi que la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes, formulées à partir de 25% de sable calcaire. L'intensité d'encrassement évolue en deux étapes, déjà détaillées dans le chapitre précédent. Dans un premier temps, les diatomées recouvrent les surfaces des éprouvettes, menant à une augmentation de l'intensité d'encrassement. Au bout de 8 jours d'immersion, le maximum est atteint (5,97%). Une fois ce maximum dépassé, la valeur de l'intensité d'encrassement diminue jusqu'au 19<sup>ème</sup> jour avant d'augmenter de nouveau jusqu'au 29<sup>ème</sup> jour. La quantité de biomasse Fo croît quant à elle jusqu'au 40<sup>ème</sup> jour pour atteindre une valeur maximale (18 373 u. a.), avant de diminuer en fin d'expérience.

La Figure 4-2 présente l'intensité d'encrassement ainsi que la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes de mortier fabriquées avec 50% de sable calcaire. L'intensité d'encrassement atteint sa valeur maximale après 8 jours d'immersion (6,61%) pour ensuite diminuer, alors que la quantité de biomasse atteint son maximum après 40 jours d'immersion (18 368 u. a.).

La Figure 4-3 illustre la colonisation des éprouvettes fabriquées avec 75% de sable calcaire. L'intensité d'encrassement met beaucoup plus de temps à atteindre sa valeur maximale, comparé aux deux graphiques précédents. En effet, ce n'est seulement qu'après 22 jours d'immersion que la valeur maximale est atteinte (8,55%). La quantité de biomasse Fo est à son maximum après 40 jours d'immersion (18 399 u. a.).

Enfin pour terminer, la Figure 4-4 montre l'évolution de l'intensité d'encrassement et la quantité de biomasse pour les éprouvettes fabriquées avec 100% de sable calcaire. Concernant l'intensité d'encrassement, la valeur maximale est atteinte au bout de 4 jours (8,30%) avant de chuter sur toute la durée de l'expérience ; alors que la valeur maximale de la quantité de biomasse est atteinte après 36 jours d'immersion (16 504 u. a.).

## Conclusions

Le suivi de la colonisation au moyen des deux techniques présentées montre une divergence dans les dates auxquelles les valeurs maximales de colonisation sont atteintes. En effet, entre les valeurs maximales détectées par le spectrocolorimètre et celles détectées par fluorimétrie, un écart de 32 jours est observé pour les formulations contenant 25%, 50% et 100% de sable calcaire et un écart de 18 jours pour la formulation contenant 75% de sable calcaire. L'intensité d'encrassement des éprouvettes de mortier pour les quatre formulations croît de façon assez importante durant les premiers jours d'immersion, puis les valeurs diminuent aussitôt.

La fluorimétrie ainsi que l'analyse visuelle de la surface ne permettent pas de tirer les mêmes conclusions. La Figure 4-5 présente l'évolution de surface d'une éprouvette de mortier fabriquée avec 100% de sable calcaire. Il a été déterminé, par spectrocolorimétrie, un maximum de colonisation au bout du 4<sup>ème</sup> jour d'immersion. Or, d'après les photographies effectuées tout au long de l'expérience, il est visible que la surface s'assombrit fortement tout au long de l'expérience, en raison du développement des diatomées. La fluorimétrie permet de détecter un maximum de colonisation vers le

40<sup>ème</sup> jour d'immersion, qui semble converger avec l'observation visuelle de la surface des éprouvettes.

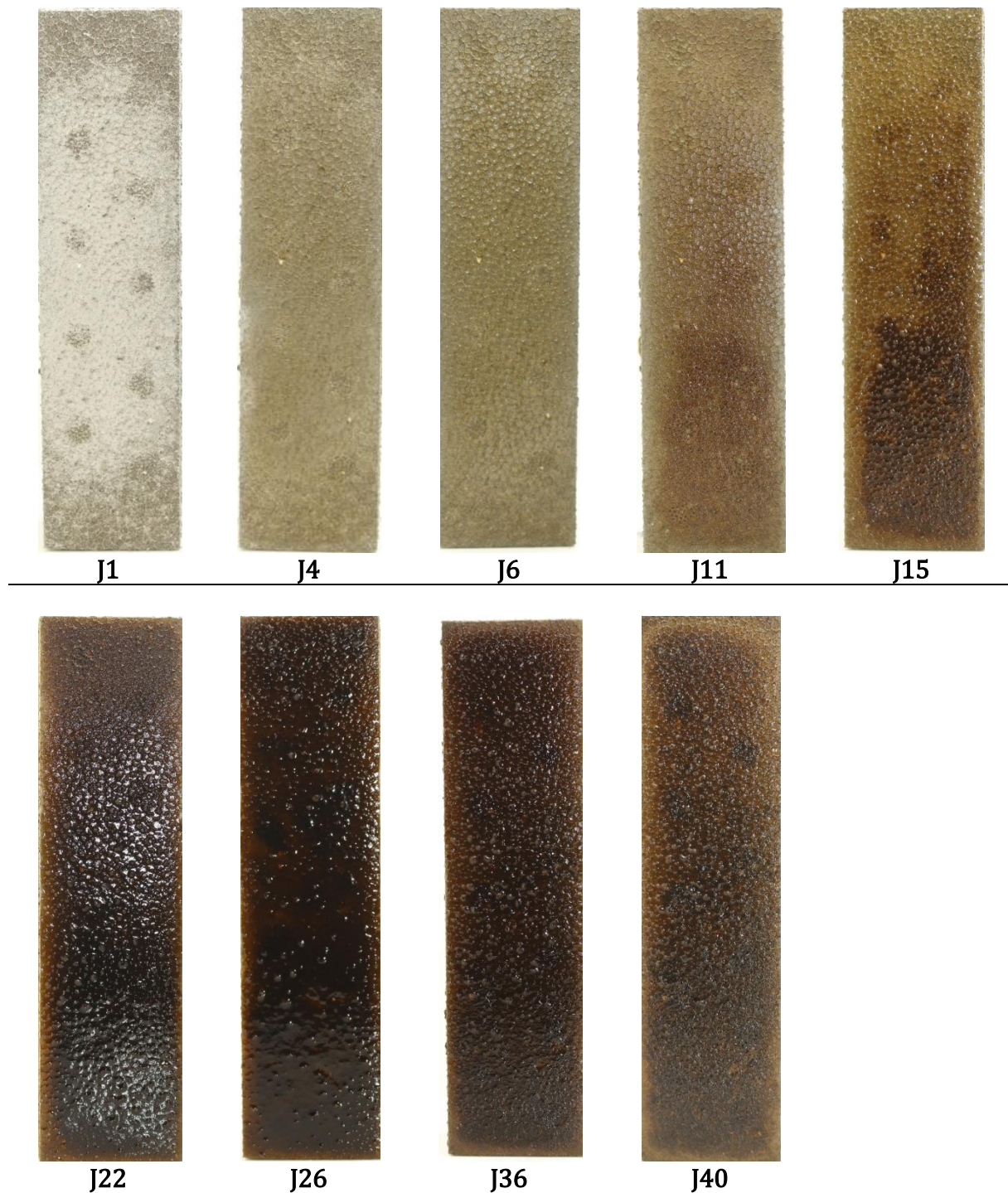


Figure 4-5 : Evolution de la surface colonisée sur une éprouvette de mortier de type SC\_100, par prise de photographies durant l'expérience d'immersion en milieu marin artificiel

La spectrocolorimétrie semble donc montrer des limites dans son mode de fonctionnement. Elles ont également été soulignées par (Manso et al., 2014), qui a observé les mêmes tendances de résultats concernant la colonisation de matériaux cimentaires par des algues : une croissance forte de l'intensité d'encrassement pour atteindre une valeur maximale, puis une chute importante des valeurs malgré une accumulation visible

des algues sur les surfaces, passé la date du maximum d'intensité d'encrassement. Ainsi, dans le temps, les surfaces colonisées deviennent de plus en plus sombres du fait du développement du biofilm. La quantité de lumière réfléchie par la surface diminue alors, menant à une diminution de la valeur résultante de la différence entre la réflectance à 700 nm et celle à 670 nm. L'intensité d'encrassement, dont la formule de calcul a été présentée dans le chapitre 2, ne devient donc plus représentative de l'évolution de la colonisation une fois que la surface de l'échantillon est recouverte par le biofilm.

D'après (Manso et al., 2014), la mesure de l'intensité d'encrassement est donc un outil utile pour caractériser le biofilm durant la phase de recouvrement du matériau cimentaire par les organismes. Cet outil n'est ensuite plus représentatif pour suivre le développement du biofilm. Le maximum d'intensité d'encrassement mesuré pourrait alors correspondre au moment où la surface de l'éprouvette est entièrement recouverte par les diatomées. Le spectrocolorimètre est donc un outil intéressant à utiliser durant la phase de recouvrement du matériau par les diatomées. Une fois que la surface est recouverte, cette méthode ne permet plus de quantifier la biomasse présente. La mesure de la fluorescence des organismes photosynthétiques paraît alors plus adaptée une fois cette période de recouvrement passée. Cette observation n'a pas été faite dans le chapitre précédent, en raison d'un développement moins important d'algues à la surface des éprouvettes.

# **PARTIE I : FACTEURS INTERNES AUX MATERIAUX CIMENTAIRES**

## 1. IMPACT DE LA FORMULATION DE LA MATRICE SOLIDE

Dans cette première partie, l'impact de la formulation de la matrice solide sur les mécanismes de colonisation et de biodétérioration va être présenté. Les ions calcium présents en solution ou dans la phase solide ont montré dans le chapitre précédent une évolution intéressante en raison du mécanisme de photosynthèse des diatomées, mais également de la carbonatation naturelle qui a lieu en milieu marin. Du sable calcaire a donc été substitué au sable siliceux à hauteur de 25% (SC\_25), 50% (SC\_50), 75% (SC\_75) et 100% (SC\_100).

La colonisation et la biodétérioration de ces formulations seront comparées à celle ayant eu lieu sur les éprouvettes de mortier normalisé étudiée dans le chapitre 3. La composition du mortier étant de 100% en sable siliceux, elle portera le nom de SS\_100.

### 1.1. Effet de la formulation sur la colonisation

Dans cette partie, l'effet de la composition de la phase solide sur la colonisation des diatomées a été suivi par fluorimétrie. La Figure 4-6 présente les quantités de biomasse Fo mesurées par fluorimétrie à la surface des éprouvettes de chaque formulation.

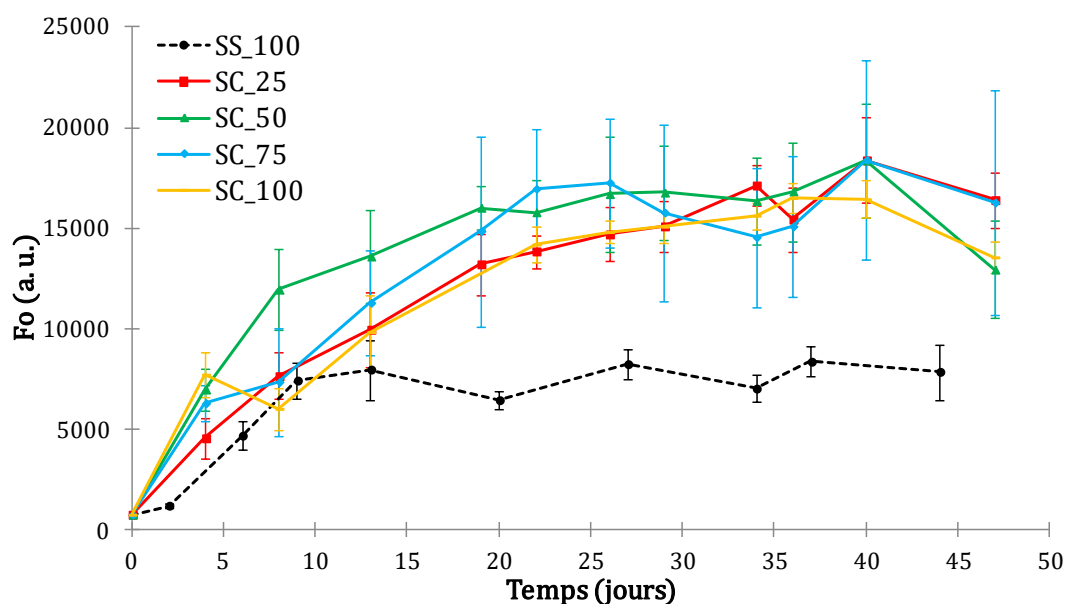


Figure 4-6 : Suivi de la quantité de biomasse Fo à la surface des éprouvettes de mortier contenant 0%, 25%, 50%, 75% et 100% de sable calcaire

D'une façon générale, la présence de sable calcaire dans les éprouvettes impacte directement la colonisation des échantillons. En effet, que ce soit pour les éprouvettes contenant 25%, 50%, 75% ou encore 100% de sable calcaire, toutes présentent une quantité de biomasse largement supérieure à celles des éprouvettes siliceuses (SS\_100). La valeur maximale atteinte lors de la colonisation de ces dernières était de 8364 u. a. alors qu'elle approche le double pour les éprouvettes contenant du sable calcaire. Les tendances de colonisation des quatre formulations restent relativement proches, malgré la présence de plus en plus importante de calcaire dans la phase solide.

Afin de connaître l'état d'acclimatation des diatomées à leur nouveau support, le rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème a été mesuré durant l'expérience sur toutes les éprouvettes immergées (Figure 4-7).

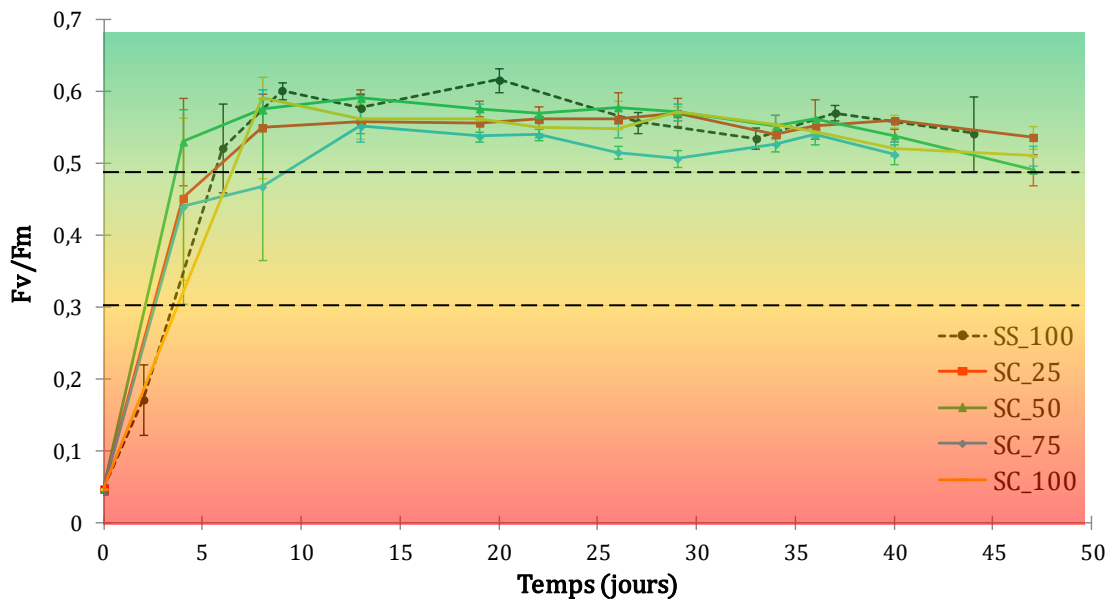


Figure 4-7 : Evolution du rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème ( $F_v/F_m$ ) de la diatomée *C. closterium* sur la face supérieure des éprouvettes de mortier, composées de 0%, 25%, 50%, 75% et 100% de sable calcaire

Quelque soit la composition du substrat, les diatomées s'accliment très rapidement à leur support, dès la première semaine d'immersion. Il est à noter en fin d'expérience une légère diminution des ratios, qui pourrait être lié à un manque de nutriments dans le milieu (Behrenfeld et al., 2004 ; Napoléon et al., 2013).

La présence de sable calcaire semble donc jouer un rôle important quant au mécanisme de colonisation des diatomées. Ce résultat est toutefois surprenant du fait de la nature de l'organisme colonisateur. En effet, d'après (Nelson et al., 1995 ; Sarthou et al., 2005), la diatomée puise des ions silicium dans le milieu où elle se trouve afin de fabriquer ses parois cellulaires (*i. e.* frustule). Ces ions sont disponibles dans le milieu marin artificiel en quantités suffisantes (Atkinson et Bingma, 1997 ; Egge et Aksnes, 1992).

Afin d'évaluer un éventuel impact de la rugosité des différentes formulations, l'état de surface de la face supérieure des éprouvettes a été caractérisé par microscopie numérique. Les résultats sont regroupés dans le Tableau 4-2.

Formulation	Ra ( $\mu\text{m}$ )
SC_00	$84 \pm 20$
SC_25	$90 \pm 27$
SC_50	$83 \pm 17$
SC_75	$103 \pm 24$
SC_100	$103 \pm 23$

Tableau 4-2 : Rugosités des surfaces des éprouvettes de mortier, mesurées par microscopie numérique



La rugosité des surfaces est relativement proche entre toutes les formulations, indiquant que l'état des surfaces n'influence pas la colonisation des éprouvettes de mortier.

La présence de carbonate de calcium dans les éprouvettes semble donc favoriser le développement des diatomées sur les éprouvettes. Différentes hypothèses pourraient expliquer cette observation.

#### Hypothèse 1 :

Dans la littérature, il est mentionné qu'une infime partie du carbonate de calcium, présent sous forme d'agrégats, peut réagir avec les  $C_3A$  présents dans le ciment Portland lors de la phase d'hydratation de ce dernier, pour former du carboaluminate de calcium (Ingram et Daugherty, 1991 ; Hewlett, 1998). Cet hydrate se trouve alors dans la phase cimentaire et est sujet à être lixivié lors de l'immersion des éprouvettes de mortier dans le milieu marin artificiel. La concentration en ions calcium devient plus importante dans les éprouvettes fabriquées avec du sable calcaire que celles fabriquées sans. D'après (He et al., 2016), la présence de cations divalents, tels que les ions calcium ou magnésium, améliore la floculation des micro-organismes. Des interactions électrostatiques existent alors entre le biofilm (molécules chargées négativement) et ces ions, chargés positivement. Le développement plus important de biomasse observé à la surface des éprouvettes de mortier contenant du sable calcaire pourrait donc être lié à la réactivité d'une faible partie du sable calcaire, composé majoritairement de carbonate de calcium, avec le ciment Portland utilisé. Les ions calcium lixiviés participerait alors à améliorer la stabilité du biofilm de diatomées et leur permettrait un développement plus important. La quantité de biomasse  $F_0$  n'évolue pas selon les taux de substitution de sable siliceux par du sable calcaire. Cela pourrait être dû à la faible quantité de carbonate de calcium qui peut réagir avec le ciment Portland (Ingram et Daugherty, 1991). L'augmentation de la quantité de sable calcaire ne permet pas de faire réagir plus de carbonate de calcium car la quantité de ciment reste la même dans toutes les formulations.

#### Hypothèse 2 :

Les diatomées, pourraient également intervenir dans la dissolution du carbonate de calcium présent dans les grains de sable calcaire (Bodén, 1988). Les ions calcium libérés deviennent alors davantage disponibles pour interagir avec le biofilm selon l'hypothèse exposée précédemment.

### **1.2. Suivi de la composition chimique du matériau**

La composition chimique des quatre formulations a été suivie à trois différentes profondeurs (0 – 2 mm, 2 – 4 mm et 4 – 6 mm) par analyses de chromatographie ionique, analyses thermogravimétriques et mesures de pH, selon les protocoles détaillés dans le chapitre 2. Les résultats obtenus sont présentés dans les parties suivantes.

Concernant l'analyse du matériau cimentaire par chromatographie ionique, les résultats seront présentés en pourcentage de présence. Ce pourcentage est calculé selon l'équation 4 - 1 :

$$\text{Pourcentage de présence ion} = \frac{[ion]_{x \text{ semaines, matériau}}}{[ion]_{\text{avant immersion, matériau}}} \times 100 \quad \text{Equation 4 - 1}$$

Avec  $[ion]_{x \text{ semaines, matériau}}$  la concentration de l'ion analysé en g/L dans 1 gramme de matériau à  $x = 2, 4, 6$  semaines et  $[ion]_{\text{avant immersion, matériau}}$  la concentration de l'ion analysé en g/L dans 1 gramme de matériau avant immersion.

Les concentrations initiales des ions dans le matériau cimentaire avant immersion sont placées en ANNEXE E.

### 1.2.1. Chlorures

Les résultats obtenus après analyse par chromatographie ionique de la poudre de mortier, obtenue à trois différentes profondeurs, est présentée dans la Figure 4-8 (SC\_25), la Figure 4-9 (SC\_50), la Figure 4-10 (SC\_75) et la Figure 4-11 (SC\_100).

La présence en ions chlorure est plus importante lorsque le matériau est en présence de biofilm (Figure 4-8, Figure 4-9, Figure 4-10, Figure 4-11). Il serait possible de penser que l'action des diatomées sur le matériau cimentaire mène à la création de microréseaux au sein de celui-ci, favorisant la pénétration des ions chlorure par rapport à un mortier immergé en eau salée (Bodén, 1988).

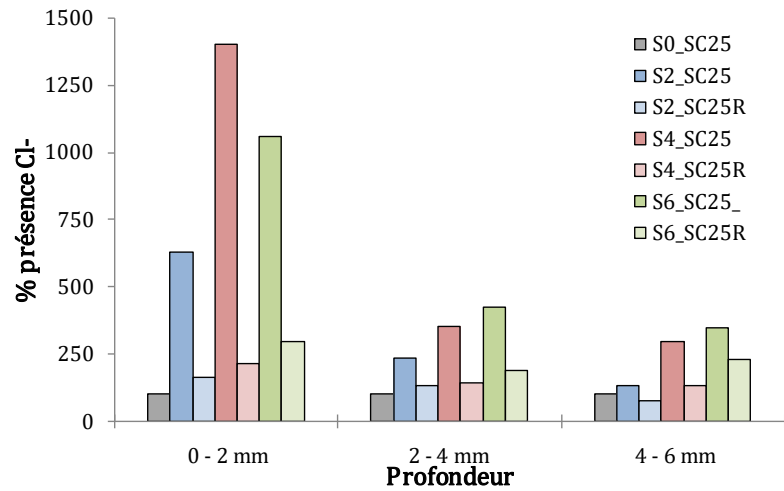


Figure 4-8 : Evolution de la présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire SC\_25, selon trois profondeurs, dans le temps

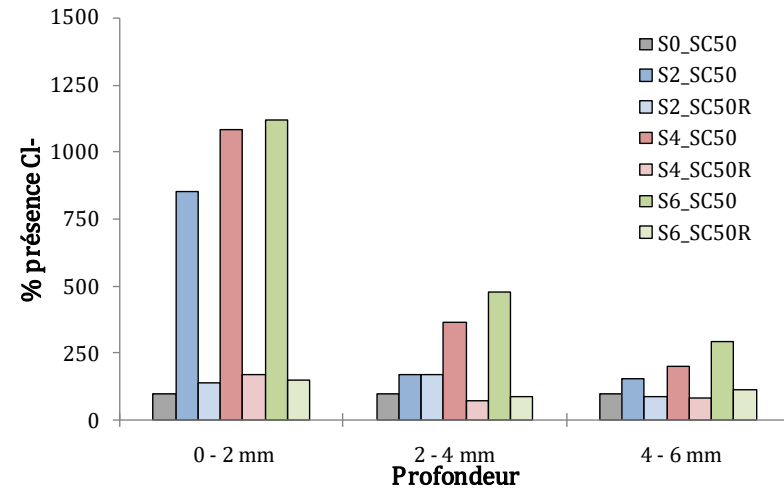


Figure 4-9 : Evolution de la présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire SC\_50, selon trois profondeurs, dans le temps

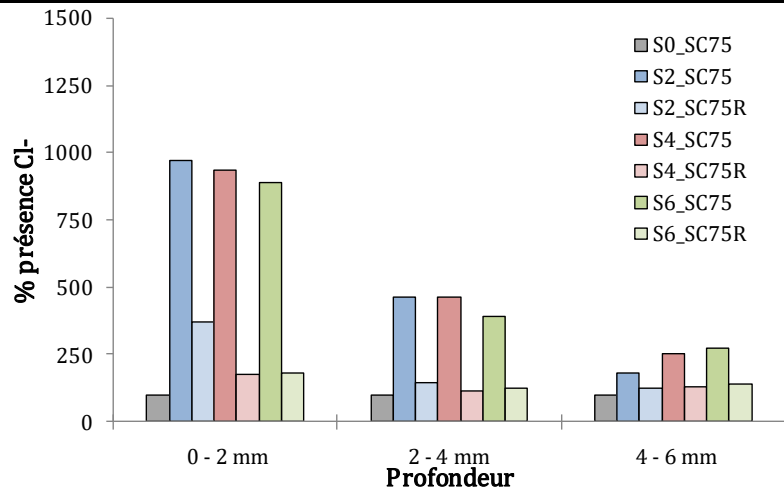


Figure 4-10 : Evolution de la présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire SC\_75, selon trois profondeurs, dans le temps

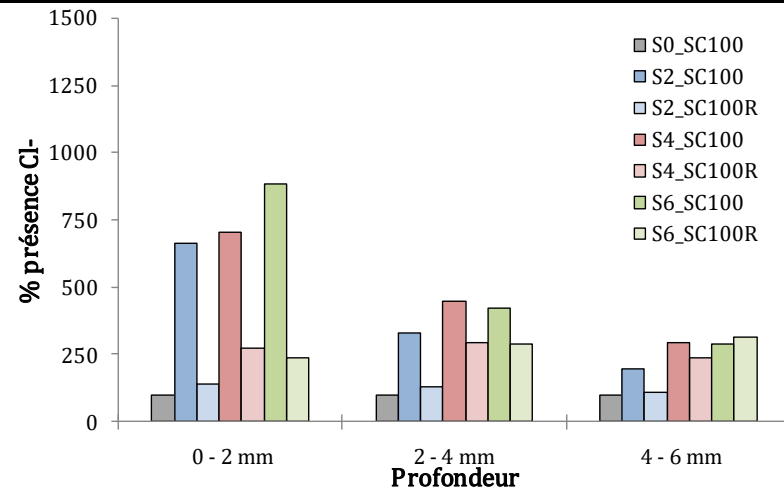


Figure 4-11 : Evolution de la présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire SC\_100, selon trois profondeurs, dans le temps

Après deux semaines d'immersion en milieu marin artificiel (couleur bleu sur les graphiques), la pénétration des ions chlorure est déjà plus importante en présence de biofilm sur le matériau, quelque soit sa formulation. Cette observation est visible à des profondeurs plus importantes et est accentuée dans le temps. D'une façon générale, la présence d'un biofilm de diatomées *Cylindrotheca closterium* semble améliorer la pénétration des ions chlorures dans le matériau cimentaire.

Il est également intéressant d'évaluer le pourcentage de présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire, selon la composition de ce dernier. La Figure 4-12 présente le pourcentage d'ions chlorure présents dans la couche de mortier à une profondeur de 0 – 2 mm, à différentes échéances.

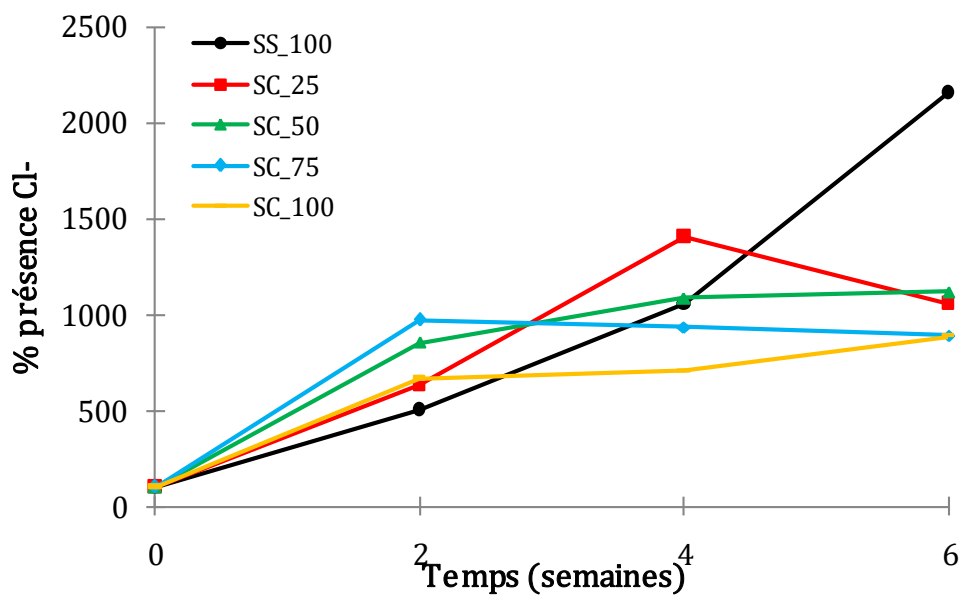


Figure 4-12 : Pourcentage de présence de l'ion chlorure selon la quantité de sable calcaire présent dans le matériau cimentaire, à différentes échéances (0, 2, 4 et 6 semaines d'immersion) à une profondeur de 0 – 2 mm.

Il semble se dégager que le sable calcaire a un impact sur la présence des ions chlorure dans la première couche de matériau. En effet, plus la présence en sable calcaire dans le matériau augmente, moins les ions chlorure sont présents, après six semaines d'immersion. Le biofilm étant plus important dans le cas des éprouvettes de mortier fabriquées avec du sable calcaire (Figure 4-6), il pourrait alors jouer un rôle de protection physique du matériau par rapport à la pénétration des ions présents dans l'eau de mer, malgré le coefficient de diffusion existant entre le milieu marin artificiel et le matériau.

La présence des ions chlorure a également été mesurée à des profondeurs plus importantes (2 – 4 mm et 4 – 6 mm) ; il n'existe pas de différences flagrantes entre les différentes formulations.

### 1.2.2. Sulfates

Les Figure 4-13, Figure 4-14, Figure 4-15 et Figure 4-16 illustrent l'évolution des concentrations en ions sulfate au sein des matériaux formulés (respectivement SC\_25, SC\_50, SC\_75 et SC\_100) aux trois profondeurs d'étude.

Dans le chapitre précédent, il a été observé que la présence des ions sulfate évolue de la même façon que celle des ions chlorure. La présence de biofilm de diatomées *Cylindrotheca closterium* à la surface des éprouvettes de mortier permettrait une pénétration des ions sulfates plus importantes dans le matériau formulé avec du sable siliceux. La tendance observée dans le chapitre précédent est également observée dans le cas de mortiers formulés avec du sable calcaire.

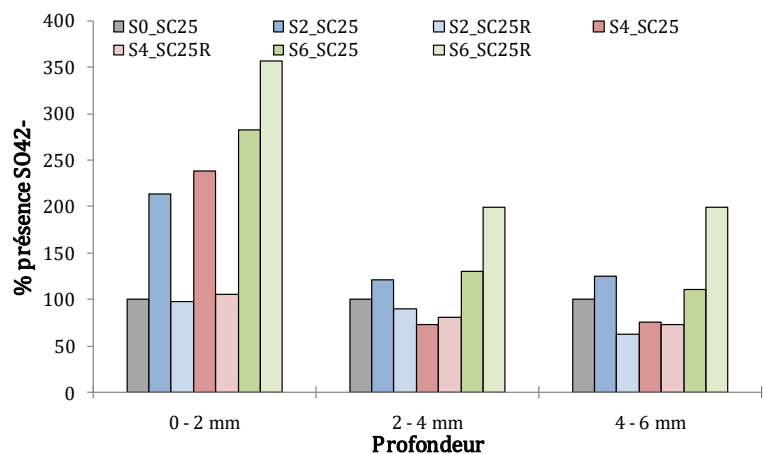


Figure 4-13 : Evolution de la présence des ions sulfate dans le matériau cimentaire SC\_25, selon trois profondeurs, dans le temps

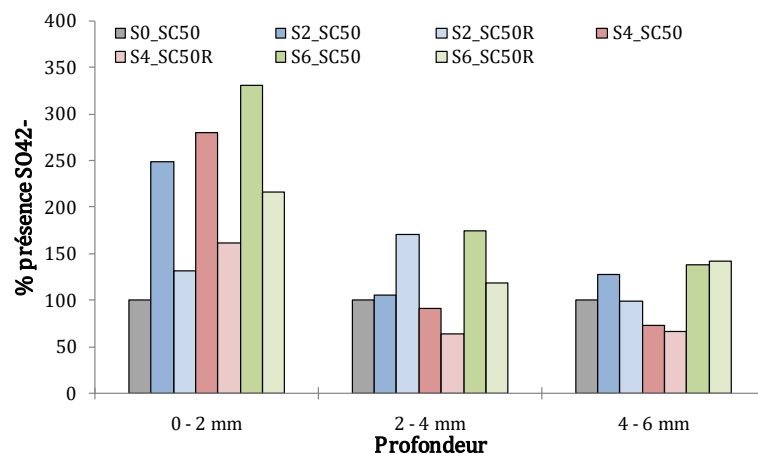


Figure 4-14 : Evolution de la présence des ions sulfate dans le matériau cimentaire SC\_50, selon trois profondeurs, dans le temps

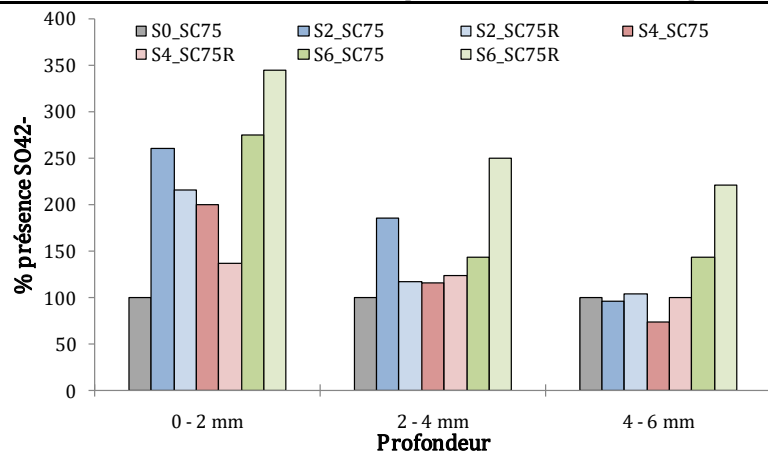


Figure 4-15 : Evolution de la présence des ions sulfate dans le matériau cimentaire SC\_75, selon trois profondeurs, dans le temps

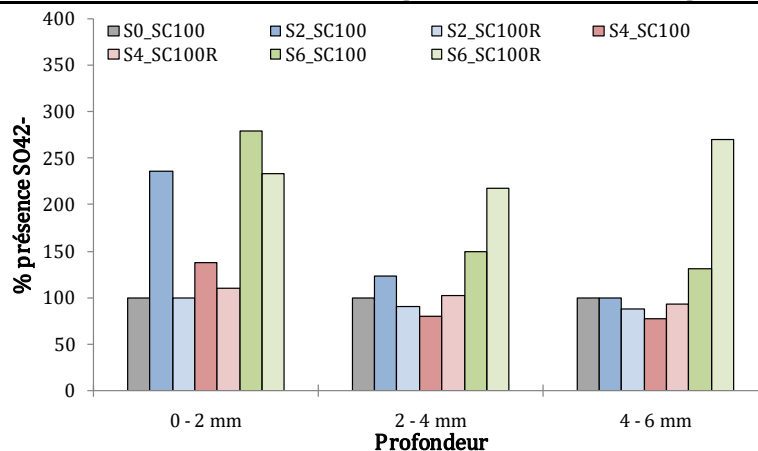


Figure 4-16 : Evolution de la présence des ions sulfate dans le matériau cimentaire SC\_100, selon trois profondeurs, dans le temps

La Figure 4-17 présente l'évolution du pourcentage de présence des ions sulfate durant le temps de l'expérience, dans la première couche (0 – 2 mm) de chaque formulation étudiée.

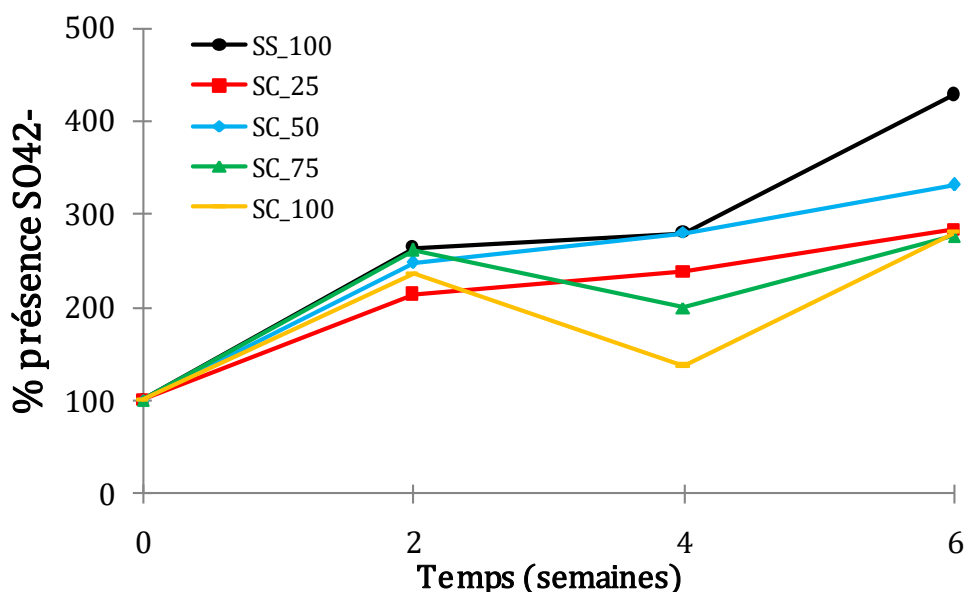


Figure 4-17 : Evolution du pourcentage de présence des ions sulfate dans le temps, pour chaque formulation à une profondeur de 0 – 2 mm

Il semble que la présence de carbonate de calcium joue un rôle important dans la pénétration des ions sulfate. En effet, plus la quantité de sable calcaire augmente dans le matériau, plus le pourcentage de présence des ions sulfate dans le matériau diminue. De la même façon que pour les ions chlorure, le biofilm pourrait jouer un rôle de barrière physique vis-à-vis des ions sulfate, en raison de la forte densité de celui-ci à la surface des éprouvettes.

### 1.2.3. Calcium

Dans le chapitre 3, une évolution intéressante de la quantité d'ions calcium présents dans le matériau a été observée.

Afin de mieux connaître la composition du matériau, les échantillons de mortier ont été analysés par ATG, selon le mode opératoire présenté dans le chapitre 2, après deux, quatre et six semaines d'immersion. La composition du matériau a été évaluée à trois profondeurs différentes (0 – 2 mm, 2 – 4 mm et 4 – 6 mm).

La Figure 4-18 présente un des graphiques obtenu à la suite de cette manipulation. Cinq courbes ont été superposées, correspondant aux cinq formulations immergées pendant deux semaines dans l'eau de mer artificielle.

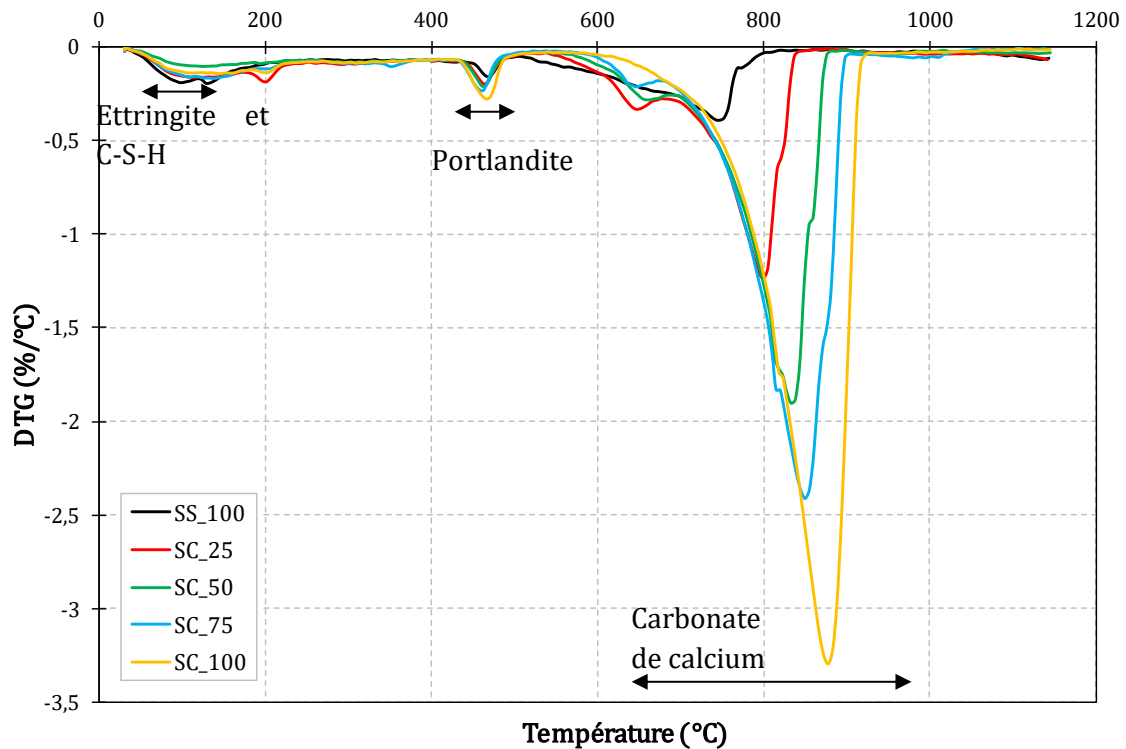


Figure 4-18 : DTG (%/°C) de cinq formulations de mortier (SS\_100, SC\_25, SC\_50, SC\_75, SC\_100) à une profondeur de 0 – 2 mm après deux semaines d'immersion en milieu marin artificiel

La quantité de carbonate de calcium est de plus en plus importante dans les échantillons, mettant en évidence les substitutions de plus en plus élevées de sable siliceux par le sable calcaire.

L'évolution des quantités de portlandite et de carbonate de calcium va être détaillée dans la suite de ce chapitre.

### 1.2.3.1. Portlandite

L'évolution de la quantité de portlandite à une profondeur de 0 – 2 mm est présentée dans les Figure 4-19 à Figure 4-23. Les résultats sont présentés en pourcentage par rapport à la masse de l'échantillon qui a été analysée. La Figure 4-24 place dans un même graphique l'évolution de la quantité de portlandite dans les cinq matériaux immergés en présence de biofilm.

Au travers de ces différents graphiques, plusieurs observations peuvent être effectuées. Tout d'abord, la lixiviation de la portlandite s'effectue de façon plus importante sur des échantillons de mortier immergés en milieu marin artificiel que ceux immergés en eau salée, et ce quelque soit la formulation de ces éprouvettes. La présence du biofilm à la surface du matériau accélérerait la lixiviation du matériau cimentaire. Cela pourrait être lié à l'activité des diatomées qui tend à dissoudre la pâte cimentaire (Bodén, 1988) et/ou à des conditions de pH plus favorables à la dissolution de la portlandite. Cette hypothèse sera détaillée par la suite.



De plus, plus la quantité de calcaire augmente dans le matériau, plus la quantité de portlandite augmente au cours des deux premières semaines d'immersion (Figure 4-24). Après six semaines d'immersion, la portlandite est plus présente dans le mortier contenant 100% de sable calcaire que dans celui composé de 100% de sable siliceux.

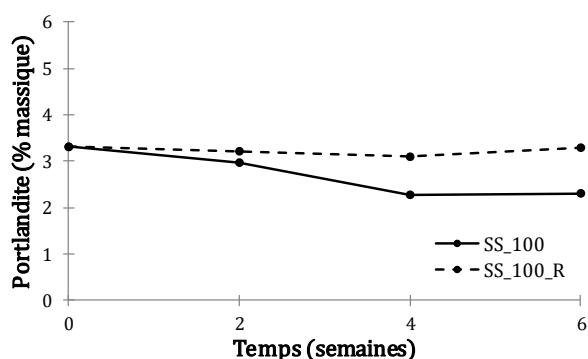


Figure 4-19 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les mortiers SS\_100 à une profondeur de 0 - 2 mm

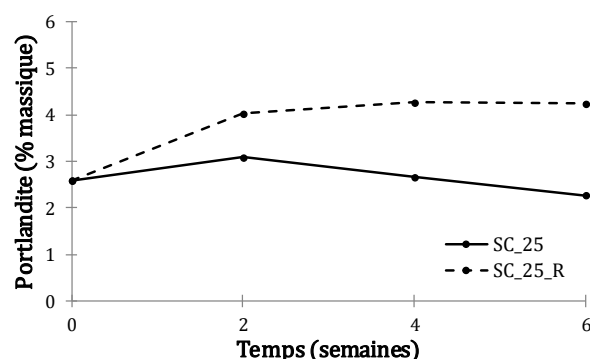


Figure 4-20 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les mortiers SC\_25 à une profondeur de 0 - 2 mm

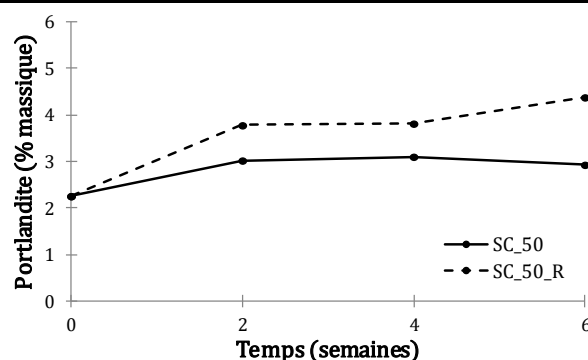


Figure 4-21 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les mortiers SC\_50 à une profondeur de 0 - 2 mm

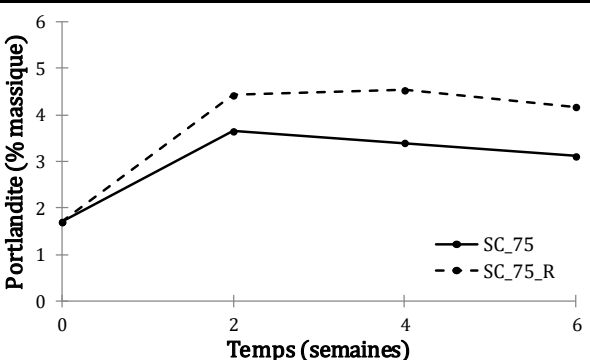


Figure 4-22 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les mortiers SC\_75 à une profondeur de 0 - 2 mm

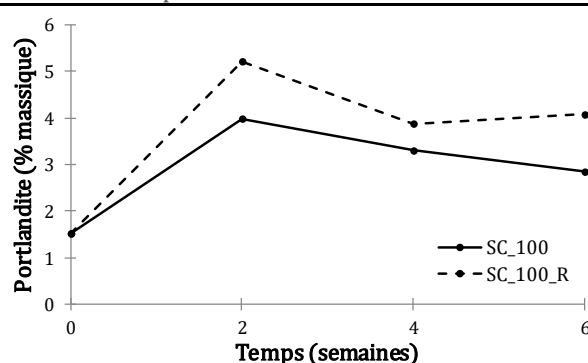


Figure 4-23 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les mortiers SC\_100 à une profondeur de 0 - 2 mm

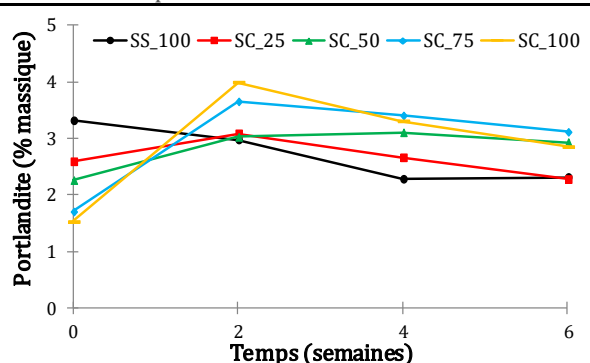


Figure 4-24 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les cinq mortiers, en présence de biofilm à une profondeur de 0 - 2 mm

Les quantités de portlandite aux profondeurs de 2 - 4 mm et 4 - 6 mm n'ont pas été analysées. Il n'existe pas de différences flagrantes dans l'évolution des compositions entre les différentes formulations et entre les deux milieux d'immersion (Figure 4-25), comme cela a été mentionné par (Lors et al., 2017).

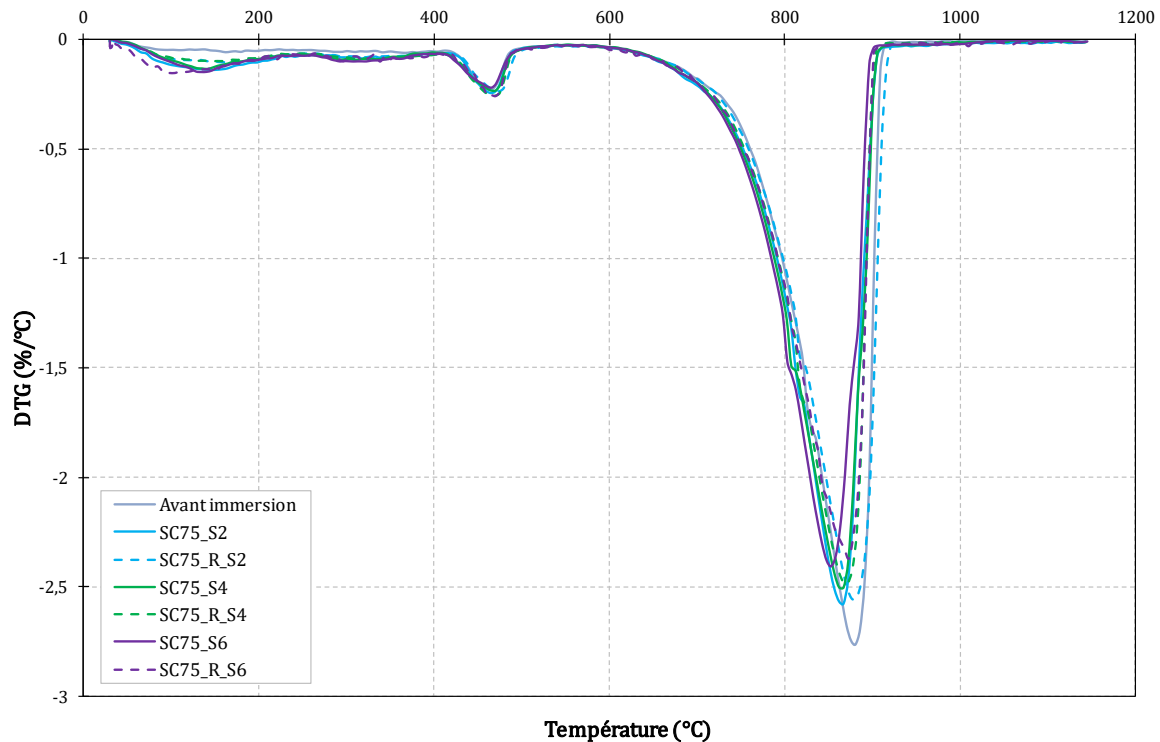


Figure 4-25 : DTG (%/°C) de mortier constitué de 75% de sable calcaire dans le temps, à une profondeur de 2 – 4 mm après deux, quatre et six semaines d'immersion

### 1.2.3.2. Carbonate de calcium

La formation de carbonate de calcium est attribuée au phénomène de carbonatation ayant lieu à la surface du matériau cimentaire. Ce phénomène est sévère lorsque le matériau est soumis à une humidité relative proche de 60% (Chapitre 1). En revanche, quand ce dernier est complètement immergé, la carbonatation se fait beaucoup plus lentement. Le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) sous forme dissoute en milieu aqueux aéré peut cependant s'infiltrer dans les réseaux poreux du matériau cimentaire, pour se transformer en ions carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) du fait du pH élevé de la matrice cimentaire (Villain et al., 2007). Ces derniers peuvent ensuite réagir avec les ions calcium présents dans la matrice cimentaire selon la réaction 4 – 1 :



Par ATG, il est possible de détecter la présence de carbonate de calcium dans la zone de température de 500 à 1000 °C (Figure 4-18). Comme cela a été mentionné dans le chapitre 3, plusieurs pics peuvent être observés (Figure 4-26), correspondent à différents polymorphes du carbonate de calcium : aragonite, vaterite et calcite (Morandeu et al., 2014 ; Villain et al., 2007).

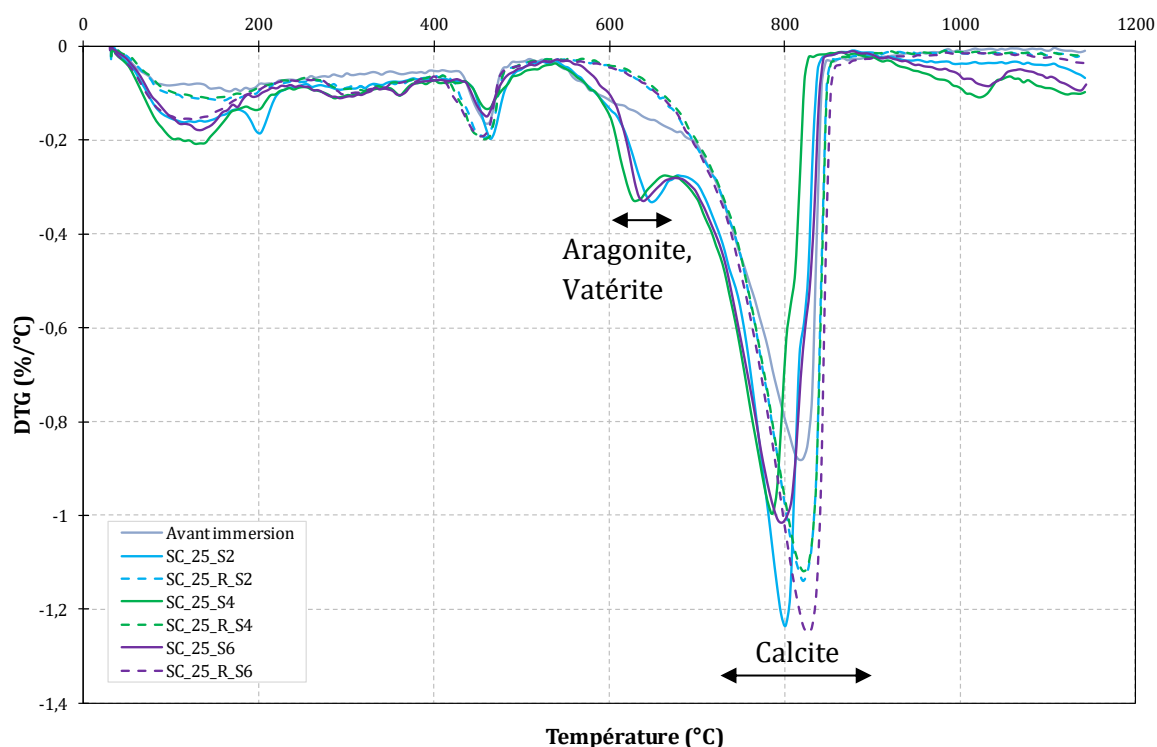


Figure 4-26 : DTG (%/°C) d'un échantillon de mortier SC\_25 à une profondeur de 0 - 2 mm dans le temps

Plusieurs hypothèses existent concernant l'apparition de ces deux polymorphes du carbonate de calcium, hypothèses de nature chimique ou biologique (Drouet, 2010 ; Morandeau et al., 2014). Ici, l'apparition de ce deuxième pic coïncide avec le développement du biofilm sur le mortier, laissant penser que l'action des diatomées a un effet sur la création de ces deux espèces.

La délimitation entre les pics correspondant à la calcite et ceux correspondant à la vatérite et l'aragonite n'étant pas assez claire dans les résultats obtenus, l'évolution du carbonate de calcium dans son ensemble sera discutée par la suite. A partir des analyses effectuées par thermogravimétrie, il a été possible de déterminer, pour chaque formulation à une profondeur de 0 - 2 mm, la quantité de carbonate de calcium dans le temps (Figure 4-27).

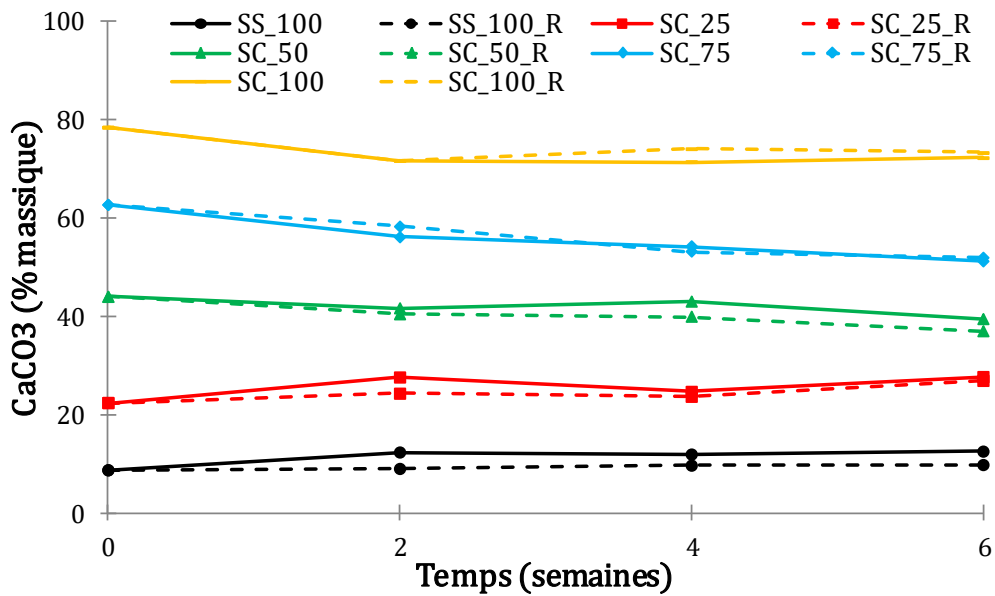


Figure 4-27 : Evolution du carbonate de calcium (% massique) dans les mortiers contenant 25%, 50%, 75% et 100% de sable calcaire et 100% de sable siliceux, à une profondeur de 0 - 2 mm, après deux, quatre et six semaines d'immersion

Les formulations contenant 25% et 50% de sable calcaire et immergées en milieu marin artificiel montrent une quantité de carbonate de calcium supérieure à celle créée à la surface d'échantillons immergés en eau salée. Les formulations contenant 75% et 100% de sable calcaire, ont, quant à elles, une quantité en carbonate de calcium presque égale à leur référence, quelque soit le milieu dans lequel les éprouvettes sont immergées.

En milieu marin artificiel, deux réactions entrent en compétition concernant la consommation du dioxyde de carbone : la réaction de photosynthèse, nécessaire au développement des diatomées et la réaction de carbonatation. Comme cela a été montré dans la Figure 4-7, les diatomées sont dans un excellent état physiologique tout au long de l'expérience. Elles ne sont donc pas en manque de nutriments et consomment tout le dioxyde de carbone qui leur est nécessaire. Le dioxyde de carbone restant réagit quant à lui avec les ions calcium disponibles pour former du carbonate de calcium. En milieu d'eau salée, seule la réaction de carbonatation a lieu. Il aurait donc été attendu d'observer une quantité de carbonate de calcium supérieure en eau salée qu'en milieu marin artificiel en raison de la plus grande disponibilité du dioxyde de carbone dissous pour réagir avec la matrice cimentaire.

Une explication possible serait la création d'un tampon pH à l'interface entre le matériau et le biofilm, reproduisant des conditions idéales pour permettre au biofilm de se développer (Costerton et al., 1995). Le dioxyde de carbone consommé par les cellules serait non pas celui apporté par le bullage d'air mais celui obtenu par dissolution progressive des grains de sable calcaire par les diatomées dans des conditions de pH favorables à la création de dioxyde de carbone. Le dioxyde de carbone apporté par bullage pourrait alors entièrement réagir avec la matrice cimentaire, expliquant la quantité de

carbonate de calcium plus importante à la surface des éprouvettes de mortier immergées en milieu marin artificiel.

En plus de cet effet, il est aussi nécessaire de prendre en compte le cycle de photosynthèse/respiration des diatomées. En effet, en l'absence de lumière (nuit), les diatomées consomment du dioxygène et créent du dioxyde de carbone, qui peut réagir avec la matrice cimentaire, augmentant la quantité de carbonate de calcium. La consommation du dioxyde de carbone en « mode nuit » devrait théoriquement diminuer le pH à l'interface matériau cimentaire-biofilm, mais du fait de la création d'un tampon pH, ce dernier n'évolue pas.

#### 1.2.4. Variation du pH des formulations

Le pH du matériau a été mesuré à différentes profondeurs, selon le mode opératoire présenté dans le chapitre 2. Les valeurs obtenues sont présentées dans la Figure 4-28 (0 – 2 mm), la Figure 4-29 (2 – 4 mm) et la Figure 4-30 (4 – 6 mm).

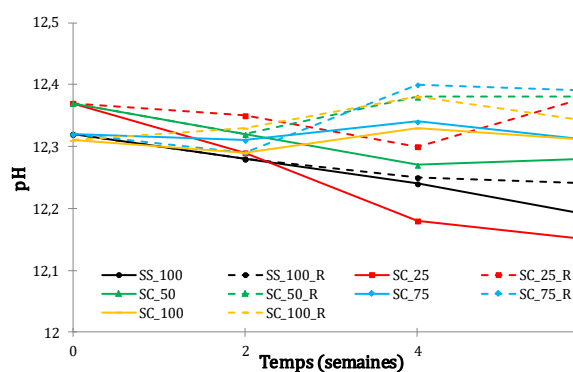


Figure 4-28 : Valeurs du pH pour les formulations SS\_100, SC\_25, SC\_50, SC\_75 et SC\_100 à une profondeur de 0 – 2 mm

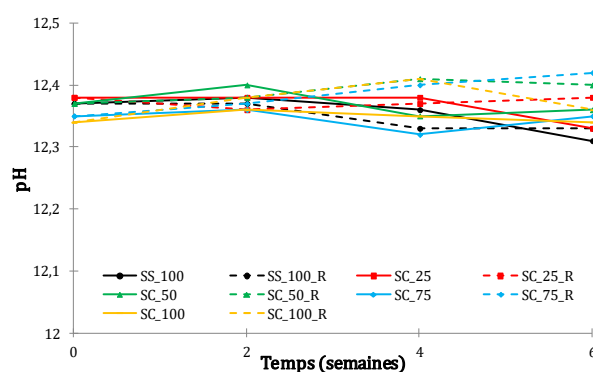


Figure 4-29 : Valeurs du pH pour les formulations SS\_100, SC\_25, SC\_50, SC\_75 et SC\_100 à une profondeur de 2 – 4 mm

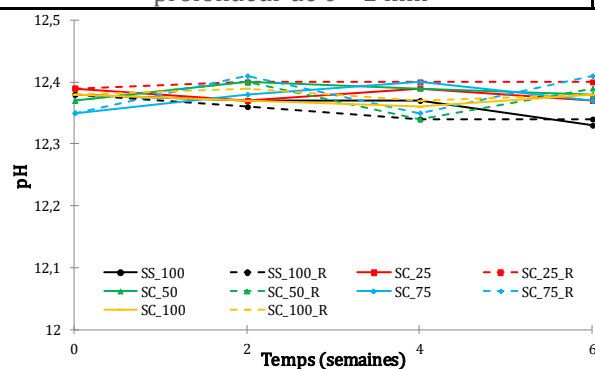


Figure 4-30 : Valeurs du pH pour les formulations SS\_100, SC\_25, SC\_50, SC\_75 et SC\_100 à une profondeur de 4 – 6 mm

Les fluctuations de pH sont à analyser avec précaution dans tous les graphiques. En effet, les variations sont très légères (0,1 à 0,01 unités de pH) durant les six semaines d'immersion.

Concernant les deux premiers millimètres du matériau, lorsque la présence en sable calcaire augmente dans le matériau, le pH de la surface des éprouvettes de mortier évolue

peu et reste relativement stable ( $\sim 12,4$  pour SC\_100). Après six semaines d'immersion, le pH à la surface des éprouvettes de mortier ne contenant pas de sable calcaire chute de 1,40% alors que celui des éprouvettes contenant 100% de sable calcaire reste à sa valeur initiale, malgré une petite fluctuation dans le temps. Les valeurs détaillées pour chaque formulation sont détaillées dans le Tableau 4-3.

Formulation	pH début d'immersion	pH fin d'immersion	$\Delta$ (%)
SS_100	12,32	12,19	-1,40
SC_25	12,37	12,15	-1,45
SC_50	12,37	12,28	-0,73
SC_75	12,32	12,31	-0,08
SC_100	12,31	12,31	0,00

Tableau 4-3 : Valeurs des pH en début et fin d'expérience à la surface (0 – 2 mm) des éprouvettes de mortier selon leur formulation

Il est également visible dans la Figure 4-28 que la présence d'un biofilm sur les éprouvettes, quelque soit leur formulation, abaisse de le pH de la surface. Cette baisse de pH peut être expliquée par le milieu tampon qui se crée progressivement à l'interface matériau cimentaire – biofilm. Les cellules pourraient obtenir plus facilement du dioxyde de carbone pour leur permettre de se développer.

A une profondeur de 2 – 4 mm, le pH reste relativement stable pour toutes les formulations durant les quatre premières semaines d'immersion. En fin d'expérience, une tendance de diminution des valeurs pour les éprouvettes colonisées peut être observée. Le biofilm pourrait avoir pénétré plus profondément dans le matériau.

Enfin, à 4 – 6 mm de profondeur, le pH reste stable pendant toute la durée de l'expérience. Aucune tendance, même en fin d'immersion, n'est observable ; le biofilm n'a pas encore commencé à se développer dans le matériau.

### 1.3. Suivi de la composition chimique du milieu marin artificiel

La composition du milieu marin artificiel et de l'eau salée a été suivie durant toute l'expérience afin de mettre en lumière les échanges entre le matériau cimentaire, le biofilm et le milieu environnant. Tout comme les ions présents dans le matériau cimentaire, la concentration des ions présents dans le milieu marin artificiel est présentée en pourcentage de présence, permettant de s'affranchir des différences de concentration entre chaque bac. Ce pourcentage est calculé selon l'équation 4 - 2 :

$$\begin{aligned} \text{Pourcentage de présence ion} & \qquad \qquad \qquad \text{Equation 4 - 2} \\ &= \frac{[ion]_{x \text{ jours, eau de mer artificielle}}}{[ion]_{0 \text{ jour, eau de mer artificielle}}} \times 100 \end{aligned}$$

Avec  $[ion]_{x \text{ semaines, eau de mer artificielle}}$  la concentration de l'ion analysé en g/L dans l'eau de mer artificielle à  $x = 0, 3, 7, \dots$  jours et  $[ion]_{0 \text{ jour, eau de mer artificielle}}$  la concentration de l'ion analysé en g/L dans l'eau de mer artificielle à 0 jour d'immersion.

### 1.3.1. Nutriments : nitrates

La Figure 4-31 illustre l'évolution de la concentration en ions nitrate au cours de l'expérience dans chacun des bacs d'eau de mer artificielle contenant les différentes formulations. La concentration des ions nitrate dans les bacs au début de l'expérience est d'environ 0,16 g/L.

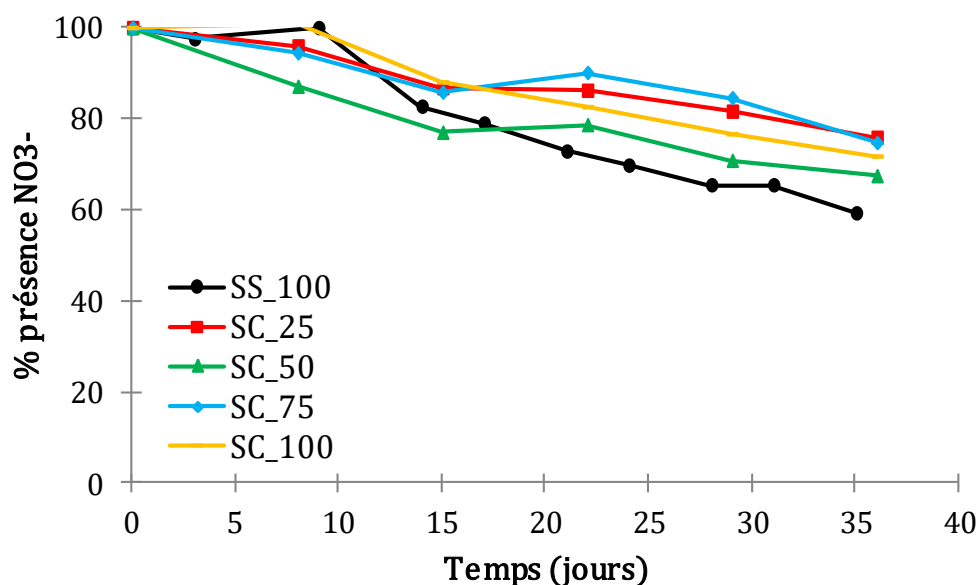


Figure 4-31 : Evolution de la présence des ions nitrates dans chacun des bacs (SS\_100, SC\_25, SC\_50, SC\_75 et SC\_100) durant la manipulation

Le pourcentage des ions nitrate diminue dans chaque bac durant l'expérience. Comme cela a été expliqué dans les chapitres précédents, les ions nitrates sont des nutriments pour la diatomée *Cylindrotheca closterium* et sont donc consommés par ces dernières au cours des manipulations.

### 1.3.2. Ions majeurs en eau de mer

Le pourcentage de présence des ions sodium (Figure 4-32), chlorure (Figure 4-33), sulfate (Figure 4-34) et potassium (Figure 4-35) a été suivie dans le milieu marin artificiel durant toute la durée de l'expérience, dans les différents bacs.

Les concentrations des ions dans chacun des bacs sont dans l'ordre de grandeur des concentrations des ions dans une eau de mer naturelle :

- $[\text{Cl}^-] \sim 19 \text{ g/L}$  ;
- $[\text{Na}^+] \sim 10 \text{ g/L}$  ;
- $[\text{K}^+] \sim 0,3 \text{ g/L}$  ;
- $[\text{SO}_4^{2-}] \sim 3 \text{ g/L}$ .

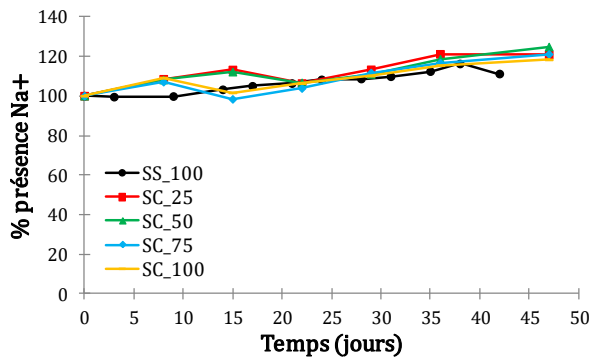


Figure 4-32 : Evolution de la présence des ions sodium en milieu marin artificiel

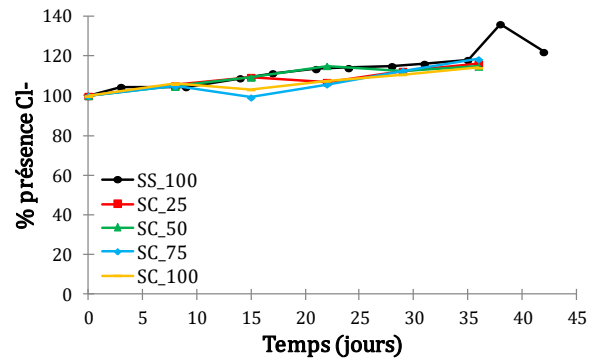


Figure 4-33 : Evolution de la présence des ions chlorure en milieu marin artificiel

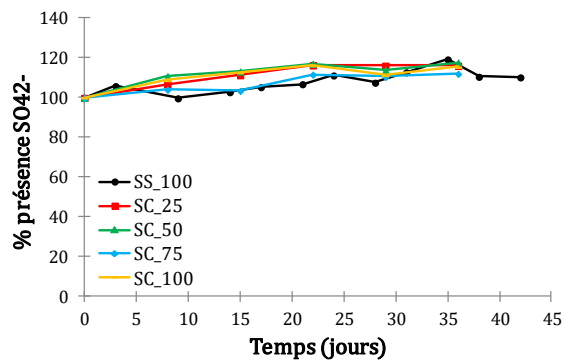


Figure 4-34 : Evolution de la présence des ions sulfate en milieu marin artificiel

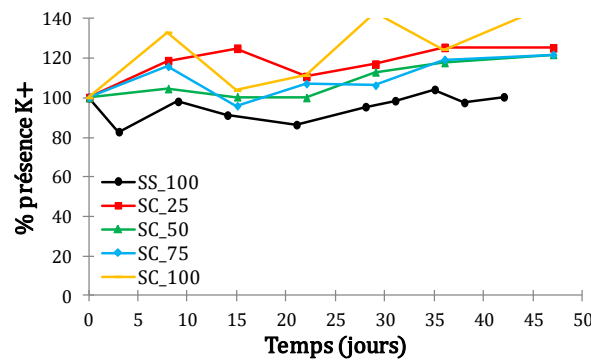


Figure 4-35 : Evolution de la présence des ions potassium en milieu marin artificiel

Une augmentation globale de la présence en chacun des ions durant l'expérience est observée. Ceci pourrait être lié à l'évaporation de l'eau des bacs.

### 1.3.3. Lixiviation : ions calcium

La concentration en ions calcium dans le milieu d'eau de mer artificielle a été évaluée tout au long de l'expérience et est présentée dans la Figure 4-36. La concentration initiale en ions calcium dans les bacs est d'environ 0,4 g/L.



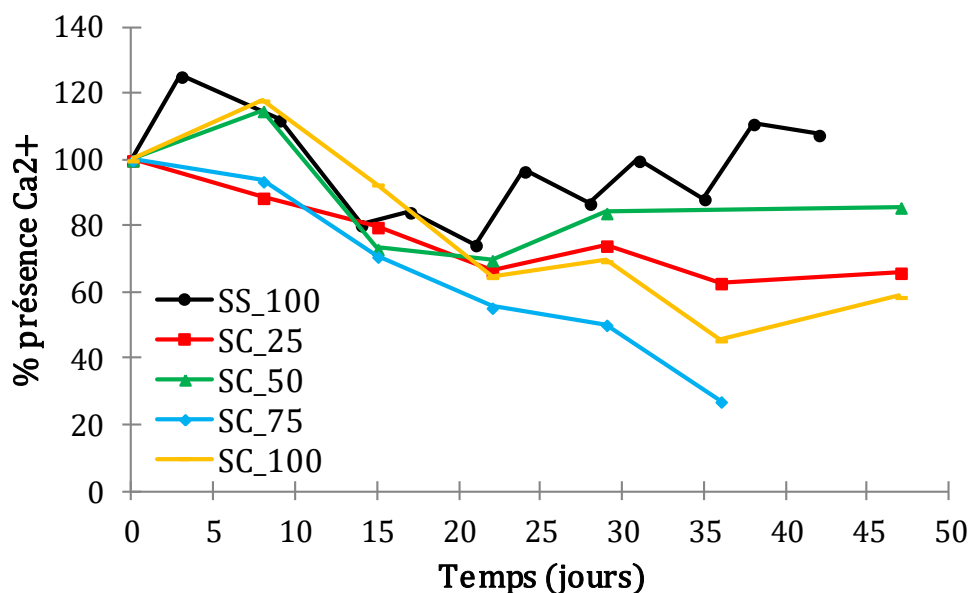


Figure 4-36 : Evolution des pourcentages de présence en ion calcium durant l'expérience d'immersion

La concentration en ions calcium chute dans le milieu marin artificiel, alors qu'une augmentation était attendue, du fait de la lixiviation du matériau durant l'expérience. Les ions calcium présents dans le milieu aqueux pourraient donc, tout comme les ions calcium de la matrice cimentaire étudiés précédemment dans ce chapitre, eux aussi réagir avec les ions carbonate. Cette réaction mènerait alors à la formation de carbonate de calcium.

#### 1.3.4. Variation du pH de l'eau de mer artificielle

Le pH de l'eau de mer artificielle a été mesuré dans chacun des bacs (Figure 4-37 à Figure 4-40).

Le pH de l'eau de mer artificielle de chaque bac augmente de façon prononcée en début d'expérience, en raison de l'activité photosynthétique des diatomées. Par la suite, le pH se stabilise (équilibre entre la photosynthèse et la respiration des microorganismes), puis diminue en fin d'expérience.

Dans chacun des bacs, le pH en eau de mer artificiel est supérieur à celui dans l'eau salée, mettant en évidence le fait que les diatomées jouent un rôle non négligeable par rapport à la lixiviation du matériau, quant à l'évolution du pH du milieu marin.

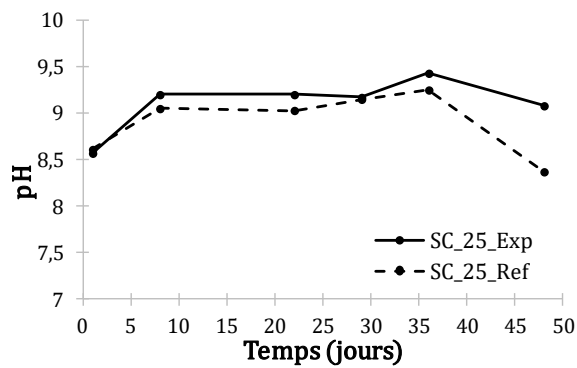


Figure 4-37 : Evolution du pH de l'eau de mer artificielle (SC\_25)

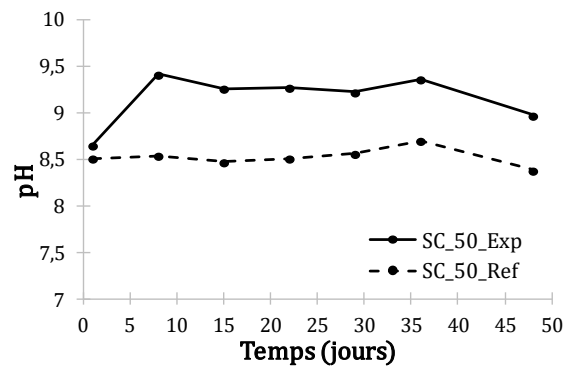


Figure 4-38 : Evolution du pH de l'eau de mer artificielle (SC\_50)

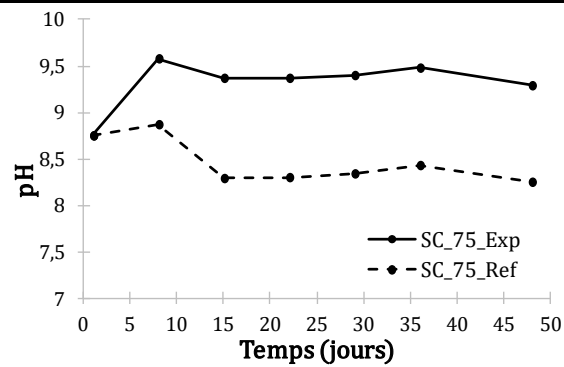


Figure 4-39 : Evolution du pH de l'eau de mer artificielle (SC\_75)

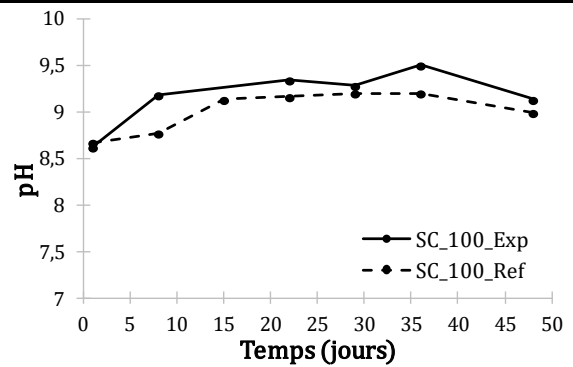


Figure 4-40 : Evolution du pH de l'eau de mer artificielle (SC\_100)

La Figure 4-41 illustre la variation de pH pour tous les bacs contenant les différentes formulations.

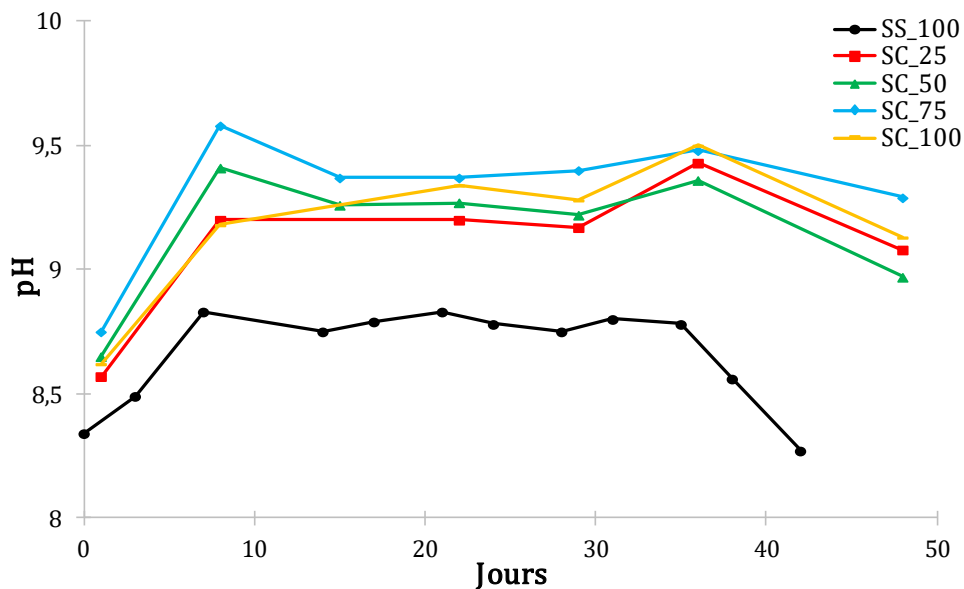


Figure 4-41 : Evolution du pH en milieu marin artificiel durant l'expérience, selon la composition du mortier

De façon générale, le pH de l'eau de mer est plus élevé dans le cas des formulations avec du sable calcaire. Cela pourrait être lié à la quantité de biomasse plus importante qui se

développe à la surface des éprouvettes (Figure 4-6). En effet, la consommation en dioxyde de carbone est plus importante ce qui mène à une augmentation plus forte du pH de la solution.

## 1.4. CONCLUSIONS

Cinq formulations contenant différents dosages en sable calcaire, ont été immergées en milieu marin artificiel. La colonisation et la biodétérioration des matériaux ont été suivies et caractérisées au moyen de différents outils et méthodes présentés dans les chapitres précédents.

La présence de sable calcaire dans le matériau semble permettre un développement plus important de la diatomée *Cylindrotheca closterium* (Figure 4-6). Ce développement plus important est également noté au niveau du pH de l'eau de mer artificielle puisqu'il est observé une hausse plus conséquente du pH (Figure 4-41) en raison de l'activité photosynthétique des cellules.

La chimie des carbonates entre eau de mer et matériau cimentaire est relativement complexe à comprendre en raison d'un certains nombres de réactions de nature chimique et biologique mis en jeu entre le sable calcaire et le milieu environnant. Plusieurs observations ont toutefois été effectuées dans cette étude et quelques hypothèses émises. Lorsque les éprouvettes de mortier sont recouvertes de biofilm, il est noté une lixiviation plus importante de la portlandite (Figure 4-19 à Figure 4-23) ainsi qu'une précipitation plus forte de carbonate de calcium (Figure 4-27). Plusieurs hypothèses pourraient expliquer ces phénomènes, comme la dissolution des grains de sable calcaire et de la matrice cimentaire par les diatomées, la création d'un tampon pH à l'interface entre le matériau et le biofilm ou encore, pour la carbonatation, la compétition entre carbonatation et photosynthèse concernant l'accès au dioxyde de carbone, indispensable dans ces deux cas. Malgré la dissolution plus conséquente de la portlandite en présence de biofilm, la concentration en ions calcium dans le milieu marin artificiel chute tout au long de l'expérience (Figure 4-36). Les ions calcium présents dans l'eau de mer pourraient eux aussi réagir avec le dioxyde de carbone dissous pour former du carbonate de calcium ou alors entrer en interactions avec le biofilm, afin de lui apporter plus de stabilité.

La présence importante de biofilm à la surface des éprouvettes empêcherait les ions chlorure et sulfate de pénétrer autant que ce qui a été observé dans le chapitre 3. En effet, le biofilm, plus dense, jouerait un rôle de barrière vis-à-vis des ions présents dans le milieu marin artificiel, et malgré le coefficient de diffusion existant. Cependant, il est quand même observé que la présence de biofilm sur les matériaux améliore la pénétration des ions chlorure au sein de ceux-ci (Figure 4-9 à Figure 4-12). La création d'un microréseau par le biofilm au sein du matériau faciliterait tout de même la progression des ions, par rapport à un matériau immergé sans présence de microorganismes.

## 2. IMPACT DE LA COMPOSITION DE L'EAU DE GACHAGE

Dans cette deuxième partie, l'impact de la composition de la phase liquide sur la colonisation va être étudié. Il a été montré que les diatomées *Cylindrotheca closterium* consomment, pour se développer, des ions nitrate. Elles trouvent ces ions nitrate dans le milieu marin artificiel grâce à l'ajout de la solution nutritive qu'est le milieu de Conway. Dans le but d'évaluer l'effet de leur présence sur la colonisation puis la biodétérioration du matériau, les nutriments ont donc été incorporés dans la matrice cimentaire au moment de la confection des éprouvettes de mortier (chapitre 2).

### 2.1. Effet de la formulation sur la colonisation

Comme cela a été mentionné dans le chapitre 2, les éprouvettes de mortier ont été formulées avec une eau de gâchage ayant une concentration en ions nitrate de 500 mg/L ainsi que du sable siliceux. La colonisation a uniquement été suivie par fluorimétrie sur la face supérieure des éprouvettes. Les éprouvettes ont été suivies par prise régulière de photographie de la surface, cet outil servira pour illustrer certains propos mais ne sera pas utilisé comme outil de caractérisation.

La Figure 4-42 présente donc les résultats du suivi fluorimétrique de la surface des éprouvettes de mortier avec et sans nitrate, effectué à échéances régulières.

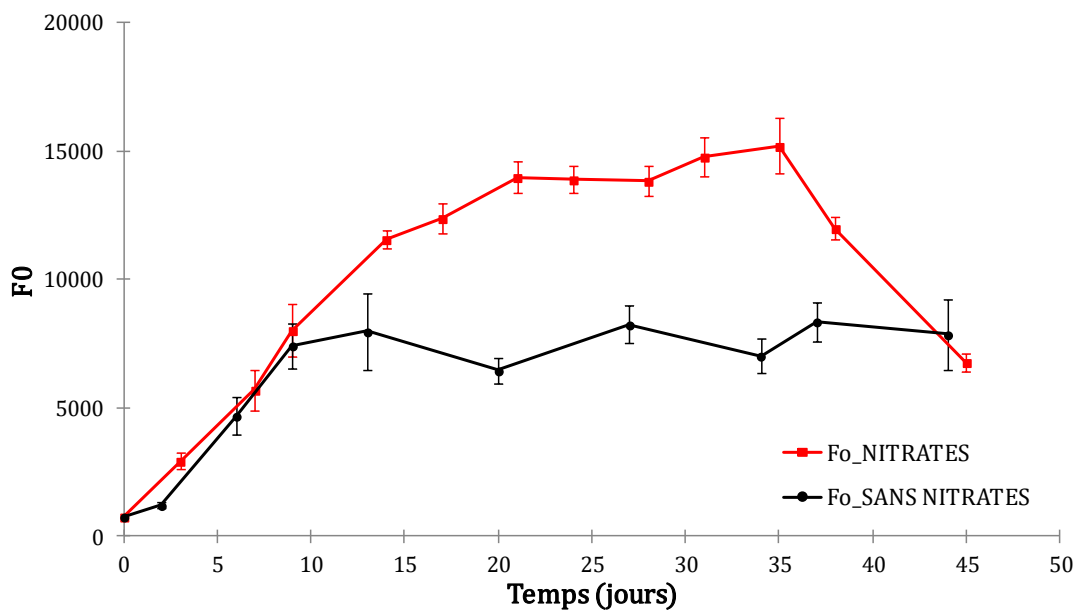


Figure 4-42 : Suivi fluorimétrique de la surface des éprouvettes de mortier avec et sans nitrates dans la formulation

Deux phases de colonisation sur les mortiers formulés avec de l'eau de gâchage enrichie en ions nitrate se distinguent. La première, ayant lieu dès l'immersion des éprouvettes jusqu'au 35<sup>ème</sup> jour d'expérience (15 201 u. a.) correspond au recouvrement du matériau cimentaire par les diatomées. La deuxième, nettement visible, du 35<sup>ème</sup> jour jusqu'à la fin de l'expérience met en évidence une chute marquée de la biomasse à la surface des éprouvettes.

La quantité de biomasse sur les éprouvettes avec nitrates atteint des valeurs presque deux fois plus importante que sur des mortiers normalisés. La présence de nutriments dans la matrice cimentaire étant l'unique différence existante entre les deux formulations, il semble que les ions nitrate améliorent la colonisation des échantillons.

Le détachement très important du biofilm pourrait être lié à plusieurs faits lors de la manipulation. Tout d'abord, comme cela a été montré précédemment, une fois avoir atteint un maximum de quantité de biomasse à la surface des éprouvettes, le biofilm se détache naturellement afin de renouveler les cellules présentes. Ce détachement, après 35 jours de présence sur les éprouvettes de mortier, peut avoir logiquement commencé. De plus, lors du suivi à effectuer au 38<sup>ème</sup> jour d'immersion, il a été observé une coupure d'électricité dans la salle où prenaient part les manipulations. Cette dernière, d'une durée inconnue (au maximum quatre jours), a impacté la santé physiologique des cellules (Figure 4-43). En effet, les cellules s'acclimatent tout d'abord extrêmement rapidement et très bien à leur nouveau support dès la première prise de valeurs au 2<sup>ème</sup> jour d'immersion. Malgré une petite fluctuation durant la manipulation, les valeurs du ratio Fv/Fm restent toujours supérieures à 0,5. En revanche, au 38<sup>ème</sup> jour d'immersion, une chute importante de la valeur du ratio est observée, faisant passer ce dernier de 0,524 au 35<sup>ème</sup> jour à 0,145 au 38<sup>ème</sup> jour.

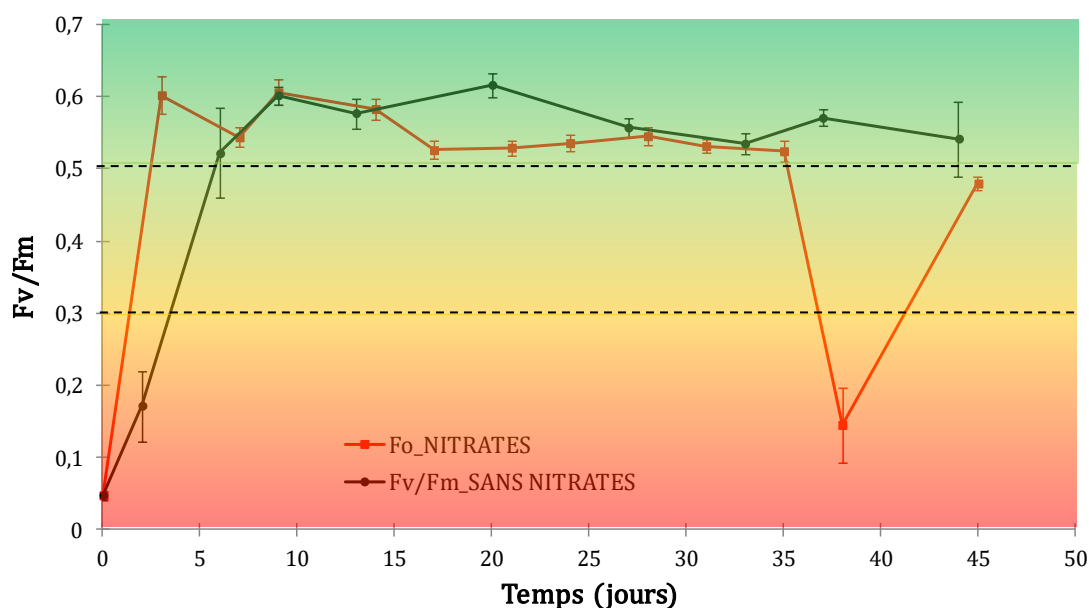


Figure 4-43 : Rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème à la surface des éprouvettes de mortier immergées dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée

Les diatomées se trouvent donc dans une situation de très mauvaise adaptation à leur support et au milieu en raison du manque de lumière (Morelle, 2017 ; Napoléon, 2012). Cette absence de lumière pourrait, en étant combinée au mécanisme naturel de renouvellement du biofilm, être responsable de la chute de la quantité de biomasse en fin de manipulation.

La présence de nitrates en quantités importantes dans le matériau cimentaire semble donc permettre une colonisation plus rapide et plus importante des échantillons. En effet, la quantité de biomasse devient presque deux fois plus importante à la surface de tels échantillons au maximum de la colonisation. Dans son étude, (Schwermer et al., 2008) ont montré que l'augmentation de la concentration en ions nitrate à proximité d'un biofilm résulte en une croissance plus importante de la biomasse de ce dernier.

## 2.2. Suivi de la composition chimique du matériau

Afin d'évaluer l'impact de la présence d'ions nitrate au sein du matériau cimentaire, la composition chimique du milieu a été évaluée aux 3 profondeurs d'étude (0 – 2mm, 2 – 4 mm et 4 – 6 mm) par chromatographie ionique et par analyses thermogravimétriques.

Concernant l'analyse du matériau cimentaire par chromatographie ionique, les résultats seront présentés en pourcentage de présence. Ce pourcentage est calculé selon l'équation 4 - 3 :

$$\text{Pourcentage de présence ion} = \frac{[ion]_{x \text{ semaines, matériau}}}{[ion]_{\text{avant immersion, matériau}}} \times 100 \quad \text{Equation 4 - 3}$$

Avec  $[ion]_{x \text{ semaines, matériau}}$  la concentration de l'ion analysé en g/L dans 1 gramme de matériau à  $x = 2, 4, 6$  semaines et  $[ion]_{\text{avant immersion, matériau}}$  la concentration de l'ion analysé en g/L dans 1 gramme de matériau avant immersion.

Les concentrations initiales des ions dans le matériau cimentaire avant immersion sont placées en ANNEXE E.

Pour la suite de l'analyse, les éprouvettes enrichies en ions nitrate porteront le nom de NTE et les éprouvettes de référence le nom de NTE\_R.

### 2.2.1. Chlorures

La Figure 4-44 illustre le pourcentage de présence des ions chlorure dans le matériau, aux différentes profondeurs d'étude durant l'expérience.

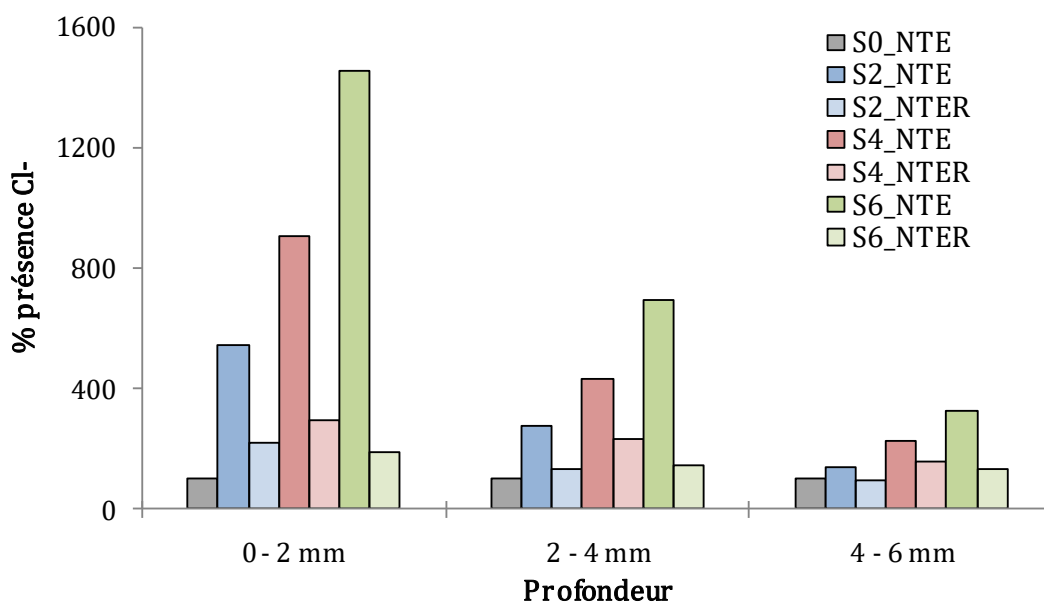


Figure 4-44 : Evolution de la présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire enrichi en nitrates selon trois profondeurs, dans le temps

Après deux semaines d'immersion en milieu marin artificiel, la pénétration des ions chlorure dans le matériau à une profondeur de 0 – 2 mm est déjà plus importante qu'en immersion en eau salée. La pénétration des ions chlorure dans la couche inférieure (2 – 4 mm) est légèrement supérieure en présence de biofilm mais pas assez marquée du fait du peu de temps d'immersion.

Après quatre semaines de manipulation, le pourcentage de présence des ions à 0 – 2 mm en présence de biofilm s'accroît un peu plus, tout comme la pénétration dans la couche à 2 – 4 mm. A 4 – 6 mm, les ions chlorure sont légèrement plus présents en présence de biofilm.

Enfin, après six semaines d'immersion, la tendance reste la même ; les écarts se creusent un peu plus entre les échantillons immergés en milieu marin artificiel et ceux immergés en eau salée.

La présence d'un biofilm de *Cylindrotheca closterium* à la surface des échantillons améliore donc la pénétration des ions chlorure au sein du matériau cimentaire.

Afin d'évaluer l'impact de la formulation sur la colonisation, le pourcentage de pénétration des ions chlorure a été comparé à celui ayant lieu dans le mortier normalisé (MN\_Exp) à une profondeur de 0 – 2 mm (Figure 4-45).

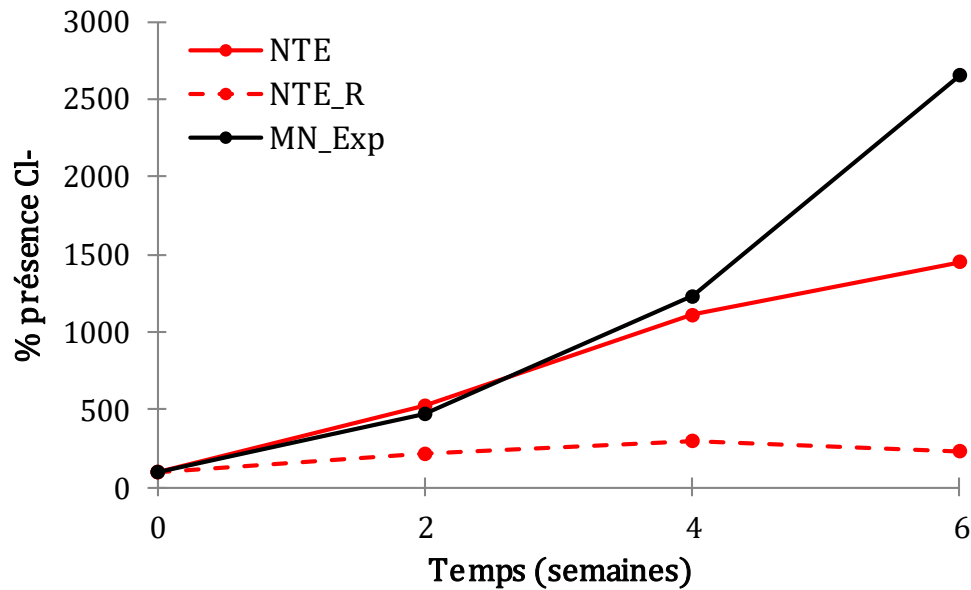


Figure 4-45 : Pourcentage de présence de l'ion chlorure dans les trois matériaux cimentaires à une profondeur de 0 – 2 mm, après deux, quatre et six semaines d'immersion

Le pourcentage de présence en ion chlorure dans le matériau nitrate reste tout d'abord similaire à celui du mortier normalisé, puis augmente tout en restant inférieur à la valeur de ce dernier. Comme cela a été mis en évidence dans la Figure 4-44, le pourcentage de présence de l'ion chlorure dans le matériau immergé en eau salée reste toujours inférieur à celui du matériau immergé en milieu marin artificiel.

Il est donc possible d'observer que la présence d'ions nitrate dans la matrice cimentaire impacte la pénétration des ions chlorure dans le matériau. Cette pénétration pourrait être facilitée en raison de la présence de biofilm à la surface des éprouvettes. En effet, les diatomées pourraient créer un réseau de microporosité dans le matériau, facilitant la pénétration des ions chlorures.

Le pourcentage de présence des ions chlorure dans le matériau enrichi en ions nitrate reste cependant inférieur à celui dans le mortier normalisé. Le biofilm étant plus dense dans cette manipulation (Figure 4-43), ce dernier pourrait agir comme une barrière physique vis-à-vis des ions présents dans le milieu marin.

### 2.2.2. Sulfates

La Figure 4-46 résume les résultats obtenus quant au pourcentage de présence des ions sulfate au sein du matériau cimentaire, dans le temps et aux trois profondeurs d'étude.



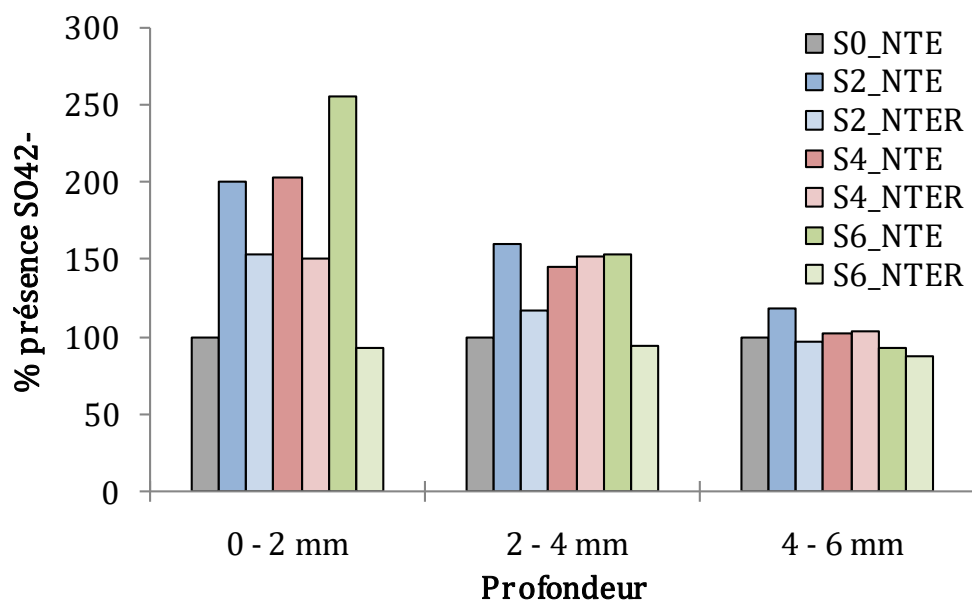


Figure 4-46 : Evolution de la présence des ions sulfate dans le matériau cimentaire enrichi en nitrates selon trois profondeurs, dans le temps

Après deux semaines d'immersion, le pourcentage de présence des ions sulfate dans la première couche du matériau (0 - 2 mm) est plus important dans le matériau cimentaire immergé en milieu marin artificiel. Cette tendance s'accroît dans le temps puisqu'au bout de quatre puis de six semaines d'immersion, le pourcentage de présence des ions sulfate en milieu marin artificiel se démarque de celui en eau salée. Dans les couches de matériau inférieures, cette observation n'est pas visible.

La Figure 4-47 met en évidence le pourcentage de présence de l'ion sulfate dans les différents matériaux selon leur formulation et le milieu dans lesquels ils ont été immergés à une profondeur de 0 - 2 mm.

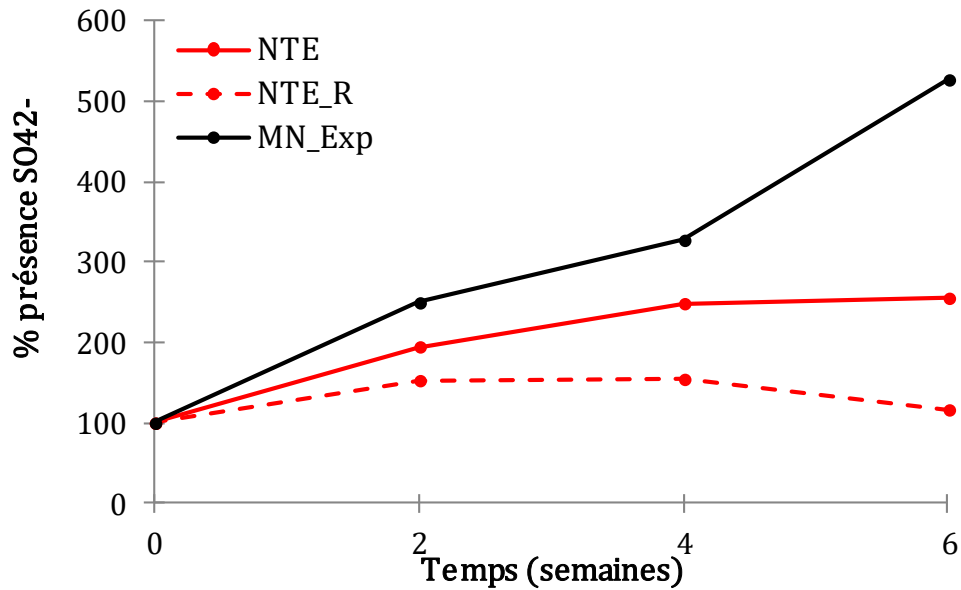


Figure 4-47 : Pourcentage de présence de l'ion sulfate dans les trois matériaux cimentaires à une profondeur de 0 – 2 mm, après deux, quatre et six semaines d'immersion

Le pourcentage de présence des ions sulfate dans le matériau nitrate reste, tout au long de l'expérience, inférieur à celui du mortier normalisé et supérieur au matériau nitrate immergé dans l'eau salée.

La présence d'ions nitrate dans le matériau influence donc la pénétration des ions sulfate au sein de celui-ci. De la même façon que pour les ions chlorure, les ions sulfate pourraient pénétrer dans le matériau grâce à l'activité des diatomées, qui pourraient créer des microréseaux dans la matrice cimentaire. La pénétration est cependant inférieure à celle dans le mortier normalisé, en raison de la quantité plus importante de biofilm, qui agit comme une barrière physique.

### 2.2.3. Calcium

Afin de connaître plus précisément la nature et l'évolution des quantités d'hydrates au cours de l'expérience d'immersion, des échantillons de mortier immergés durant l'expérience ont été analysés par thermogravimétrie selon le mode opératoire détaillé dans le chapitre 2.

#### 2.2.3.1. Portlandite

L'évolution de la quantité de portlandite à une profondeur de 0 – 2 mm durant l'expérience est présentée dans la Figure 4-48.

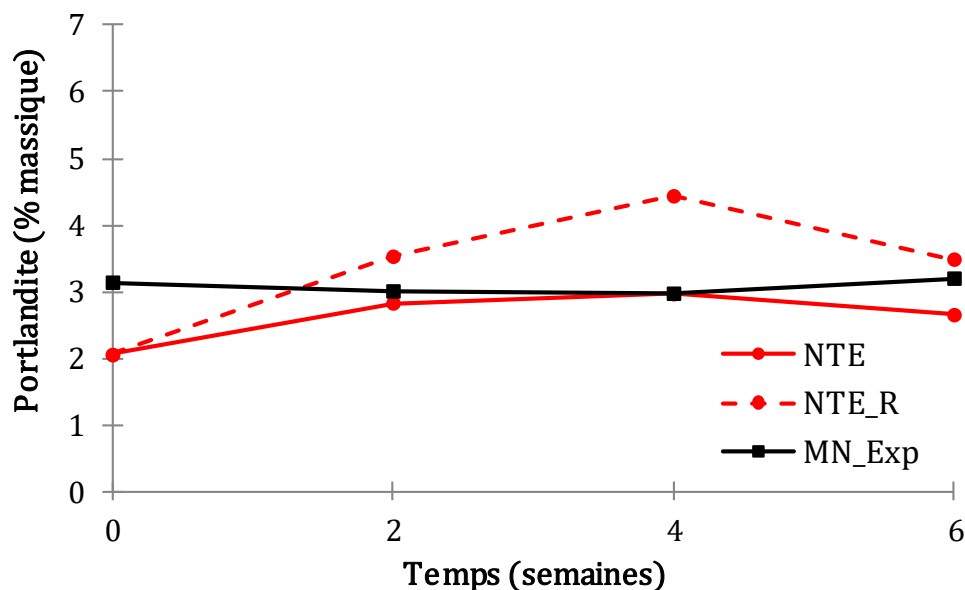


Figure 4-48 : Evolution de la quantité de portlandite (% massique) dans les échantillons à une profondeur de 0 - 2 mm

A une profondeur de 0 - 2 mm, il est possible d'observer que la quantité de portlandite augmente tout d'abord durant les deux premières d'immersion, dans les deux milieux étudiés passant de 2% à 3% en pourcentage de masse pour les éprouvettes en milieu marin artificiel et de 2% à 4,4% pour les éprouvettes en eau salée. Cette quantité diminue ensuite entre les semaines 4 et 6. La quantité de portlandite dans les échantillons immergés en milieu marin artificiel est toujours inférieure à celle présente dans les éprouvettes immergées en milieu eau salée.

A travers ces graphiques, il est donc possible d'observer que durant l'immersion des éprouvettes et dans la couche supérieure du matériau (0 - 2 mm), la portlandite est beaucoup moins présente si l'échantillon est recouvert de biofilm. La présence importante de diatomées pourrait favoriser la dissolution de cet hydrate, de manière directe (sécrétions) ou de manière indirecte (modification des conditions de pH à la surface de l'éprouvette). Cette dernière hypothèse sera évaluée dans la suite de ce chapitre.

De plus, la courbe correspondant à l'évolution des quantités de portlandite dans le mortier normalisé en milieu marin artificiel a été ajoutée. La quantité de portlandite dans le mortier enrichi en ions nitrate est inférieure à celle présente dans le mortier normalisé. En raison de la présence de nutriments dans la matrice cimentaire, les diatomées pourraient accélérer le processus de dissolution de la portlandite ou modifier de façon plus prononcée le pH de l'environnement extérieur.

### 2.2.3.2. Carbonate de calcium

L'évolution du carbonate de calcium dans le matériau est également intéressante à évaluer. La présence de carbonate de calcium est essentiellement due au phénomène de carbonatation. Plus les échantillons immergés en milieu marin artificiel restent support

du biofilm, plus l'apparition des polymorphes du carbonate de calcium est prononcée (Figure 4-49).

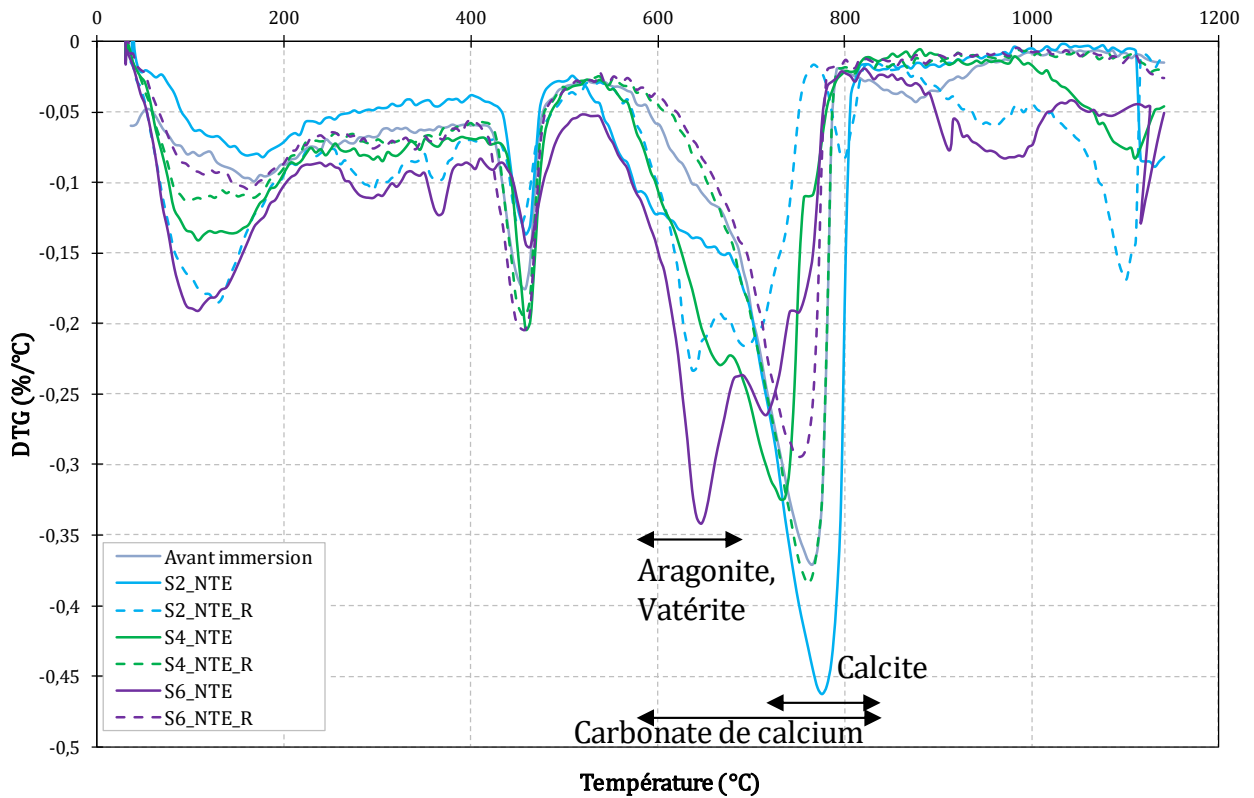


Figure 4-49 : DTG (%/°C) du mortier enrichi en ions nitrate, à une profondeur de 0 - 2 mm, durant l'expérience

L'apparition de ces polymorphes dans la couche supérieure du matériau coïncide avec l'état d'avancement du recouvrement des mortiers (Figure 4-42).

A partir des courbes d'ATG, le pourcentage massique de carbonate de calcium dans la première couche de l'échantillon (0 -2 mm) a pu être calculé (Figure 4-50).

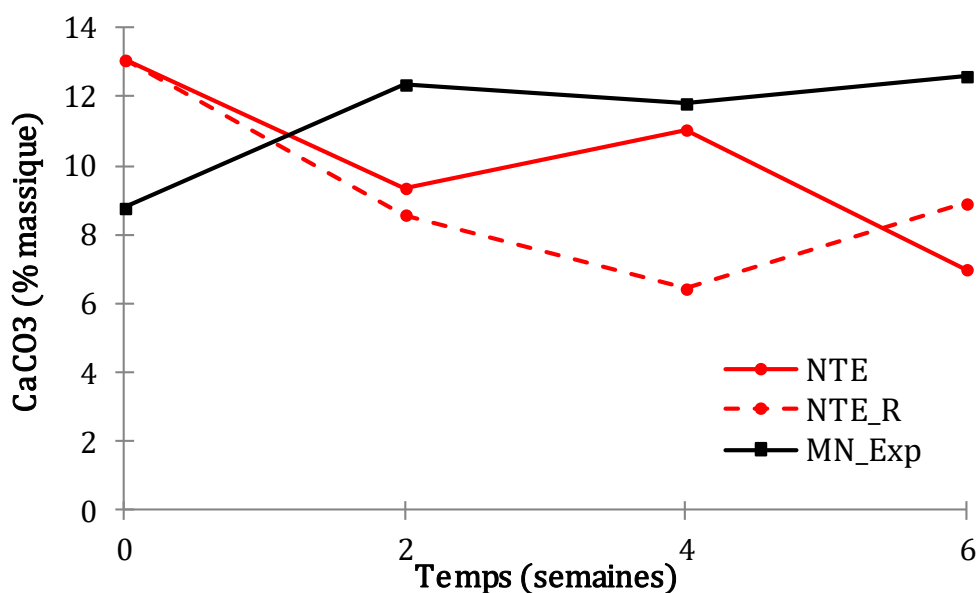


Figure 4-50 : Evolution de la quantité de carbonate de calcium dans les échantillons à 0 - 2 mm durant l'expérience

La quantité de carbonate de calcium dans les éprouvettes de mortier enrichies en ions nitrate diminue lors de l'expérience (13% massique au début de l'expérience et 7% en fin d'immersion). Pour les éprouvettes de même formulation mais immergées en eau salée, la quantité de carbonate de calcium décroît durant les quatre premières semaines (13% à 6,4%) puis augmente légèrement à la fin de l'expérience.

La quantité de carbonate de calcium est toujours plus importante lorsque le matériau est recouvert de biofilm que lorsque qu'il est immergé dans l'eau salée. La présence de biofilm mènerait donc une carbonatation plus importante du matériau, qui pourrait être due à l'activité photosynthétique des cellules.

La courbe correspondant à la quantité de carbonate de calcium présent sur le mortier normalisé immergé en milieu marin artificiel a également été ajoutée. A n'importe quelle profondeur, la quantité de carbonate de calcium présent sur le mortier normalisé est supérieur à celui présent sur le mortier enrichi en ions nitrate. La quantité de biomasse étant plus forte sur ce dernier (Figure 4-42), les besoins en dioxyde de carbone du biofilm sont plus importants pour maintenir les cellules dans un bon état physiologique (Figure 4-43). Le dioxyde de carbone apporté par le bullage est ainsi consommé par les diatomées et ne peut donc plus réagir avec la matrice cimentaire, expliquant la quantité plus faible de carbonate de calcium dans la Figure 4-50.

#### 2.2.4. Nitrates

La concentration en ions nitrate dans le matériau a également été évaluée afin de comprendre comment les diatomées utilisent ce nutriment, présent dans la matrice cimentaire. La Figure 4-51 illustre le pourcentage de présence des ions nitrate dans le matériau, durant l'expérience en milieu marin artificiel. Les valeurs correspondant à

l'évolution de la présence des ions nitrate en milieu eau salée ne sont pas analysées en raison de l'absence de diatomées dans le milieu.

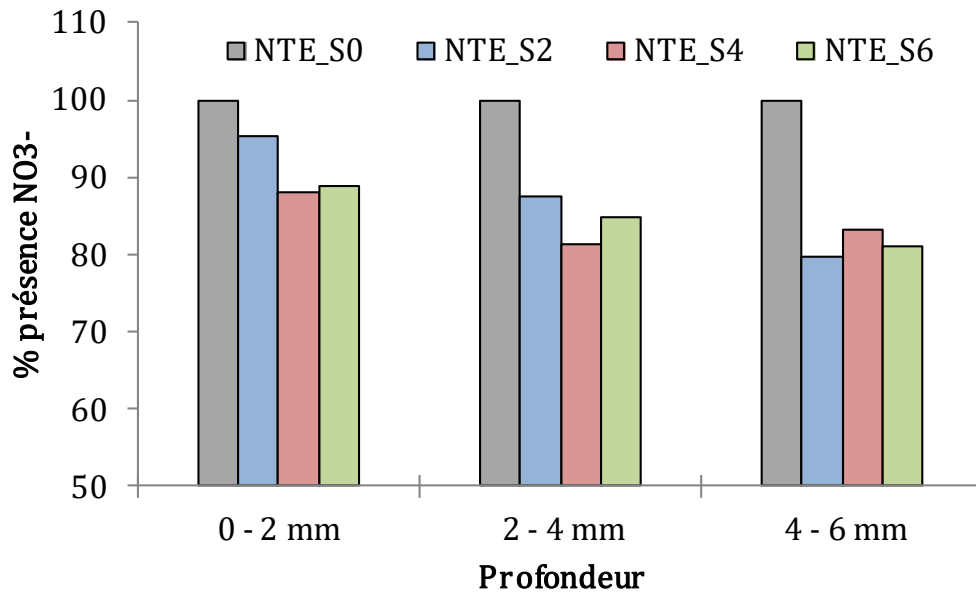


Figure 4-51 : Evolution de la présence des ions nitrate dans le matériau cimentaire enrichi en nitrates selon 3 profondeurs, dans le temps

La présence en ions nitrate dans la première couche du matériau (0 – 2 mm) lorsque celui-ci est recouvert de biofilm de diatomées diminue avec le temps; il est en effet consommé par les diatomées. Dans les couches inférieures, la présence en ions nitrate diminue en raison de la consommation de ces ions par les diatomées mais également en raison du coefficient de diffusion qui existe entre le milieu marin, moins concentré en ions nitrate, et la matrice cimentaire.

La Figure 4-52 illustre l'évolution de la présence en ions nitrate dans le matériau enrichi en nitrates, en comparaison au mortier normalisé à une profondeur de 0 – 2 mm.

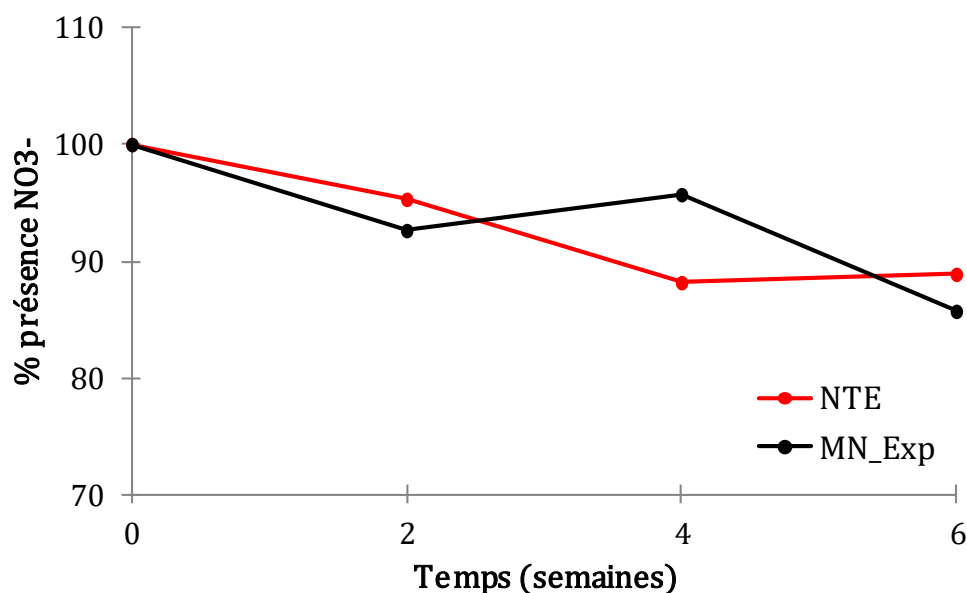


Figure 4-52 : Evolution du pourcentage de présence de l'ion nitrate dans le matériau, à une profondeur de 0 – 2 mm, après deux, quatre et six semaines d'immersion

A une profondeur de 0 – 2 mm, la présence en ions nitrate dans le mortier enrichi diminue pour atteindre une valeur de 88%. Les ions nitrate sont donc consommés par les diatomées. Il est également intéressant d'observer que l'évolution du pourcentage de présence des ions nitrate est sensiblement la même entre le mortier enrichi en ions nitrate et le mortier normalisé, bien que les concentrations soient différentes (présentation des résultats en pourcentage de présence de nitrates).

### 2.2.5. Variation du pH des formulations

Le pH du matériau a été mesuré aux trois profondeurs d'étude (0 – 2 mm, 2 – 4 mm et 4 – 6 mm) avant immersion et après deux, quatre et six semaines d'immersion, en milieu marin artificiel et en milieu eau salée. Les résultats se trouvent dans la Figure 4-53, Figure 4-54 et la Figure 4-55. Le pH du mortier normalisé immergé dans le milieu marin artificiel a également été ajouté dans chacun des graphiques afin de servir de point de comparaison.

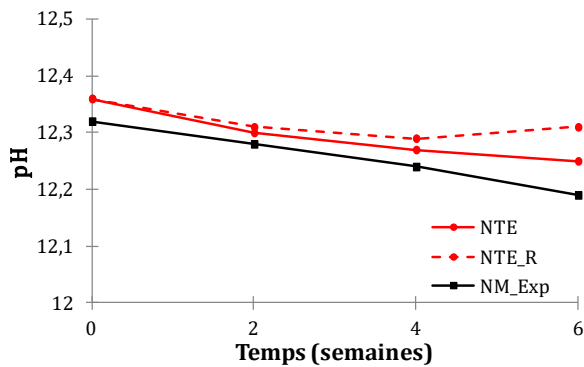


Figure 4-53 : Valeurs du pH durant l'expérience pour les 3 formulations à une profondeur de 0 – 2 mm

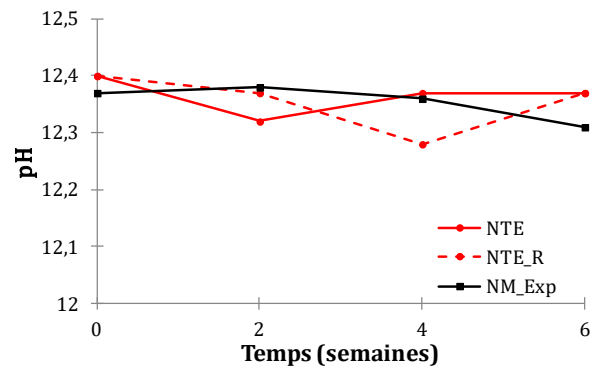


Figure 4-54 : Valeurs du pH durant l'expérience pour les 3 formulations à une profondeur de 2 – 4 mm

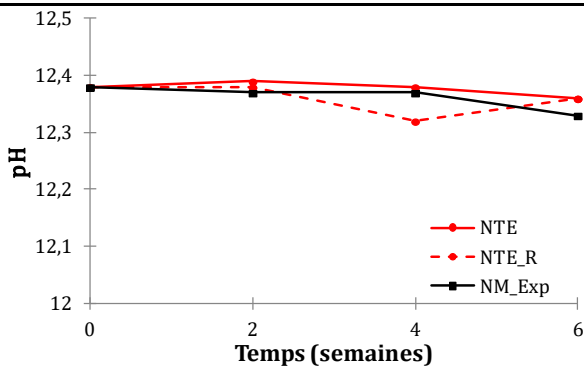


Figure 4-55 : Valeurs du pH durant l'expérience pour les 3 formulations à une profondeur de 4 – 6 mm

Ces évolutions sont à prendre avec précaution du fait de la faible variation des valeurs.

Dans les deux premiers millimètres du matériau, le pH du mortier enrichi en nitrates et immergé en milieu marin artificiel diminue (12,36 en début d'expérience à 12,25 en fin d'expérience). Celui du mortier enrichi en nitrate mais immergé en eau salée diminue de la même façon durant les quatre premières semaines, puis augmente légèrement en fin d'expérience. A des profondeurs plus importantes (2 – 4 mm et 4 – 6 mm), l'évolution du pH est beaucoup moins marquée, en raison de l'accès limité à la solution aqueuse. La première couche du matériau étant celle en contact direct avec l'environnement extérieur, c'est celle-ci qui sera dans un premier temps la plus marquée par l'action chimique et biologique du milieu dans lequel elle se trouve.

La présence de biofilm sur le mortier enrichi en nitrate semble permettre une diminution moins importante du pH que lorsque le biofilm est présent sur le mortier normalisé.

### 2.3. Suivi de la composition chimique du milieu marin artificiel

La composition du milieu marin artificiel et du milieu eau salée a été suivie durant toute l'expérience, selon le protocole présenté dans le chapitre 2.



### 2.3.1. Nutriments : nitrates

La concentration en ions nitrate a été suivie tout au long de l'expérience dans chacun des bacs (milieu marin artificiel et eau salée). Les résultats sont regroupés dans la Figure 4-56.

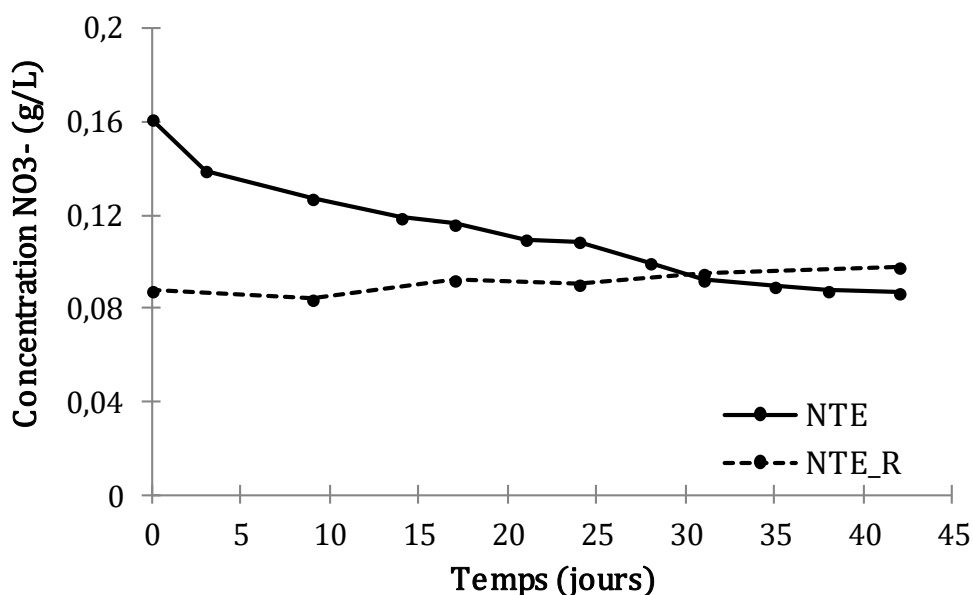


Figure 4-56 : Evolution de la concentration en ions nitrate dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée

Les ions nitrate sont, comme attendus, consommés de façon continue par les diatomées dans le milieu marin artificiel puisque leur concentration chute dans le milieu tout au long de l'expérience, à la différence des ions nitrate présents dans le milieu d'eau salée.

### 2.3.2. Ions majeurs en eau de mer

La concentration en ions chlorure (Figure 4-57), sodium (Figure 4-58), sulfate (Figure 4-59) et potassium (Figure 4-60) a été suivie dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée durant toute l'expérience d'immersion.

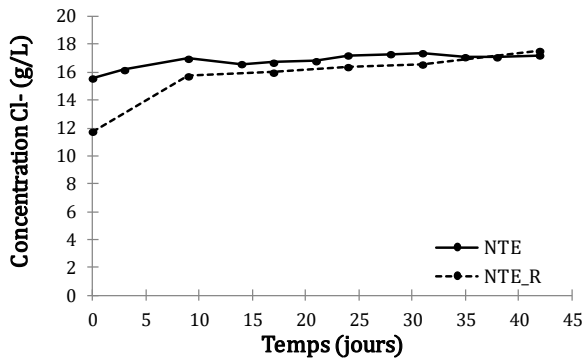


Figure 4-57 : Evolution de la concentration en ion chlorure dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée

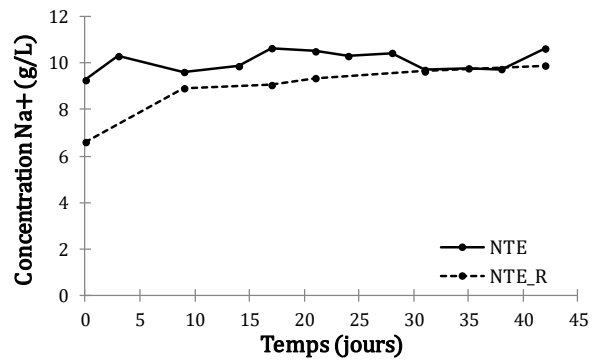


Figure 4-58 : Evolution de la concentration en ion sodium dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée

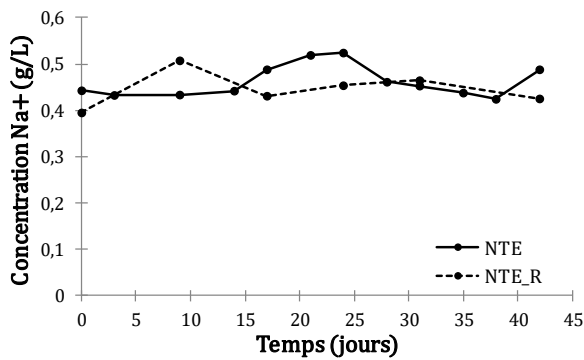


Figure 4-59 : Evolution de la concentration en ion potassium dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée

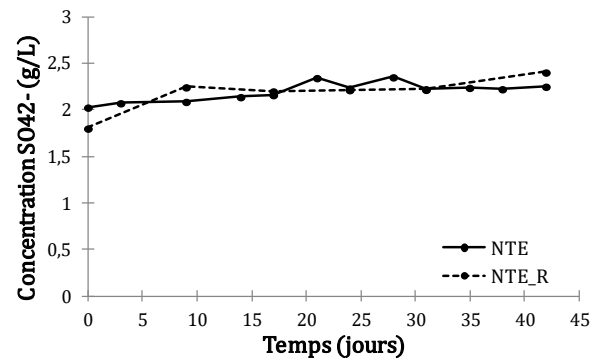


Figure 4-60 : Evolution de la concentration en ion sulfate dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée

De façon générale, une augmentation de toutes les concentrations des ions est observée, dans le milieu marin artificiel ou dans l'eau salée. L'évaporation de l'eau peut être la principale raison de la concentration en ces ions. Les concentrations en ion restent cependant relativement stables pendant l'expérience.

### 2.3.3. Lixiviation : ions calcium

L'évolution de la concentration en ions calcium est présentée dans la Figure 4-61.

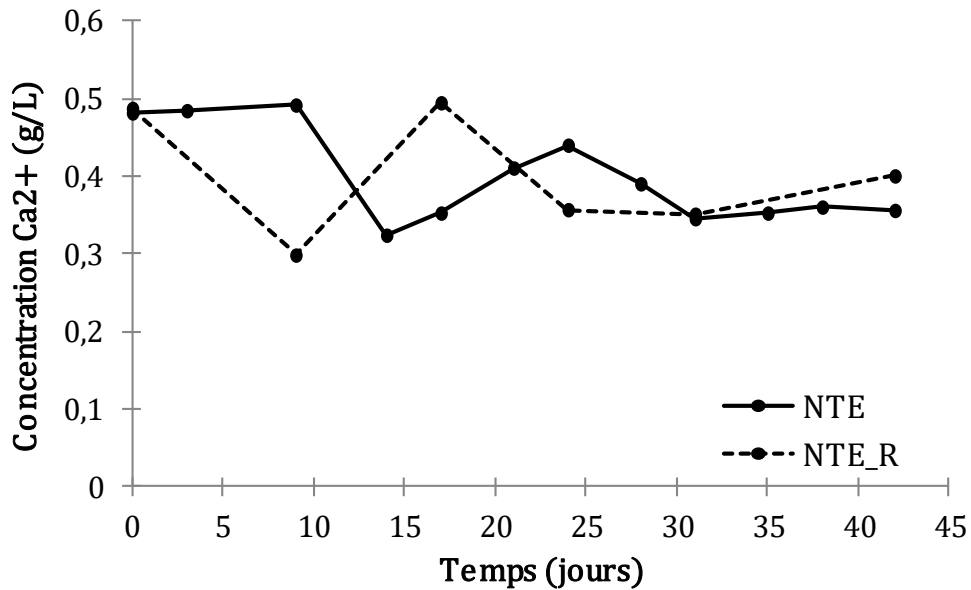


Figure 4-61 : Evolution de la concentration en ions calcium dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée

La concentration en ions calcium dans le milieu marin artificiel évolue de façon peu constante. Une diminution globale de la concentration est observée dans le milieu alors qu'une hausse de la concentration était attendue, en raison de la lixiviation du matériau cimentaire. Les ions calcium pourraient alors précipiter à la surface du matériau cimentaire, expliquant ainsi l'augmentation du pourcentage de présence dans le matériau, observé dans la **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**

#### 2.3.4. Variation du pH de l'eau de mer artificielle

Le pH a été mesuré dans le milieu marin artificiel contenant les éprouvettes enrichies en nitrate ainsi que dans l'eau salée. Ces valeurs ont été comparées à celles mesurées dans le milieu marin artificiel contenant les éprouvettes de mortier normalisé (Figure 4-62).

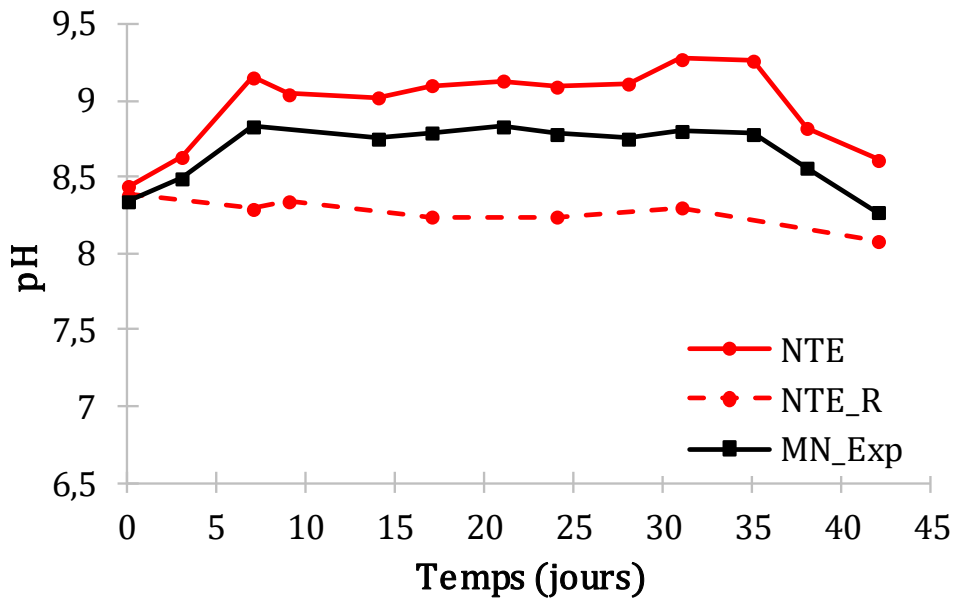


Figure 4-62 : Evolution du pH dans les solutions au cours du temps

L'activité photosynthétique des algues dans le milieu marin artificiel contenant les éprouvettes de mortier enrichies en nitrate est visible puisque les variations de pH se découpent en trois phases, expliquée dans le chapitre 2. Cette hausse de pH est liée à la consommation des molécules de dioxyde de carbone présentes au sein du milieu par le biofilm.

La hausse de pH observée dans le milieu marin artificiel contenant les éprouvettes avec nitrate est également plus importante que celle observée dans le milieu marin artificiel contenant les éprouvettes de mortier normalisé. Cette hausse plus forte pourrait être due à la quantité de biomasse plus importante dans le milieu et présentée dans la Figure 4-42.

## 2.4. CONCLUSIONS

Une formulation de mortier contenant une eau enrichie en ions nitrate a été immergée dans un milieu marin artificiel. La colonisation ainsi que la composition chimique du milieu ont été suivies, afin d'évaluer l'impact de la présence de nutriments enfermés dans le matériau cimentaire.

Les mesures fluorimétriques du biofilm ont mis en évidence dans la Figure 4-42 que la présence d'ions nitrate dans le matériau doublait presque la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes. Les cellules sont bien adaptées à leur support (Figure 4-43) et ne semblent pas impactées par la présence importante de nutriments. En raison de la présence plus importante de biomasse, l'activité photosynthétique est plus importante, montrant une évolution du pH du milieu marin artificiel bien plus marquée (Figure 4-62). Cette hausse du pH, conséquence directe de la présence du biofilm, pourrait impacter la quantité des principaux hydrates de la pâte cimentaire. En effet, en présence de biofilm, la quantité de portlandite en surface diminue plus rapidement (Figure 4-48), en raison d'un gradient de pH plus important. Le carbonate de calcium, quant à lui, est présent en

quantités moins importante en surface (Figure 4-50). La quantité importante de biofilm pourrait en être responsable, en raison de besoins importants en dioxyde de carbone pour maintenir le biofilm dans un bon état physiologique (Figure 4-43).

Les ions chlorure et sulfate montrent, en présence de biofilm sur les éprouvettes, une pénétration dans le matériau plus importante (Figure 4-44 et Figure 4-46) que lorsque le même matériau est immergé dans de l'eau salée. Ceci a déjà été observé dans les chapitres précédents et pourrait être dû à l'activité du biofilm à la surface des éprouvettes ; les diatomées créeraient un microréseau à l'intérieur du matériau. Lorsque le matériau est enrichi en nitrates, la pénétration des ions se fait de façon moins marquée par rapport au mortier normalisé. Cela pourrait être lié à la quantité plus importante de biomasse qui se développe sur le mortier enrichi en nitrate. Le biofilm, plus dense, aurait alors un rôle de protection du matériau, limitant ainsi la pénétration des ions.

## CONCLUSION

L'objectif de cette première partie était d'étudier l'impact des facteurs internes au matériau cimentaire sur la colonisation. Deux axes ont été développés :

- Une première partie a permis de faire varier la composition de la matrice solide, en substituant le sable siliceux par du sable calcaire à différents taux (25%, 50%, 75% et 100%) ;
- Une seconde partie a étudié l'impact de l'ajout de nutriments pour les diatomées dans la matrice cimentaire, en ajoutant des ions nitrate dans l'eau de gâchage lors de la confection des éprouvettes de mortier.

Dans les deux cas, des conclusions similaires ont été formulées quant au développement de la biomasse sur les échantillons. L'ajout de sable calcaire ou de nutriments dans la matrice cimentaire permet le développement bien plus conséquent du biofilm de diatomées sur les surfaces, par rapport à celui qui se développe sur un mortier normalisé.

En raison de l'activité des diatomées, un microréseau pourrait être créé dans la matrice cimentaire, permettant la pénétration par diffusion des ions chlorure et sulfate présents dans l'eau de mer vers l'intérieur du matériau. Cependant, la pénétration de ces ions s'effectue de manière moins forte que dans le mortier normalisé. La densité du biofilm étant plus importante dans le cas de mortier formulés avec du sable calcaire ou enrichis en nitrate, le biofilm pourrait alors agir comme une barrière physique vis-à-vis du matériau.

A l'interface entre le biofilm et la surface de la matrice cimentaire, un tampon pH pourrait également être mis en place par le biofilm de diatomées, afin de garantir aux cellules des conditions de croissance optimales. Ce tampon pH tendrait dans un premier temps à dissoudre la portlandite contenue dans la matrice cimentaire. De plus, il permettrait également de fournir du dioxyde de carbone aux diatomées, par dissolution progressive de la matrice cimentaire. Le dioxyde de carbone apporté par le bullage pourrait alors principalement réagir avec les ions calcium pour former du carbonate de calcium à la surface des échantillons.

Dans l'eau de mer artificielle, les ions nitrate sont consommés par les diatomées tout au long des différentes expériences, tandis que la concentration des ions majeurs (chlorure, sodium, sulfate et potassium) reste relativement stable. Les ions calcium montrent une diminution globale de leur concentration durant les six semaines d'immersion, qui pourrait être due à leur précipitation en carbonate de calcium sur la surface des éprouvettes. L'évolution du pH dans chaque bac met en évidence l'activité photosynthétique des diatomées, par l'intermédiaire des différentes phases relatives à leur développement.

La composition de la matrice cimentaire joue donc un rôle non négligeable quant à la colonisation d'un matériau cimentaire. La pénétration d'ions agressifs au sein de celui-ci

a été observée, mettant en évidence la détérioration du matériau en raison de l'activité des microorganismes à sa surface. Le phénomène de bioprotection, du fait de la densité importante du biofilm, a été évoqué.

# **PARTIE II : FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX EXTERNNES**



## INTRODUCTION

Un dispositif expérimental a été mis en place dans le but d'étudier la colonisation d'éprouvettes de mortier par des diatomées dans un milieu marin artificiel. Afin de vérifier les tendances observées, le dispositif expérimental a été utilisé dans un milieu marin semi-naturel. Le terme semi-naturel est utilisé ici en raison de l'utilisation d'eau de mer naturelle dans un environnement contrôlé au niveau de l'éclairage, de la température extérieure (température de la salle où la manipulation a lieu) et du volume d'eau utilisé.

Pour cela, le dispositif présenté dans les chapitres précédents a été mis en place au sein de la station marine du Centre de Recherches en Environnement Côtier (CREC) à Luc-sur-Mer (Calvados). La Figure 4-63 illustre sa mise en place.

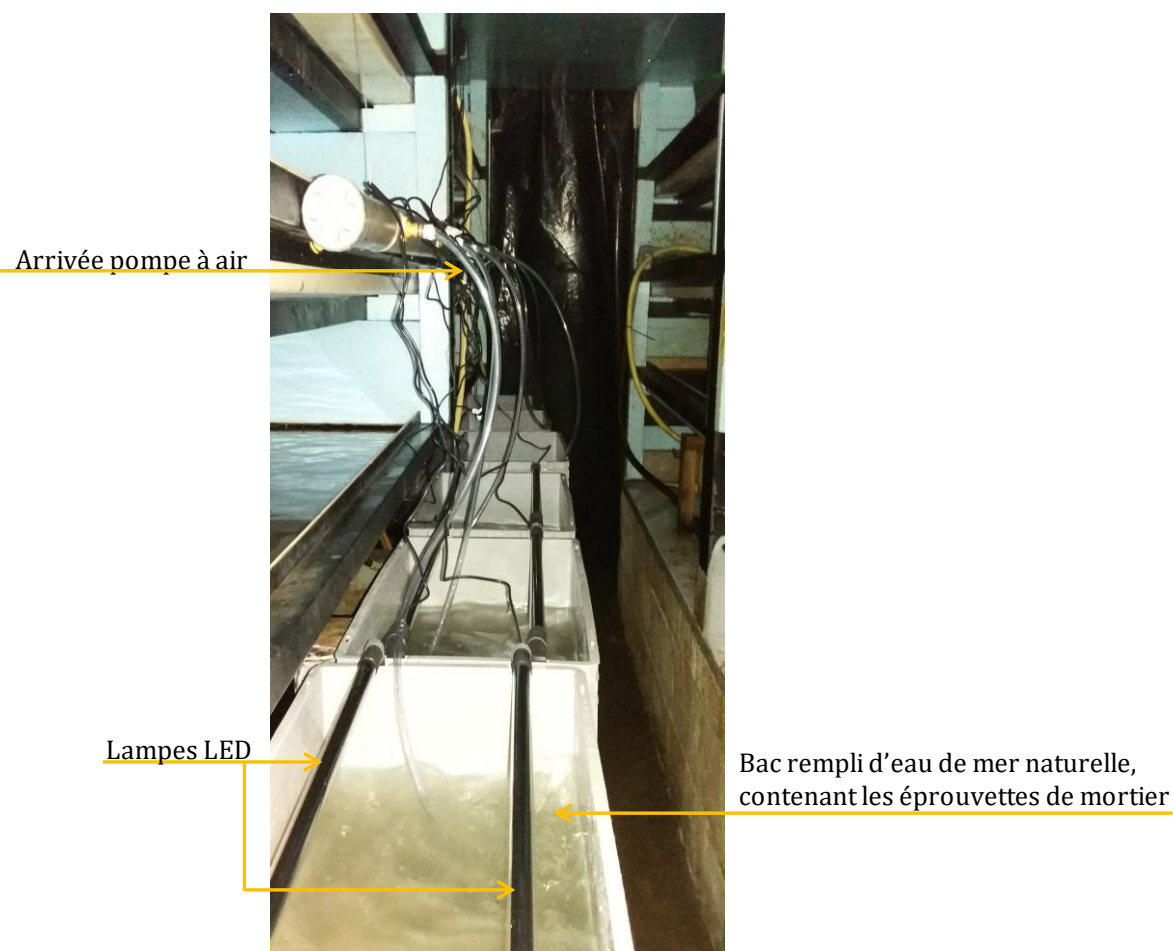


Figure 4-63 : Schéma du dispositif expérimental utilisé en milieu semi-naturel ; les éprouvettes sont placées sur des tiges surélevées, selon la description du dispositif effectuée dans le chapitre 3

L'eau de mer est pompée directement dans la mer puis filtrée par passage sur un filtre à sable afin d'enlever les plus gros résidus (Lestarquit et al., 2015). Les organismes présents dans les bacs d'expérimentation sont donc ceux qu'il est possible de trouver dans le milieu marin naturel.

# 1. RESULTATS DE LA COLONISATION EN MILIEU MARIN SEMI-NATUREL, ETUDE SAISONNIERE

Une formulation de mortier normalisé a été immergée à différentes périodes de l'année (automne, hiver, printemps et fin d'été) dans le but d'étudier l'impact des facteurs environnementaux sur la colonisation. Les résultats vont être présentés dans la suite de ce chapitre.

## 1.1. Automne

Les éprouvettes de mortier ont été immergées, après 28 jours de cure, du 14 novembre 2016 au 21 décembre. Le Tableau 4-4 regroupe les caractéristiques de l'eau de mer au moment où celle-ci a été utilisée pour remplir les bacs servant à l'expérience.

	Température (°C)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	Si(OH) <sub>4</sub> (mg/L)
15/11/2016	11,38	0,0676	2,13	0,0216	0,104	1,838

Tableau 4-4 : Caractéristiques de l'eau de mer lors du remplissage des bacs en novembre 2016 (données SOMLIT)

L'intensité d'encrassement a été suivie tout au long de l'expérience (Figure 4-64) uniquement sur la face supérieure des éprouvettes de mortier, selon le mode opératoire décrit dans le chapitre 2.

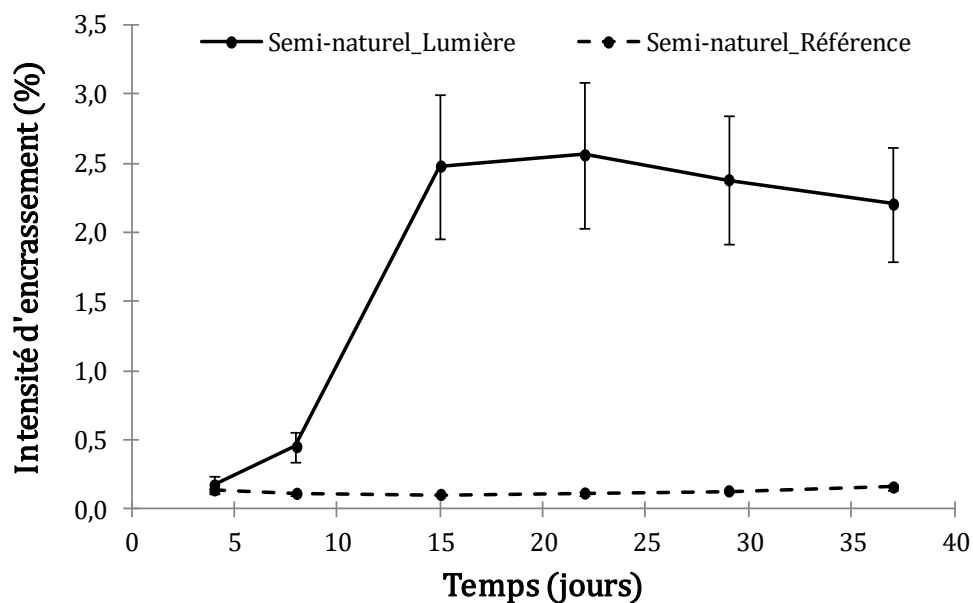


Figure 4-64 : Evolution de l'intensité d'encrassement sur la surface des éprouvettes de mortier au cours de l'immersion en milieu semi-naturel durant la saison de l'automne

L'intensité d'encrassement, en présence de lumière, augmente de façon très rapide durant les deux premières semaines d'immersion pour atteindre un maximum de valeurs à 2,5%. Une lente diminution des valeurs est ensuite observée, en raison du détachement du biofilm et de sa consommation par des organismes brouteurs. Ces derniers présents dans

l'eau de mer naturelle se nourrissent du biofilm créé par les algues pour croître et se développer (Jenkins et al., 2001 ; Russell et al., 2013).

La présence importante d'ions nitrate, phosphate, ammonium et d'acide silicique expliquerait la colonisation qui a lieu à la surface des éprouvettes. En effet, les atomes d'azote (N) sont indispensables pour permettre aux micro-organismes de se développer, tout comme les ions phosphates comme l'ont mentionné (Goldstein, 2007 ; Moe, 2009). L'acide silicique est quant à lui consommé par les diatomées (chapitre bibliographique). Sa concentration importante dans l'eau de mer au moment du remplissage des bacs permet d'apporter des nutriments pour le développement des diatomées.

Les valeurs de l'évolution de la quantité de biomasse et du rendement quantique de la photochimie du photosystème ne sont pas évaluées dans cette partie.

## 1.2. Hiver

Les éprouvettes de mortier ont été immergées, après 28 jours de cure, du 10 janvier 2017 au 23 février 2017. Le Tableau 4-5 présente les données physico-chimiques de l'eau de mer lors du remplissage des bacs.

	Température (°C)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	Si(OH) <sub>4</sub> (mg/L)
12/01/2017	7,39	0,0141	1,970	0,0534	0,0902	1,569

Tableau 4-5 : Caractéristiques de l'eau de mer lors du remplissage des bacs en janvier 2017 (données SOMLIT)

L'intensité d'encrassement de la surface des éprouvettes a été évaluée durant toute la durée de l'expérience sur la face supérieure des éprouvettes. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 4-65.

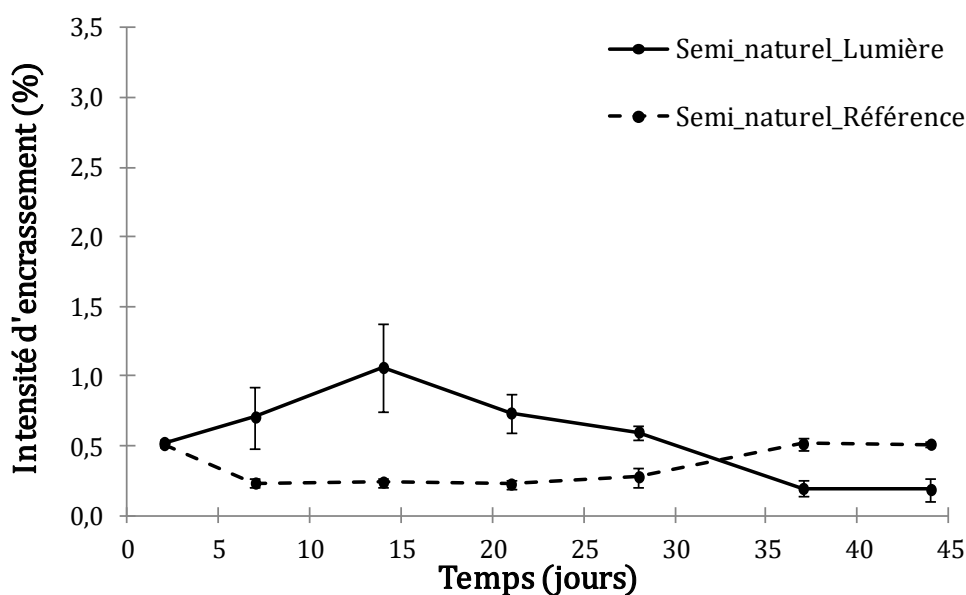


Figure 4-65 : Evolution de l'intensité d'encrassement sur la surface des éprouvettes de mortier au cours de l'immersion en milieu semi-naturel durant la saison de l'hiver

Durant l'immersion des éprouvettes, l'intensité d'encrassement à la surface de celles-ci croit tout d'abord de manière rapide jusqu'au 14<sup>ème</sup> jour d'immersion (1,06%) puis décroît brutalement par la suite, en raison du détachement du biofilm et de la présence d'organismes brouteurs, comme cela a été expliqué dans la partie précédente. Elle se stabilise ensuite en toute fin d'expérience.

La quantité de biomasse Fo a été mesurée à la surface de chacune des éprouvettes, selon le mode opératoire présenté dans le chapitre 2 (Figure 4-66).

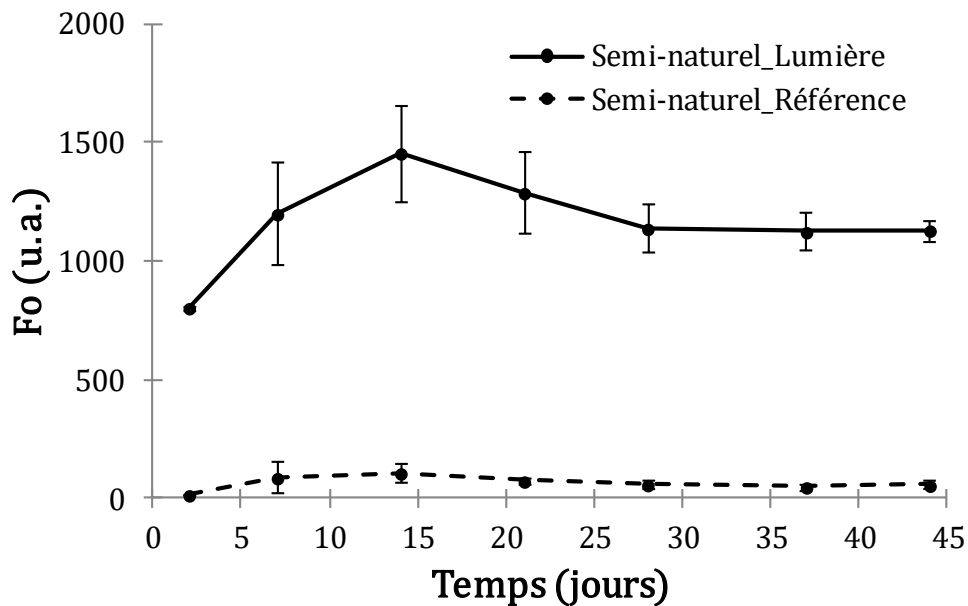


Figure 4-66 : Evolution de la quantité de biomasse (Fo, unités arbitraires) sur la surface des éprouvettes de mortier durant l'expérience en saison hiver

La même tendance d'évolution que celle de l'intensité d'encrassement est observée, c'est-à-dire une augmentation de la quantité de biomasse sur les éprouvettes de mortier durant les deux premières semaines d'immersion, puis la diminution de celle-ci. La diminution s'effectue de façon moins brutale et se stabilise très vite en fin d'expérience. Bien que le biofilm se développe sur les éprouvettes, les cellules ne sont pas bien acclimatées à leur substrat comme le montre la Figure 4-67.

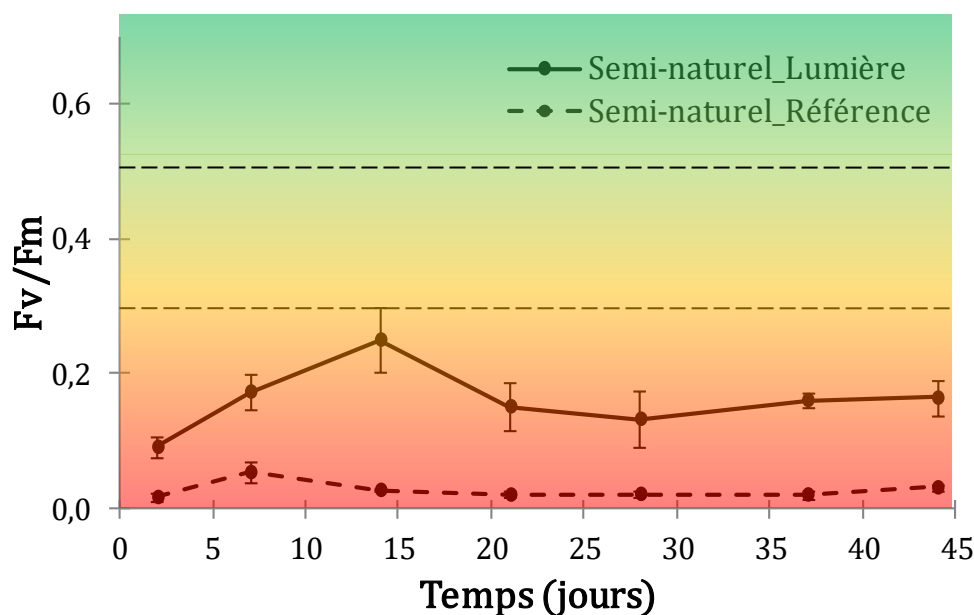


Figure 4-67 : Evolution du rendement quantique de la photochimie du photosystème ( $F_v/F_m$ ) des cellules présentes à la surface des éprouvettes de mortier immergées en milieu marin semi-naturel durant la saison de l'hiver

Le rendement quantique de la photochimie du photosystème augmente tout d'abord rapidement pendant les quatorze premiers jours d'immersion pour atteindre une valeur maximale de 0,25. Une fois cette valeur atteinte, le ratio  $F_v/F_m$  chute et se stabilise à une valeur inférieure jusqu'à la fin de l'expérience.

Comme (Morelle, 2017 ; Napoléon, 2012) l'ont souligné, les cellules sont extrêmement sensibles aux conditions environnementales de leur milieu, que sont les nutriments, la lumière et la température du milieu. Lors du remplissage des bacs, l'eau de mer était à une température très faible (Tableau 4-5), pouvant expliquer la plus petite intensité d'encrassement. Le manque de nutriments, combiné à la température faible du milieu lors de l'expérience explique le fait que le rendement quantique de la photochimie du photosystème reste inférieur à 0,3.

### 1.3. Printemps

Les éprouvettes ont été immergées, après 28 jours de cure, du 09 mai 2017 au 19 juin 2017. Le Tableau 4-6 récapitule les caractéristiques de l'eau de mer lorsque celle-ci a été utilisée pour remplir les bacs.

	Température (°C)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	Si(OH) <sub>4</sub> (mg/L)
11/05/2017	13,10	0,00239	1,169	0,0161	0,0104	0,0595

Tableau 4-6 : Caractéristiques de l'eau de mer lors du remplissage des bacs en mai 2017 (données SOMLIT)

L'intensité d'encrassement a été suivie durant cette expérience d'immersion à la surface des éprouvettes. Les résultats sont présentés dans la Figure 4-68.

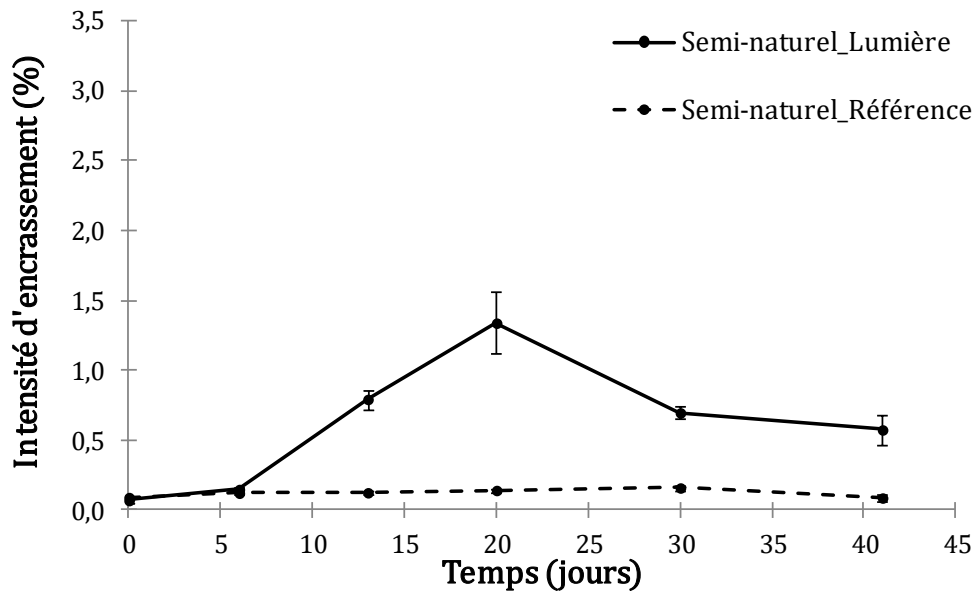


Figure 4-68 : Evolution de l'intensité d'encrassement sur la surface des éprouvettes de mortier au cours de l'immersion en milieu semi-naturel durant la saison du printemps

L'intensité d'encrassement augmente à partir du 7<sup>ème</sup> jour d'immersion et jusqu'au 20<sup>ème</sup> jour pour atteindre un maximum de 1,34%. Une fois ce maximum atteint, les valeurs chutent immédiatement et diminuent jusqu'à la fin de l'expérience. Les valeurs obtenues sont encore plus faibles que celles mesurées lors de la période d'immersion en saison hivernale.

La quantité de biomasse a été mesurée par fluorimétrie à la surface des éprouvettes (Figure 4-69), afin de savoir si la même tendance est observée.

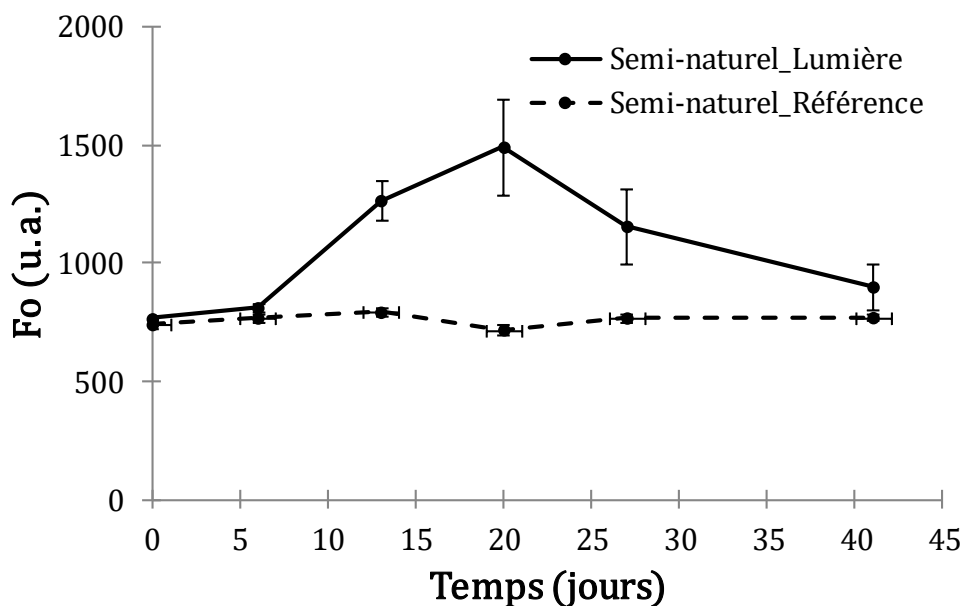


Figure 4-69 : Evolution de la quantité de biomasse (Fo, unités arbitraires) sur la surface des éprouvettes de mortier durant l'expérience en saison printemps

De la même façon que pour l'intensité d'encrassement, la quantité de biomasse n'évolue pas lors de la première semaine d'immersion et reste stable. Elle augmente ensuite jusqu'au 20<sup>ème</sup> jour puis diminue aussitôt jusqu'à la fin de l'expérience. La quantité de biomasse maximale obtenue est comparable à celle mesurée lors de l'expérience d'immersion en saison hivernale.

La Figure 4-70 présente les valeurs mesurées du rendement quantique de la photochimie du photosystème lors de l'expérience.

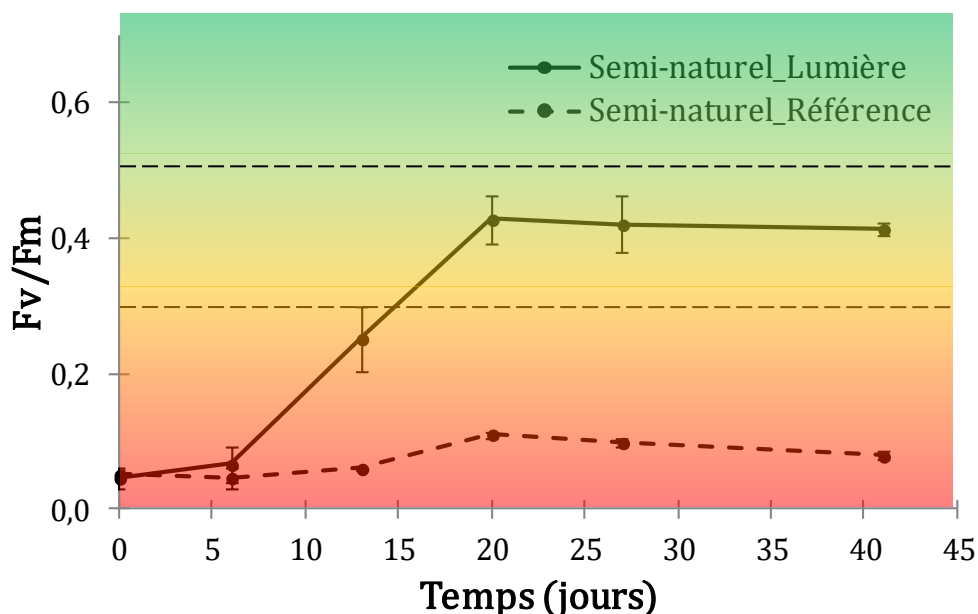


Figure 4-70 : Evolution du rendement quantique de la photochimie du photosystème (Fv/Fm) des cellules présentes à la surface des éprouvettes de mortier immergées en milieu marin semi-naturel durant la saison du printemps

Comme l'évolution de l'intensité d'encrassement ou de la quantité de biomasse, les valeurs du ratio Fv/Fm n'augmentent qu'après une semaine d'immersion des éprouvettes de mortier. La valeur maximale est atteinte au 20<sup>ème</sup> jour et reste par la suite relativement stable jusqu'à la fin de l'immersion. Les valeurs de Fv/Fm sont donc plus élevées que lors de l'expérience effectuée en plein hiver, mais restent néanmoins inférieures à 0,5. Les cellules sont moyennement adaptées à leur substrat.

La température étant plus forte qu'en hiver (13,10 °C alors qu'elle était de 7,39 °C en janvier 2017), ce paramètre pourrait expliquer la meilleure acclimatation des cellules à leur environnement. En effet, au niveau de la composition chimique en nutriments, l'eau de mer est encore moins concentrée en ions nitrate, ammonium, phosphate ou en acide silicique. Les cellules ont donc accès à moins de nutriment, cela pourrait expliquer le faible développement de biomasse à la surface des éprouvettes de mortier.

#### 1.4. Fin d'été

Des éprouvettes ont été immergées, après 28 jours de cure, du 29 août 2017 au 15 novembre 2017.

	Température (°C)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	Si(OH) <sub>4</sub> (mg/L)
21/08/2017	19,01	0,000486	0,00155	0,0139	0,00475	0,102

Tableau 4-7 : Caractéristiques de l'eau de mer lors du remplissage des bacs en mai 2017 (données SOMLIT)

La Figure 4-71 illustre les résultats obtenus lors du suivi de l'intensité d'encrassement à la surface des éprouvettes de mortier.

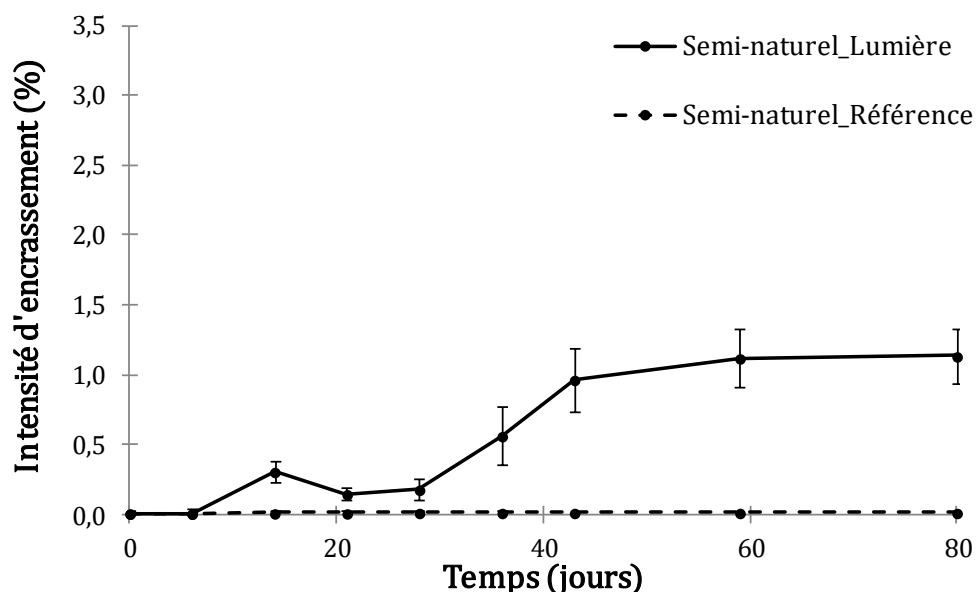


Figure 4-71 : Evolution de l'intensité d'encrassement sur la surface des éprouvettes de mortier au cours de l'immersion en milieu semi-naturel à la fin de l'été

L'intensité d'encrassement n'augmente qu'à partir de la première semaine d'immersion jusqu'à la 2<sup>ème</sup> semaine d'immersion, puis diminue pour augmenter à nouveau à partir de la 4<sup>ème</sup> semaine d'immersion. La valeur maximale est atteinte au 59<sup>ème</sup> jour (1,12%) et se stabilise par la suite.

Cette faible intensité d'encrassement est surprenante puisqu'il était attendu qu'à la fin de l'été le milieu marin soit riche en nutriments. D'après le Tableau 4-7, l'eau de mer est, au contraire, encore moins riche en nutriments, expliquant donc la très faible intensité d'encrassement mesurée et le développement très tardif des micro-organismes à la surface des éprouvettes.

Ce développement tardif des cellules sur les échantillons est également observé par caractérisation fluorimétrique (Figure 4-72).



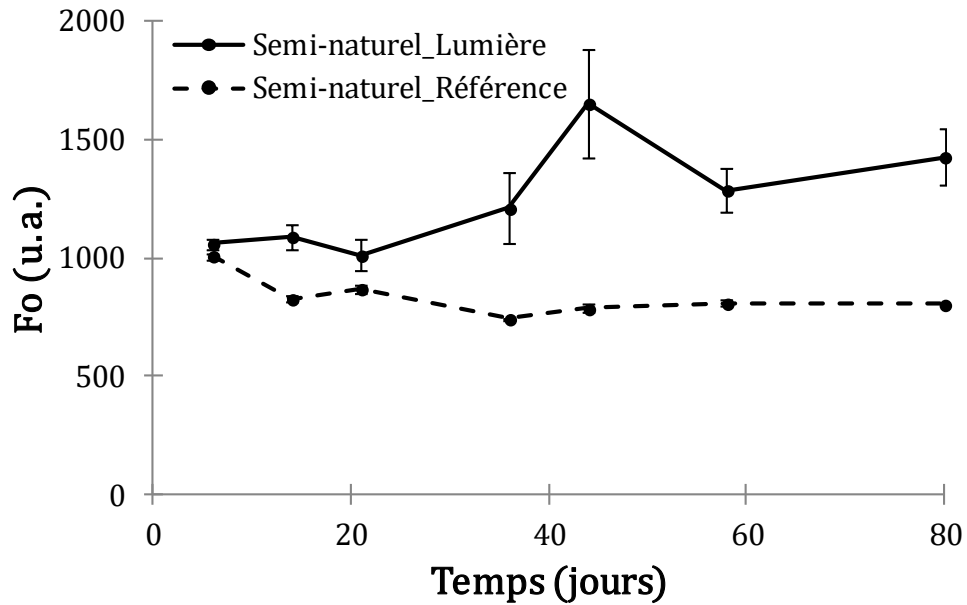


Figure 4-72 : Evolution de la quantité de biomasse (Fo, unités arbitraires) sur la surface des éprouvettes de mortier durant l'expérience à la fin de l'été

Durant les quatre premières semaines d'immersion, la quantité de biomasse n'évolue pas, fluctuant autour de la quantité de biomasse initiale. Ce n'est qu'après 36 jours d'immersion que l'augmentation de la quantité de biomasse est observée. La valeur maximale est atteinte après 44 jours d'immersion. Une fois cette dernière dépassée, la quantité diminue et se stabilise à une valeur inférieure pour toute la fin de l'expérience.

La tendance observée par mesure de l'intensité d'encrassement est donc également visible par mesure de la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes. Les valeurs de Fo sont sensiblement les mêmes que les immersions ayant eu lieu au printemps ou en hiver.

Au niveau de l'acclimatation des cellules à leur substrat, il est possible d'observer que ces dernières sont dans un mauvais état physiologique (Figure 4-73).

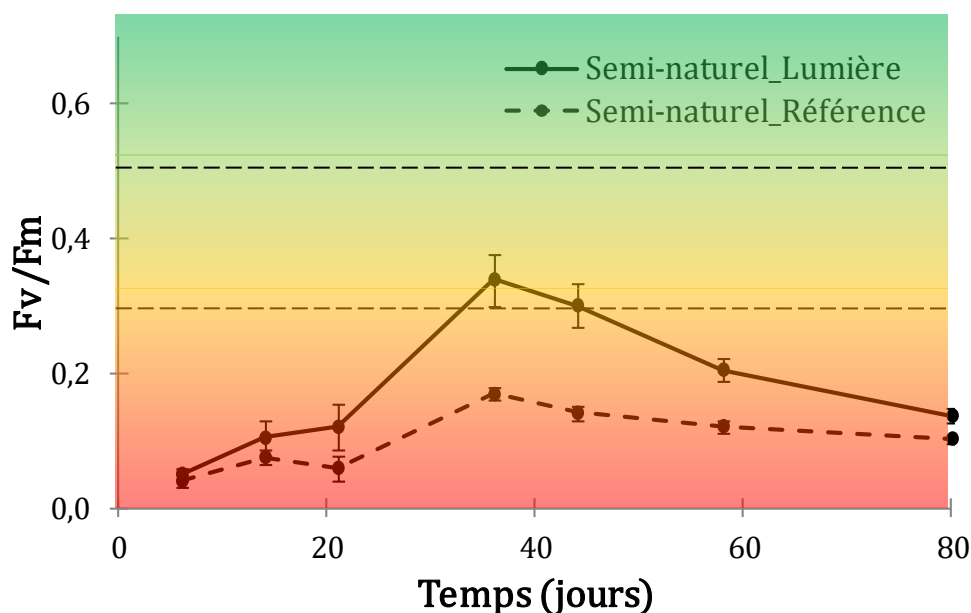


Figure 4-73 : Evolution du rendement quantique de la photochimie du photosystème ( $F_v/F_m$ ) des cellules présentes à la surface des éprouvettes de mortier immergées en milieu marin semi-naturel à la fin de l'été

Le rendement de la photochimie du photosystème augmente durant les 36 premiers jours, correspondant au maximum de biomasse présent à la surface des éprouvettes. La valeur atteinte ne dépasse pas 0,4. Une fois ce maximum atteint, le ratio chute immédiatement jusqu'à la fin de l'expérience. Les cellules ne sont donc pas bien acclimatées à leur milieu, certainement en raison du manque flagrant de nutriments dans le milieu. Bien que l'eau de mer ait été récupérée en fin d'été, elle est extrêmement pauvre en nutriments et ne permet pas le développement des micro-organismes.

## 2. SYNTHÈSE DES RESULTATS ET COMPARAISON AU MILIEU MARIN ARTIFICIEL

Une même expérience a donc été réalisée quatre fois en milieu marin semi-naturel, à différentes saisons. L'eau de mer est le seul paramètre qui évolue durant les expériences. Afin d'évaluer de manière comparative l'effet de l'environnement extérieur sur la colonisation, les résultats vont être placés dans les mêmes graphiques. De plus, les résultats obtenus dans le chapitre 3 vont être ajoutés, dans le but de comparer le développement du biofilm en milieu marin artificiel et en milieu marin semi-naturel.

	Température (°C)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (mg/L)	Si(OH) <sub>4</sub> (mg/L)
Eau mer artificielle	20	-	149	-	-	[concentré]
15/11/2016	11,38	0,0676	2,13	0,0216	0,104	1,838
12/01/2017	7,39	0,0141	1,970	0,0534	0,0902	1,569
11/05/2017	13,10	0,00239	1,169	0,0161	0,0104	0,0595
21/08/2017	19,01	0,000486	0,00155	0,0139	0,00475	0,102

Tableau 4-8 : Concentration des ions lors des différentes manipulations

La Figure 4-74 illustre la comparaison des intensités d'encrassement mesurées à la surface des éprouvettes selon la période à laquelle elles ont été immergées dans l'eau de mer naturelle.

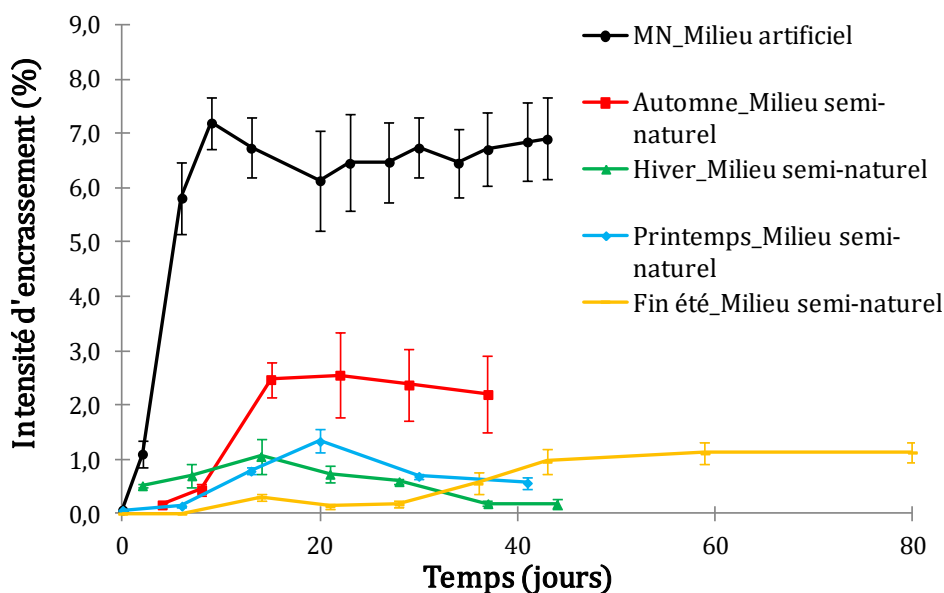


Figure 4-74 : Comparaison de l'intensité d'encrassement à la surface des éprouvettes de mortier entre les éprouvettes immergées en milieu semi-naturel (automne, hiver, printemps et fin d'été) et celles immergées en milieu marin artificiel

L'intensité d'encrassement est supérieure dans le cas des éprouvettes immergées en milieu marin artificiel par rapport à celles immergées en milieu marin semi-naturel, en raison des concentrations très importantes des nutriments dans le milieu et des conditions de croissance favorisées (Tableau 4-8).

L'intensité d'encrassement est plus importante dans le cas de l'immersion des éprouvettes de mortier dans le milieu marin en automne. Lors des immersions en hiver, printemps ou à la fin de l'été, les intensités d'encrassement ne dépassent pas la valeur de 1,5 % alors que celle des mortiers immergés en automne monte jusqu'à environ 2,5 % d'encrassement.

Mis à part le suivi d'immersion ayant eu lieu à la fin de l'été, les courbes d'intensités d'encrassement suivent les mêmes tendances, c'est-à-dire l'augmentation des valeurs pour atteindre un point maximal puis une chute de celles-ci. Cette tendance a été observée quelque soit le milieu d'étude (artificiel ou semi-naturel).

Les courbes relatives au suivi de la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes ont également été placées dans un même graphique (Figure 4-75).

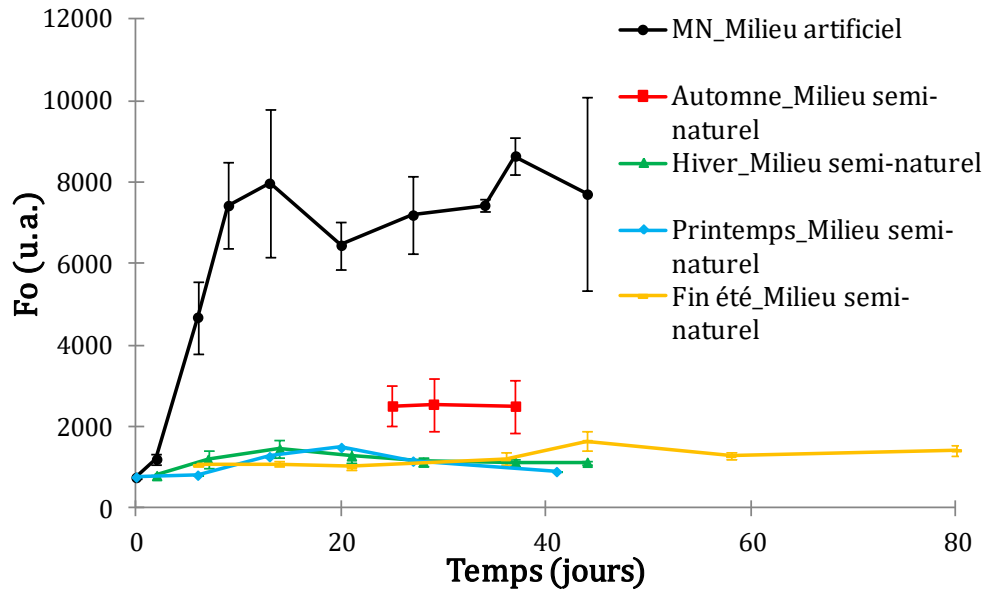


Figure 4-75 : Comparaison de la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes de mortier entre les éprouvettes immergées en milieu semi-naturel (automne, hiver, printemps et fin d'été) et celles immergées en milieu marin artificiel

Les valeurs mesurées sur les éprouvettes de mortier durant l'expérience pendant la saison de l'automne ont été ajoutée. En effet, même si elles ne permettent pas d'évaluer l'évolution de la quantité de biomasse, elles permettent tout de même d'avoir une indication quant à la quantité de biomasse présente en fin d'expérience sur les échantillons.

Comme l'évaluation de l'intensité d'encrassement, la quantité de biomasse lors de l'expérience effectuée en milieu marin artificiel est supérieure à celle des expériences effectuées en milieu marin semi-naturel. Les conditions de croissance optimales (température, lumière, nutriments) peuvent en être la raison. Lors de l'expérience en automne, la quantité de biomasse  $F_o$  est supérieure aux autres expériences ayant eu lieu en milieu marin semi-naturel. En effet, en fin d'expérience, la quantité de biomasse est de l'ordre de 2500 unités arbitraires alors qu'elle n'est en moyenne que de 1300 unités arbitraires pour les trois autres expériences effectuées à d'autres saisons.

Le développement des micro-organismes sur les éprouvettes de mortier normalisé s'effectue mieux en période automnale qu'en hiver, printemps ou même en fin d'été. Trois paramètres environnementaux peuvent affecter le développement et induire un stress sur le biofilm (température du milieu, disponibilité en nutriments et quantité de lumière reçue par les microorganismes pour effectuer la photosynthèse). Ce stress est visible dans chacune des manipulations au travers de la mesure du rendement de la photochimie du photosystème (Figure 4-76).

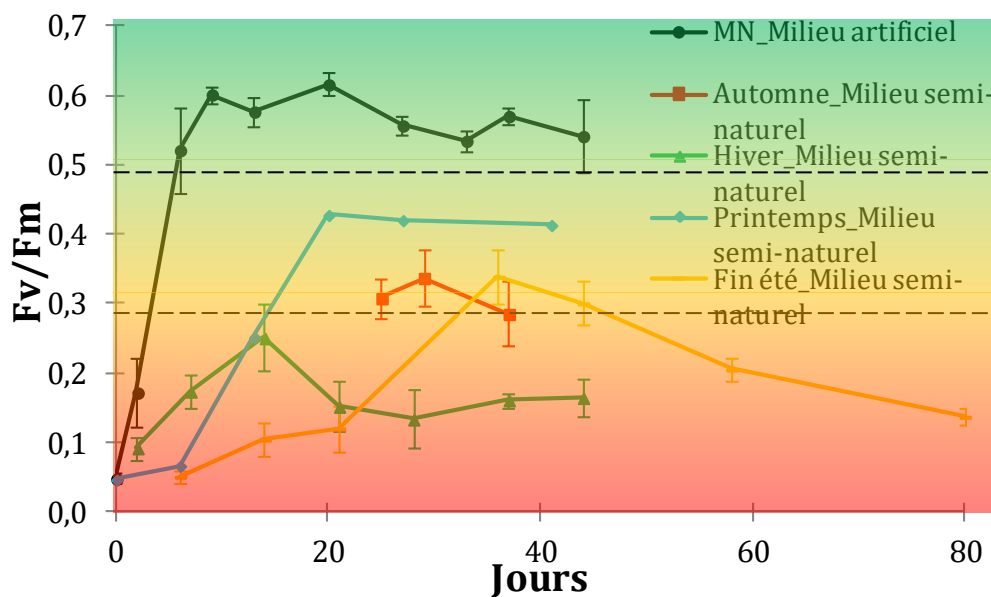


Figure 4-76 : Comparaison du rendement quantique de la photochimie du photosystème à la surface des éprouvettes de mortier entre les éprouvettes immergées en milieu semi-naturel (automne, hiver, printemps et fin d'été) et celles immergées en milieu marin artificiel

Les valeurs mesurées sur les éprouvettes immergées lors de la première expérience (automne) ont été ajoutées au graphique dans le but de permettre une comparaison entre les états d'acclimatation des cellules à leur substrat entre toutes les saisons étudiées.

Pour toutes les manipulations en milieu semi-naturel, les cellules sont moyennement voire pas du tout acclimatées à leur milieu de développement, au contraire des cellules présentes dans le milieu marin artificiel. Les valeurs n'excèdent pas un ratio  $F_v/F_m$  de 0,5, bien qu'elles s'en approchent lors de l'immersion au printemps. L'expérience effectuée en plein hiver montre le moins bon ratio.

Des stress sont donc induits sur les cellules selon la période à laquelle est récupérée l'eau de mer. Trois paramètres peuvent créer ces mauvais états d'acclimatation. Le premier concerne l'énergie lumineuse, permettant aux cellules d'effectuer les réactions de photosynthèse (Behrenfeld et al., 2004 ; Cole et Cloern, 1987). Dans les expériences effectuées ici, l'énergie lumineuse est toujours la même et n'évolue pas entre chaque manipulation. Le deuxième paramètre concerne les nutriments, indispensables au développement des organismes (Behrenfeld et al., 2004 ; Mangoni et al., 2009). Dans les manipulations présentées dans cette partie, la composition de l'eau de mer évolue selon la période de l'année. Les concentrations en nitrate, phosphate ou encore en acide silicique sont, à l'automne, relativement importante alors qu'elles sont de plus en plus faible au fur et à mesure de l'avancée dans l'année. A la fin du mois d'août, les concentrations sont au plus bas et expliquent alors la difficulté des cellules de se reproduire pour former un biofilm sur les éprouvettes. Enfin, le troisième et dernier paramètre est relatif à la température de l'eau de mer (Claquin et al., 2008 ; Davison, 1991). Durant les manipulations, l'eau de mer a été récupérée à différents moments de l'année. La température a donc logiquement évolué entre un début de manipulation au

mois d'août et un autre au mois de janvier. En effet, entre ces deux manipulations, l'écart de température est presque de 10 °C, ce qui est très important au niveau du développement du biofilm.

La manipulation ayant eu lieu à la fin du mois d'août a donc eu l'avantage d'avoir une température de l'eau de mer particulièrement élevée (19,09 °C) mais une grande pauvreté en éléments nutritifs, expliquant le faible développement d'organismes. La manipulation en hiver a combiné une faible température de l'eau (7,39 °C) ainsi qu'une certaine pauvreté en éléments nutritifs. La manipulation des mois de mai et juin a quant à elle eu lieu à une température moyenne (13,1 °C) mais toujours avec une eau de mer pauvre en nutriments. Enfin, la manipulation ayant permis d'observer le développement de micro-organismes le plus important est celle démarrée en novembre. En plus de bénéficier d'une richesse en nutriments, sa température (11,38 °C) n'a pas été un frein trop important pour le développement des organismes.

## CONCLUSION

Au travers de cette étude en milieu semi-naturel, plusieurs conclusions ont pu être tirées. Tout d'abord, d'un point de vue général, une colonisation faible des éprouvettes de mortier normalisé a été observée en milieu semi-naturel, en comparaison à la colonisation ayant eu lieu en milieu marin artificiel. En milieu artificiel, l'intensité d'encrassement approchait les 8% alors qu'elle dépasse difficilement les 2,5% en milieu semi-naturel. De la même façon, la quantité de biomasse est également très faible par rapport aux expériences effectuées en laboratoire (~ 2000 u. a. en milieu semi-naturel contre ~ 8000 u. a. en milieu artificiel). Cette plus faible colonisation peut être expliquée par différents facteurs. Tout d'abord, l'eau de mer étant filtrée puis passée sous UV, de nombreuses espèces, présentes en eau de mer ont pu être retenues avant leur entrée dans les bacs. De plus, par rapport au milieu marin artificiel utilisé en laboratoire, les cellules sont, en milieu semi-naturel, beaucoup moins concentrées. Cette plus faible concentration impacte donc la colonisation puisqu'il leur faut plus de temps pour se développer. La température et l'abondance des nutriments sont également autant de paramètres qui affectent le développement des cellules. Il existe également en milieu semi-naturel une grande diversité d'organismes, non caractérisés, présents dans les bacs lors des études. Certains de ces organismes se développent dans un biofilm, tandis que d'autres (les brouteurs) se développent en se nourrissant du biofilm créé. Ces brouteurs entrent donc en compétition avec les organismes colonisateurs, diminuant ainsi la quantité de biofilm créé à la surface des éprouvettes de mortier immergées.

L'intérêt d'immerger les éprouvettes à différents moments dans l'année était de mettre en avant l'influence des saisons sur la colonisation d'un matériau cimentaire. L'expérience ayant eu lieu en automne a montré la meilleure colonisation en raison de conditions environnementales plus favorables qu'aux autres saisons. En effet, la température de l'eau de mer et la concentration élevées en nutriments ont permis aux cellules de mieux se développer qu'aux autres saisons.





---

# CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

---

L'ensemble des travaux de recherche présentés dans ce manuscrit a été réalisé au sein des laboratoires de l'ESITC Caen et de la station marine du CREC basée à Luc-sur-Mer. Ces travaux ont été effectués afin de développer l'étude de la colonisation des microalgues sur les matériaux cimentaires ainsi que leur effet sur les propriétés chimiques de ceux-ci.

Les littoraux sont soumis à une bétonisation croissante et de plus en plus importante en raison de l'accroissement de la population mondiale. De nombreuses interactions ont alors lieu entre le milieu marin et le matériau, au niveau physique, chimique et biologique. Les interactions biologiques sont, à la différence des deux autres types d'interactions, très peu documentées dans la littérature. Dans le contexte actuel de protection de l'environnement et des fonds marins, mieux comprendre l'interaction entre l'environnement marin et le béton mènerait à une meilleure utilisation de ce matériau dans le futur. De multiples débouchés pourraient ainsi en découler tels que la construction d'infrastructures ayant également une visée écologique.

Plusieurs actions ont ainsi été menées durant cette thèse:

- Mise en place d'un dispositif expérimental reproduisant partiellement le milieu marin ;
- Comparaison du dispositif expérimental créé à un milieu semi-naturel ;
- Choix d'outils pertinents permettant d'évaluer la colonisation ;
- Etude de l'impact de la formulation sur la colonisation ;
- Influence des facteurs environnementaux sur la colonisation.

Le manuscrit présenté a permis d'apporter quelques éléments de réponse aux questions précédemment soulevées.

Dans un premier temps, l'étude bibliographique a permis de relier le domaine du génie civil à celui de la biologie marine, afin de mieux cerner l'aspect pluridisciplinaire de cette thèse. Cette étude a également permis de mettre en évidence le manque de connaissances concernant l'interaction entre les organismes marins et les matériaux cimentaires, puisque les principales recherches effectuées en milieu marin s'intéressent plutôt à l'effet chimique de l'eau de mer sur la matrice cimentaire ou son impact physique sur les propriétés mécaniques du matériau. Concernant les interactions d'ordre biologique entre le biofilm de microorganismes marins et le matériau cimentaire, les recherches sont beaucoup moins nombreuses voire quasiment inexistantes. Afin d'avoir un socle de connaissances au départ de cette thèse, les recherches bibliographiques se sont tournées vers le domaine du développement d'algues sur les façades des bâtiments. Ce domaine s'intéresse en effet aux interactions existantes entre le matériau cimentaire des bâtiments et les algues s'y développant à leurs surfaces, en proposant des protocoles expérimentaux de caractérisation de la colonisation. Une revue bibliographique axée sur la biologie du milieu marin a permis de mettre en évidence les principaux facteurs pouvant influencer le développement des algues. Tout d'abord les facteurs environnementaux des milieux marins comme la température du milieu, la disponibilité en nutriments ou encore la quantité de lumière reçue ont été détaillés. Dans un second temps, les facteurs propres au matériau cimentaire, tels que la rugosité de la surface ou la géométrie de l'ouvrage ont été mentionnés. Les conséquences du développement d'un biofilm de microorganismes sur les matériaux cimentaires sont diverses. Tout d'abord, le phénomène de biodétérioration a été étudié au travers de plusieurs articles mettant en évidence l'effet négatif des microorganismes sur les propriétés du matériau. Certains auteurs ont également souligné la protection physique qui peut être apportée par le biofilm sur le matériau.

Des essais utilisés essentiellement en biologie, en chimie ou dans le domaine du génie civil ont été adaptés à la thématique de cette thèse. Les protocoles ont été travaillés afin de d'obtenir des résultats pertinents pour le sujet de cette thèse. La souche de diatomées *Cylindrotheca closterium* a été choisie en raison de sa robustesse, nécessaire dans une étude pluridisciplinaire telle que celle-ci.

Pour effectuer cette étude, il a tout d'abord été nécessaire de mettre en place le dispositif expérimental. Ce travail a été le fruit d'une étude approfondie afin de créer un dispositif facile à mettre en place et représentatif de la réalité. Il est composé d'un bac, d'une pompe

à air ainsi que de deux rampes LED permettant un éclairage reproduisant le cycle du Soleil. Ce dispositif a été rempli d'eau de mer, fabriquée à partir de sels marins synthétiques. Une souche de diatomées *Cylindrotheca closterium* ainsi que les nutriments nécessaires à son développement ont été ajoutés. Afin de pouvoir évaluer les modifications de la matrice cimentaire par le biofilm, chaque étude a également été reproduite dans un milieu ne contenant que l'eau avec les sels marins (appelée eau salée dans l'étude). Des éprouvettes de mortier normalisé, âgées de 28 jours ont été immergées pendant six semaines. Elles ont été caractérisées de façon non-destructive dans le but de suivre la colonisation des surfaces. Trois méthodes ont été utilisées :

- Analyse d'image par prise de photographies régulières de la surface ;
- Spectrocolorimétrie ;
- Fluorimétrie.

Chaque face (face supérieure, faces latérales et face inférieure) a été évaluée, afin d'évaluer la pertinence des outils de caractérisation. Ces différentes caractérisations ont montré des résultats cohérents et des cinétiques de recouvrement des surfaces relativement proches. Cependant, il a été choisi de ne pas continuer la caractérisation par analyse d'images, en raison de la marge d'erreur trop importante pouvant découler de l'appréciation de l'œil de l'opérateur. La face supérieure a montré une colonisation plus importante que les faces latérales et inférieure, en raison de son orientation préférentielle à la lumière. Pour la suite des expériences, seule cette face sera donc évaluée. Les analyses chimiques par chromatographie ionique ont montré une pénétration plus importante des ions chlorure et sulfate dans le matériau cimentaire lorsque l'éprouvette était recouverte de biofilm. La création d'un microréseau dans le matériau par les diatomées pourrait expliquer ce phénomène. Les analyses effectuées par thermogravimétrie ont montré une formation de carbonate de calcium plus importante en présence de biofilm, probablement en raison de l'activité photosynthétique des algues.

Afin d'évaluer l'impact de la composition du substrat sur la colonisation, des éprouvettes enrichies en carbonate de calcium ou en nutriments (nitrates) ont également été immergées. L'outil de spectrocolorimétrie a montré des limites de détection, en raison d'une densité de diatomées trop importante à la surface des échantillons.

La quantité de biomasse présente à la surface du matériau a été deux fois supérieure à celle détectée lors de l'immersion de mortier normalisé, dans le cas des éprouvettes formulées avec du sable calcaire ou enrichies en ions nitrate. La pénétration des ions chlorure et sulfate a été observée comme étant supérieure lorsque l'éprouvette de mortier était recouverte de biofilm. Ces observations mettent donc en évidence le rôle important que joue le biofilm dans la pénétration des ions agressifs présents dans l'eau de mer et appuient l'hypothèse de la création d'un microréseau au sein du matériau. Il a cependant été observé que la pénétration de ces ions était moins marquée au sein de ces matériaux (enrichis en nitrates ou en présence de sable calcaire) qu'au sein du mortier normalisé. Ces observations pourraient alors mettre en évidence le phénomène de bioprotection du

biofilm sur le matériau. En effet, en raison de sa présence plus marquée, le biofilm pourrait alors jouer un rôle de barrière physique vis-à-vis des ions présents dans l'eau de mer.

La présence de biofilm accélérerait également la lixiviation de la matrice cimentaire. Plusieurs hypothèses pouvant expliquer ce phénomène ont été émises :

- Dissolution de la matrice par les sécrétions des diatomées ;
- Création d'un tampon pH à l'interface entre le matériau cimentaire et le biofilm.

Il a été également mis en évidence la formation plus importante de carbonate de calcium à la surface des matériaux cimentaires recouverts de biofilm. Plusieurs phénomènes pourraient en être la raison comme la photosynthèse des microorganismes ainsi que la carbonatation. La présence plus importante de biofilm sur les éprouvettes de mortier a également été visible par mesure du pH de la solution d'eau de mer artificielle.

Les résultats obtenus dans cette thèse confirment donc le potentiel d'étude de tels sujets, en lien avec les objectifs scientifiques actuels. La liste ci-dessous permet de mettre en lumière plusieurs propositions pour de futures recherches, dans le but d'améliorer le dispositif expérimental conçu pour cette étude ou de pousser les recherches par rapport aux résultats obtenus dans cette étude :

- Il serait intéressant de faire fonctionner le dispositif expérimental de façon continue, dans le but d'avoir un renouvellement constant des nutriments pour les diatomées et de s'affranchir du phénomène de lixiviation des matériaux cimentaires ;
- En utilisant un système continu, il serait alors possible d'effectuer le suivi de la colonisation sur une durée plus importante. Ceci pourrait donc mettre en évidence de façon plus nette l'effet du biofilm sur la composition de la matrice cimentaire ;
- Les phénomènes de pénétration des ions chlorure et sulfate sont très intéressants. L'étude de leur comportement dans le matériau en présence de biofilm pourrait être approfondie et toucherait de nombreux domaines industriels en lien avec l'utilisation du béton armé en milieu marin ;
- Dans cette étude, un seul microorganisme a été utilisé (la diatomée *Cylindrotheca closterium*), ne donnant des conclusions que pour cette espèce. Le milieu marin étant extrêmement diversifié, il serait intéressant d'effectuer les études avec d'autres espèces marines ;
- Les éprouvettes de mortier immergées en milieu semi-naturel au CREC n'ont pas été autant caractérisées que celles immergées en laboratoire. Il serait intéressant d'effectuer les mêmes analyses chimiques. Ces immersions pourraient également être plus longues et posséder un système de renouvellement constant de l'eau de mer ;

- Les éprouvettes pourraient également être immergées en milieu complètement naturel. La colonisation et la biodétérioration devraient s'effectuer plus rapidement en raison d'une disponibilité continue des nutriments et d'un brassage régulier du milieu environnant. Dans cette situation, d'autres considérations seraient alors à prendre en compte, comme la forme des échantillons par exemple ;
- Dans cette étude, l'état de surface des éprouvettes n'a pas été un facteur d'étude comme cela a pu être le cas dans différentes recherches. Il serait intéressant s'intéresser à des critères tels que la rugosité ou le pH de surface ou la porosité du matériau, dans le but de mieux comprendre les mécanismes de colonisation.



## BIBLIOGRAPHIE

- AFFAN A. et al. (2009) – Optimal growth conditions and antioxidative activities of *Cylindrotheca closterium* (Bacillariophyceae): antioxidant activities of *C. closterium*, *Journal of Phycology*, 45, 6, p.p. 1405-1415.
- ALCOVERRO T., CONTE E., MAZZELLA L. (2008) – *Production of mucilage by the Adriatic epipelagic diatom Cylindrotheca closterium (Bacillariophyceae) under nutrient limitation*, vol. 36, 2008, 1087 p.
- AMMAR Y. et al. (2015) – Influence of surface roughness on the initial formation of biofilm, *Surface and Coatings Technology*, 284, p.p. 410-416.
- AMO Y.D., BRZEZINSKI M.A. (1999) – The chemical form of dissolved Si taken up by marine diatoms, *Journal of Phycology*, 35, 6, p.p. 1162-1170.
- ATKINSON M.J., BINGMA, C. (1997) – Elemental composition of commercial seasalts, *Journal of Aquaculture and Aquatic Sciences*, VIII, 2, p.p. 39-43.
- BACON G.S., MACDONALD B.A., WARD J.E. (1998) – Physiological responses of infaunal (*Mya arenaria*) and epifaunal (*Placopecten magellanicus*) bivalves to variations in the concentration and quality of suspended particles, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 219, 1-2, p.p. 105-125.
- BADIREDDY A.R. et al. (2010) – Role of extracellular polymeric substances in bioflocculation of activated sludge microorganisms under glucose-controlled conditions, *Water Research*, 44, 15, p.p. 4505-4516.
- BASTIDAS-ARTEAGA E. et al. (2008) – Coupled reliability model of biodeterioration, chloride ingress and cracking for reinforced concrete structures, *Structural Safety*, 30, 2, p.p. 110-129.
- BATIRAMA (2018) – L'aéroport de Nice-Côte d'Azur va s'agrandir Etat et collectivités, Consultable à <https://www.batirama.com/article/16771-l-aeroport-de-nice-cote-d-azur-va-s-agrandir.html> [Accédé le 17 septembre 2018].
- BEHRENFELD M.J. et al. (2004) – IN SEARCH OF A PHYSIOLOGICAL BASIS FOR COVARIATIONS IN LIGHT-LIMITED AND LIGHT-SATURATED PHOTOSYNTHESIS1: PHOTOSYNTHETIC VARIABILITY IN ALGAE, *Journal of Phycology*, 40, 1, p.p. 4-25.
- BERTRON A., ESCADEILLAS G., DUCHESNE J. (2004) – Cement pastes alteration by liquid manure organic acids: chemical and mineralogical characterization, *Cement and Concrete Research*, 34, 10, p.p. 1823-1835.
- BODÉN P. (1988) – Epipsammic diatoms as borers: an observation on calcareous sand grains, *Sedimentary Geology*, 59, 1-2, p.p. 143-147.
- BOURRIÉ B. (2007) – La fluorescence chlorophyllienne comme outil de diagnostic, *in* Blois, .
- BRADBURY J. (2004) – Nature's Nanotechnologists: Unveiling the Secrets of Diatoms, *PLoS Biology*, 2, 10, p.p. e306.
- BRASLAVSKY S.E. (2007) – Glossary of terms used in photochemistry, 3rd edition (IUPAC Recommendations 2006), *Pure and Applied Chemistry*, 79, 3. Consultable à <https://www.degruyter.com/view/j/pac.2007.79.issue-3/pac200779030293/pac200779030293.xml> [Accédé le 23 mars 2018].
- BRIAN-JAISSON F. (2014) – *Identification et caractérisation des exopolymères de biofilms de bactéries marines*, Université de Toulon, 239 p.
- BRUNO J.F., CARR L.A., O'CONNOR M.I. (2015) – Exploring the role of temperature in the ocean through metabolic scaling, *Ecology*, 96, 12, p.p. 3126-3140.

- CACABELOS E. et al. (2010) – Effects of habitat structure and tidal height on epifaunal assemblages associated with macroalgae, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 89, 1, p.p. 43-52.
- CARBONNEL V. et al. (2013) – Diatoms, silicic acid and biogenic silica dynamics along the salinity gradient of the Scheldt estuary (Belgium/The Netherlands), *Biogeochemistry*, 113, 1-3, p.p. 657-682.
- CARVALHO L.R.S., LOIOLA M., BARROS F. (2017) – Manipulating habitat complexity to understand its influence on benthic macrofauna, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 489, p.p. 48-57.
- CHIU J. et al. (2008) – Nutrient effects on intertidal community: from bacteria to invertebrates, *Marine Ecology Progress Series*, 358, p.p. 41-50.
- CHLAYON T., IWANAMI M., CHIJIWA N. (2018) – Combined protective action of barnacles and biofilm on concrete surface in intertidal areas, *Construction and Building Materials*, 179, p.p. 477-487.
- CLAQUIN P. et al. (2008) – Effects of temperature on photosynthetic parameters and TEP production in eight species of marine microalgae, *Aquatic Microbial Ecology*, 51, p.p. 1-11.
- CODINA M. (2007) – *Les bétons bas pH - Formulation, caractérisation et étude à long terme*, INSA de Toulouse
- COLE B., CLOERN J. (1987) – An empirical model for estimating phytoplankton productivity in estuaries, *Marine Ecology Progress Series*, 36, p.p. 299-305.
- COMPÈRE C. et al. (2001) – Kinetics of conditioning layer formation on stainless steel immersed in seawater, *Biofouling*, 17, 2, p.p. 129-145.
- COOMBES M.A. et al. (2017) – Cool barnacles: Do common biogenic structures enhance or retard rates of deterioration of intertidal rocks and concrete?, *Science of The Total Environment*, 580, p.p. 1034-1045.
- COSTERTON J.W. et al. (1995) – Microbial Biofilms, *Annual Review of Microbiology*, 49, 1, p.p. 711-745.
- CUPP E.E. (1977) – *Marine plankton diatoms of the west coast of North America*, Koenigstein, Koeltz, 1977, 237 p.
- CWALINA B. (2008) – Biodeterioration of concrete, *Architecture Civil Engineering Environment*, 1, 4.
- DAILYMAIL (2013) – Shanghai port, the world's busiest, handles 736m tonnes every year, *Mail Online*. Consultable à <https://www.dailymail.co.uk/news/article-2478975/Shanghai-port-worlds-busiest-handles-736m-tonnes-year.html> [Accédé le 12 septembre 2018].
- DALOD E. (2015) – *Influence de la composition chimique de mortiers sur leur biodétérioration par les algues*, Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, St Etienne
- DAVISON I.R. (1991) – ENVIRONMENTAL EFFECTS ON ALGAL PHOTOSYNTHESIS: TEMPERATURE, *Journal of Phycology*, 27, 1, p.p. 2-8.
- DE MUYNCK W. et al. (2009) – Evaluation of strategies to prevent algal fouling on white architectural and cellular concrete, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63, 6, p.p. 679-689.
- DE WEERDT K., JUSTNES H. (2015) – The effect of sea water on the phase assemblage of hydrated cement paste, *Cement and Concrete Composites*, 55, p.p. 215-222.
- DEBIAGI P.E.A. et al. (2017) – Algae characterization and multistep pyrolysis mechanism, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 128, p.p. 423-436.



- DEMIREL Z., IMAMOGLU E., CONK DALAY M. (2015) – Fatty acid profile and lipid content of *Cylindrotheca closterium* cultivated in air-lift photobioreactor: Fatty acid profile and lipid content, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 90, 12, p.p. 2290-2296.
- DONLAN R.M. (2002) – Biofilms: Microbial Life on Surfaces, *Emerging Infectious Diseases*, 8, 9, p.p. 881-890.
- DROUET E. (2010) – *Impact de la température sur la carbonatation des matériaux cimentaires - prise en compte des transferts hydriques*, ENS Cachan
- DRUGĂ B. et al. (2018) – Interaction between wastewater microorganisms and geopolymer or cementitious materials: Biofilm characterization and deterioration characteristics of mortars, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 134, p.p. 58-67.
- DUBOSC A. (2000) – *Etude du développement de salissures biologiques sur les parements en béton : mise au point d'essais accélérés de vieillissement*, INSA Toulouse, Toulouse
- DÜZBASTILAR F.O. et al. (2006) – Recent developments on artificial reef applications in Turkey: hydraulic experiments, *Bulletin of Marine Science*, 78, 1, p.p. 195-202.
- EGGE J., AKSNES D. (1992) – Silicate as regulating nutrient in phytoplankton competition, *Marine Ecology Progress Series*, 83, p.p. 281-289.
- ERDOGAN A. et al. (2016) – Fucoxanthin content of *Cylindrotheca closterium* and its oxidative stress mediated enhancement, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16, p.p. 491-498.
- ESCADEILLAS G. et al. (2009) – Accelerated testing of biological stain growth on external concrete walls. Part 2: Quantification of growths, *Materials and Structures*, 42, 7, p.p. 937-945.
- FÉRET J.-B. (2009) – *Apport de la modélisation pour l'estimation de la teneur en pigments foliaires par télédétection*, Université Pierre et Marie Curie
- FLEMMING H.-C., WINGENDER J. (2010) – The biofilm matrix, *Nature Reviews Microbiology*, 8, 9, p.p. 623-633.
- FRANCECULTURE (2017) – Climat et érosion : y'aura-t-il encore des plages demain ?, Consultable à <https://www.franceculture.fr/emissions/itineraire-bis/climat-et-erosion-yaura-t-il-encore-des-plages-demain> [Accédé le 12 septembre 2018].
- GADELMAWLA E.S. et al. (2002) – Roughness parameters, *Journal of Materials Processing Technology*, 123, 1, p.p. 133-145.
- GOLDSTEIN R. (2007) – *Marine Reef Aquarium Handbook*, Second Edition, Barron's Educational Series, 2007, 208 p.
- GUÉZENNEC J. (2017) – *Biodégradation des matériaux : Quels risques pour la santé et l'environnement ?*, Quae, Ifremer, (Enjeux sciences, 2017, 120 p.
- GUIRY M.D. (2018) – *World-wide electronic publication*, 2018
- HE X. et al. (2016) – Mg<sup>2+</sup> /Ca<sup>2+</sup> promotes the adhesion of marine bacteria and algae and enhances following biofilm formation in artificial seawater, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 146, p.p. 289-295.
- HERISSON J. (2013) – *Biodétérioration des matériaux cimentaires dans les ouvrages d'assainissement : étude comparative du ciment d'aluminate de calcium et du ciment Portland*, Université Paris-Est
- HERLORY O. (2005) – *Etude du biofilm microalgal des vasières intertidales : dynamique spatio-temporelle à micro-échelle et performances photosynthétiques*, La Rochelle, La Rochelle

- HEWLETT P. (1998) – *Lea's Chemistry of Cement and Concrete*, Elsevier, 1998  
Consultable  
à <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780750662567X50073> [Accédé le 5 juillet 2018].
- HILDEBRAND M., DOKTYCZ M.J., ALLISON D.P. (2008) – Application of AFM in understanding biomineral formation in diatoms, *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 456, 1, p.p. 127-137.
- HUECK H.J. (1965) – The biodeterioration of materials as a part of hydrobiology, *Material und Organismen*, 1, p.p. 5-34.
- HUGHES P. et al. (2014) – Microbial degradation of synthetic fibre-reinforced marine concrete, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 86, p.p. 2-5.
- HUGHES P. et al. (2013) – Microscopic study into biodeterioration of marine concrete, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 79, p.p. 14-19.
- IGN (2018) – Remonter le temps, Consultable à [//remonterletemps.ign.fr](http://remonterletemps.ign.fr) [Accédé le 17 septembre 2018].
- INGRAM K.D., DAUGHERTY K.E. (1991) – A review of limestone additions to Portland cement and concrete, *Cement and Concrete Composites*, 13, 3, p.p. 165-170.
- INVENTAIRE NATIONAL DU PATRIMOINE NATUREL (2018) – *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann & J.C.Lewin, 1964, *Inventaire National du Patrimoine Naturel*. Consultable à [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/669242](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/669242) [Accédé le 13 septembre 2018].
- JACOBI C.M., LANGEVIN R. (1996) – Habitat geometry of benthic substrata: effects on arrival and settlement of mobile epifauna, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 206, 1-2, p.p. 39-54.
- JAVAHERDASHTI R. et al. (2009) – On the impact of algae on accelerating the biodeterioration/biocorrosion of reinforced concrete: a mechanistic review, *European Journal of Scientific Research*, 36, 3, p.p. 394-406.
- JAYAKUMAR S. (2012) – Effect of macro algae *Ulva fasciata* on concrete structures, *International Journal of the Physical Sciences*, 7, 5. Consultable à <http://www.academicjournals.org/IJPS/abstracts/abstracts/abstract2012/30Jan/Jayakumar%20and%20Saravanane.htm> [Accédé le 14 septembre 2018].
- JAYAKUMAR S., SARAVANANE R. (2009) – Biodeterioration of coastal concrete structures by Macro algae - *Chaetomorpha antennina*, *Materials Research*, 12, 4, p.p. 465-472.
- JAYAKUMAR S., SARAVANANE R. (2010) – Biodeterioration of coastal concrete structures by marine green algae, *International Journal of Civil Engineering*, 8, 4.
- JENKINS S. et al. (2001) – European-scale analysis of seasonal variability in limpet grazing activity and microalgal abundance, *Marine Ecology Progress Series*, 211, p.p. 193-203.
- KALAJI H.M. et al. (2014) – Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: practical issues, *Photosynthesis Research*, 122, 2, p.p. 121-158.
- KANMOGNE A., NTAMACK G.E., WADAWA B. (2012) – *Energie solaire pour le développement de la télécommunication*, Editions Universitaires Européennes, Editions Universitaires Européennes, 2012
- KATAKY R., KNOWLES E. (2018) – Biofilm formation on abiotic surfaces and their redox activity, *Current Opinion in Electrochemistry*. Consultable à <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2451910318300966> [Accédé le 13 septembre 2018].

- KATSIKOIANNI M., MISSIRLIS Y. (2004) – Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions, *European Cells and Materials*, 8, p.p. 37-57.
- KRABERG A., BAUMANN M., DÜRSELEN C.-D. (2010) – *Coastal phytoplankton: photo guide for Northern European seas*, München, Verlag Dr. Friedrich Pfeil, (Handbooks on marine flora and fauna, 2010, 204 p.
- KUCZYNSKA P., JEMIOLA-RZEMINSKA M., STRZALKA K. (2015) – Photosynthetic Pigments in Diatoms, *Marine Drugs*, 13, 9, p.p. 5847-5881.
- LAJILI H. et al. (2008) – Alteration of a cement matrix subjected to biolixiviation test, *Materials and Structures*, 41, 10, p.p. 1633-1645.
- LAVENDER J.T. et al. (2017) – Small-scale habitat complexity of artificial turf influences the development of associated invertebrate assemblages, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 492, p.p. 105-112.
- LCPC 2005 (2005) – *Présentation des techniques de diagnostic de l'état d'un béton soumis à un incendie*, 2005
- LEROY F. et al. (2015) – *Mise en place d'un biofilm microphytobenthique sur des bétons de différentes compositions*, Caen, (RECIF Conference on artificial reefs: from materials to ecosystem, 2015
- LESTARQUIT M. et al. (2015) – Effet du matériau du récif artificiel sur la colonisation par les macroalgues en conditions contrôlées, *in ESITC Caen*, .
- LIZIARD S. (2013) – *Littoralisation de la façade Nord-Méditerranéenne*, Université de Nice - Sophia Antipolis
- LORS C., FEUGAS F., TRIBOLLET B. (2017) – *Interactions Matériaux-Microorganismes. Bétons et métaux plus résistants à la biodétérioration*, EDP Sciences, (Science des matériaux, 2017, 428 p.
- LV J., MAO J., BA H. (2015) – Influence of marine microorganisms on the permeability and microstructure of mortar, *Construction and Building Materials*, 77, p.p. 33-40.
- M. BORSA et al. (2003) – *Chloride Penetration into Concrete Exposed to Marine Environment in Temperate Climate*, Unpublished, 2003
- MACINTYRE H.L., GEIDER R.J., MILLER D.C. (1996) – Microphytobenthos: The Ecological Role of the « Secret Garden » of Unvegetated, Shallow-Water Marine Habitats. I. Distribution, Abundance and Primary Production, *Estuaries*, 19, 2, p.p. 186.
- MANGONI O. et al. (2009) – The role of platelet ice microalgae in seeding phytoplankton blooms in Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica): a mesocosm experiment, *Polar Biology*, 32, 3, p.p. 311-323.
- MANSO S. et al. (2014) – Bioreceptivity evaluation of cementitious materials designed to stimulate biological growth, *Science of The Total Environment*, 481, p.p. 232-241.
- MATHER B. (1964) – Effects of Sea Water on Concrete, *Symposium on Effects of Agressive Fluids on Concrete*, p.p. 23.
- MAXWELL K., JOHNSON G.N. (2000) – Chlorophyll fluorescence—a practical guide, *Journal of Experimental Botany*, 51, 345, p.p. 659-668.
- MEHTA P.K. (1991) – *Concrete in the marine environment*, London, Elsevier Applied Science, (Modern concrete technology series, 1991, 214 p.
- MICHAEL KINGSTON (2009) – Growth and motility of the diatom *Cylindrotheca Closterium* : implications for commercial applications, , 125, 4, p.p. 138-142.
- MOE M. (2009) – *Marine Aquarium Handbook : beginner to breeder*, Tfh Pubns Inc, 2009, 351 p.

- MOORE C.M. et al. (2013) – Processes and patterns of oceanic nutrient limitation, *Nature Geoscience*, 6, p.p. 701.
- MORANDEAU A. (2013) – *Carbonatation atmosphérique des systèmes cimentaires à faible teneur en portlandite*, Paris-Est
- MORANDEAU A., THIÉRY M., DANGLA P. (2014) – Investigation of the carbonation mechanism of CH and C-S-H in terms of kinetics, microstructure changes and moisture properties, *Cement and Concrete Research*, 56, p.p. 153-170.
- MORELLE J. (2017) – *Dynamique spatiale et temporelle de la production primaire dans l'estuaire de Seine*, Université de Caen Normandie
- MORVAN J.-C. (1984) – Le poids de l'urbanisation et l'érosion des milieux littoraux : l'exemple d'Arenys de Mar (Barcelona), *Mélanges de la Casa de Velázquez*, 20, 1, p.p. 419-437.
- MUSUMECI M., CECCARELLI E., CATALANO-DUPUY D. (2012) – The Plant-Type Ferredoxin-NADP+ Reductases, in M. Najafpour dir, *Advances in Photosynthesis - Fundamental Aspects*, InTech, Consultable à <http://www.intechopen.com/books/advances-in-photosynthesis-fundamental-aspects/the-plant-type-ferredoxin-nadp-reductases> [Accédé le 9 février 2018].
- NAPOLÉON C. (2012) – *Évolution spatio-temporelle de la production primaire et des communautés phytoplanctoniques en Manche*, Université de Caen
- NAPOLÉON C., RAIMBAULT V., CLAQUIN P. (2013) – Influence of Nutrient Stress on the Relationships between PAM Measurements and Carbon Incorporation in Four Phytoplankton Species R. Paranhos dir, *PLoS ONE*, 8, 6, p.p. e66423.
- NELSON D.M. et al. (1995) – Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: Revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation, *Global Biogeochemical Cycles*, 9, 3, p.p. 359-372.
- OBSERVATOIRE DU LITTORAL, SOES, INSEE (2008) – *La démographie et l'économie du littoral métropolitain*, 2008
- OHGAI M., IWANO H., HOSHIJIMA M. (1986) – The effect of the environmental factors on the growth of diatom *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann et Lewin., *NIPPON SUISAN GAKKAISHI*, 52, 9, p.p. 1635-1640.
- OLLIVIER J.-P., VICHOT A. (2008) – *La durabilité des bétons*, Paris, Presses de l'Ecole nationale des ponts et chaussées, 2008, 844 p.
- PAGE J. (2017) – *Formulation et caractérisation d'un composite imentaire biofibré pour des procédés de construction préfabriquée*, Caen Normandie
- PALMER J., FLINT S., BROOKS J. (2007) – Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 34, 9, p.p. 577-588.
- PASQUERON DE FOMMERSVAULT O. (2015) – *Dynamique des nutriments en Méditerranée: des campagnes océanographiques aux flotteurs Bio-Argo*, Université Pierre et Marie Curie
- PERSOONE G. et al. (1981) – Air-lift pumps and the effect of mixing on algal growth, *IZWO Coll. Rep.*, 11, 16.
- RAGAB A.M. et al. (2016) – Evaluation of field concrete deterioration under real conditions of seawater attack, *Construction and Building Materials*, 119, p.p. 130-144.
- RANGEL-BUITRAGO N., WILLIAMS A., ANFUSO G. (2017) – Hard protection structures as a principal coastal erosion management strategy along the Caribbean coast of Colombia. A chronicle of pitfalls, *Ocean & Coastal Management*. Consultable

- à <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0964569116304173> [Accédé le 5 janvier 2018].
- RÄSÄNEN V., PENTTALA V. (2004) – The pH measurement of concrete and smoothing mortar using a concrete powder suspension, *Cement and Concrete Research*, 34, 5, p.p. 813-820.
- REDFIELD A.C. (1960) – The biological control of chemical factors in the environment, *Science Progress*, 11, p.p. 150-170.
- ROBERT S. (2009) – *La vue sur mer et l'urbanisation du littoral*, Université de Nice - Sophia Antipolis
- ROUSSEAU V. et al. (2002) – Diatom succession, silicification and silicic acid availability in Belgian coastal waters (Southern North Sea), *Marine Ecology Progress Series*, 236, p.p. 61-73.
- ROUX S., FEUGAS F., CORNET A. (2006) – Biodeterioration of mortars and cement paste studied using ESEM,STEM and EDS, *Microscopy and Analysis*, 20, 6, p.p. 19-21.
- RUBIO C. (2002) – *Compréhension des mécanismes d'adhésion des biofilms en milieu marin en vue de la conception de nouveaux moyens de prévention*, Université Paris 6
- RUSSELL B.D. et al. (2013) – Ocean acidification and rising temperatures may increase biofilm primary productivity but decrease grazer consumption, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368, 1627, p.p. 20120438-20120438.
- SALTA M. et al. (2013) – Marine biofilms on artificial surfaces: structure and dynamics, *Environmental Microbiology*, 15, 11, p.p. 2879-2893.
- SANCHEZ-SILVA M., ROSOWSKY D.V. (2008) – Biodeterioration of Construction Materials: State of the Art and Future Challenges, *Journal of Materials in Civil Engineering*, 20, 5, p.p. 352-365.
- SAND W. (1997) – Microbial mechanisms of deterioration of inorganic substrates—A general mechanistic overview, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 40, 2-4, p.p. 183-190.
- SARTHOU G. et al. (2005) – Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review, *Journal of Sea Research*, 53, 1-2, p.p. 25-42.
- SCHNEIDER C.A., RASBAND W.S., ELICEIRI K.W. (2012) – NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis, *Nature Methods*, 9, 7, p.p. 671-675.
- SCHNURR P.J., ALLEN D.G. (2015) – Factors affecting algae biofilm growth and lipid production: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 52, p.p. 418-429.
- SCHWERMER C.U. et al. (2008) – Impact of Nitrate on the Structure and Function of Bacterial Biofilm Communities in Pipelines Used for Injection of Seawater into Oil Fields, *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 9, p.p. 2841-2851.
- SHIPS&PORTS (2017) – Singapore ranked first in maritime capitals of the world for third consecutive time, *Ships & Ports*. Consultable à <http://shipsandports.com.ng/singapore-ranked-first-maritime-capitals-world-third-consecutive-time/> [Accédé le 12 septembre 2018].
- SHUPING Z. et al. (2010) – Pyrolysis characteristics and kinetics of the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* using thermogravimetric analyzer, *Bioresource Technology*, 101, 1, p.p. 359-365.
- SIEGERT W. (1999) – *Biofilms - the unknown source of contamination*, 1999

- SOUCHE J.-C. et al. (2016) – Effets de bétons bio-actifs sur la colonisation marine en environnement méditerranéen A. Bertron dir, *Matériaux & Techniques*, 104, 5, p.p. 504.
- SQUINAZI F. (2013) – Biofilm & Matériaux des réseaux intérieurs de distribution d'eau,
- SUGANYA T. et al. (2016) – Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: A biorefinery approach, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55, p.p. 909-941.
- SUROY M. (2013) – *Rôles du frustule des diatomées et des conditions nutritives de leur croissance sur l'export de carbone dans les océans*, Thèse de doctorat, Aix-Marseille Université, France
- TANAKA N. (1984) – Ecological studies on the littoral attaching micro-algae - I. The cell division rates of ten species of attaching diatoms in natural seawater., *NIPPON SUISAN GAKKAISHI*, 50, 6, p.p. 969-972.
- TEUGHELIS W. et al. (2006) – Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development, *Clinical Oral Implants Research*, 17, S2, p.p. 68-81.
- THOREL M. (2014) – *Ecologie et écophysiologie des espèces du genre Pseudo-nitzschia*, Université de Caen Basse-Normandie
- TRAN T.H. (2012) – *Influence des caractéristiques intrinsèques d'un mortier sur son encrassement biologique*, Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, St Etienne
- TRAN T.H. et al. (2012) – Influence of the intrinsic characteristics of mortars on biofouling by *Klebsormidium flaccidum*, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 70, p.p. 31-39.
- VILLAIN G., THIERY M., PLATRET G. (2007) – Measurement methods of carbonation profiles in concrete: Thermogravimetry, chemical analysis and gammadensimetry, *Cement and Concrete Research*, 37, 8, p.p. 1182-1192.
- WEI S. et al. (2013) – Microbiologically induced deterioration of concrete - a review, *Brazilian Journal of Microbiology*, 44, 4, p.p. 1001-1007.
- ZANINETTI J.-M. (2006) – L'urbanisation du littoral en France, *Population & Avenir*, 677, 2, p.p. 4.

## LISTE DES FIGURES

Figure 1-1 : Evolution de l'urbanisation de la station balnéaire de la Grande Motte. A : vue aérienne en 2018, B : vue aérienne en 1963 (IGN, 2018) .....	7
Figure 1-2 : (gauche) évolution du nombre de maisons construites de 2000 à 2009 par communes, (droite) évolution de la population des cantons littoraux par façades maritimes entre 1962 et 2005 (Insee).....	8
Figure 1-3 : Ports de Singapour (Ships&Ports, 2017) (gauche) et Shanghai (droite) (Dailymail, 2013).....	8
Figure 1-4 : Terre plein ayant permis la construction de l'aéroport de Nice (Batirama, 2018).....	9
Figure 1-5 : Illustration d'un brise lame à Luc-sur-Mer (Calvados, France).....	9
Figure 1-6 : Erosion du littoral à Soulac (Gironde) (FranceCulture, 2017).....	10
Figure 1-7 : Illustration des différents matériaux cimentaires existants.....	10
Figure 1-8 : Etapes menant à la fabrication du ciment (Infographie : Eric Menneteau, CNRS).....	11
Figure 1-9 : Diversité de frustules (Hildebrand et al., 2008).....	15
Figure 1-10 : Diagramme de présence des ions silicates, selon le pH de l'eau (Suroy, 2013) .....	16
Figure 1-11 : Système photosynthétique d'une diatomée : (A) vue globale ; (B) schématisation d'un thylakoïde ; (C) fonctionnement du photosystème (Musumeci et al., 2012).....	17
Figure 1-12 : Carte de répartition de la diatomée <i>Cylindrotheca closterium</i> en France métropolitaine en 2018 (Inventaire National du Patrimoine Naturel, 2018).....	18
Figure 1-13 : Illustration de la diatomée <i>Cylindrotheca closterium</i> (Guiry, 2018).....	18
Figure 1-14 : Courbe de croissance d'une population de <i>C. closterium</i> en fonction de la composition chimique du milieu (rond : contrôle, triangle : limitation du phosphore, carré : limitation de l'azote) (Alcoverro et al., 2008).....	19
Figure 1-15 : Biofilm sur bois en milieu marin (Galand, Kalenitchenko, 2015).....	20
Figure 1-16 : Images prises par Microscopie Electronique à Balayage montrant des cellules microbiennes incorporées dans une matrice d'EPS (Badireddy et al., 2010).....	21
Figure 1-17 : Détail de la matrice extracellulaire, visible sous à l'œil nu et sur microscope numérique à faible grossissement (x80) (photographie effectuée au sein du laboratoire de l'ESITC Caen).....	22
Figure 1-18 : Actions chimiques et physiques de l'eau de mer (M. Borsa et al., 2003), d'après Mehta (Mehta, 1991) .....	23
Figure 1-19 : Organigramme regroupant les différentes réactions chimiques responsables de la détérioration du béton, d'après (Mehta, 1991) .....	24
Figure 1-20 : Organigramme regroupant les effets physiques responsables de la détérioration du béton, d'après (Mehta, 1991).....	26
Figure 1-21 : Cinétique d'établissement des différents organismes à la surface d'un substrat immergé en milieu marin, d'après (Lors et al., 2017).....	26

Figure 1-22 : Le fond de chaque carte indique la concentration en nitrates (a) et phosphates (b) en $\mu\text{mol}/\text{kg}$ . Les cercles montrent les limitations premières (intérieur du cercle) et secondaires (extérieur du cercle) impactant la production d'organismes : azote (vert), phosphore (noir), fer (rouge), silice (orange), cobalt (jaune), zinc (cyan) et vitamine B12 (violet) (Moore et al., 2013) .....	27
Figure 1-23 : Profil de la disponibilité des ions nitrate ( $\mu\text{mol}/\text{L}$ ) dans la zone subtropicale de l'Océan Atlantique Nord selon la profondeur (échelle logarithmique)(Moore et al., 2013).....	28
Figure 1-24 : Comparaison de densités optiques de deux solutions algales agitées à l'aide de pompes à air (14L/min) par rapport à une solution algale non agitée (Persoone et al., 1981) .....	29
Figure 1-25 : Représentation schématique de la phase d'adhésion des cellules sur une surface lisse (gauche) ou rugueuse (droite) (Teughels et al., 2006) .....	29
Figure 1-26 : Comparaison de la colonisation de deux mortiers de même composition et de rugosité de surface différente (gauche : surface lisse, droite : surface rugueuse) (Tran et al., 2012) .....	30
Figure 1-27 : Utilisation des nutriments présents dans la pâte cimentaire par les algues, créant ainsi des petites cavités puis des fissures (Javaherdashti et al., 2009).....	32
Figure 1-28 : Variation du pH selon l'avancée de la colonisation de la surface étudiée (Guézennec, 2017) .....	33
Figure 1-29 : Images MEB (électrons rétrodiffusés, gauche ; électrons secondaires, droite) du film bactérien s'étant développé sur la surface du béton (Chlayon et al., 2018) .....	34
Figure 2-1 : Sable siliceux 0/2 mm .....	39
Figure 2-2 : Sable calcaire 0/4 mm.....	39
Figure 2-3 : Courbes granulométriques du sable siliceux (SACAB) et du sable calcaire (Lafarge) .....	40
Figure 2-4 : Analyse thermogravimétrique du sable calcaire .....	40
Figure 2-5 : Malaxeur utilisé pour la confection des éprouvettes de mortier .....	43
Figure 2-6 : Table à chocs utilisée pour la confection des éprouvettes de mortier .....	43
Figure 2-7 : (gauche) Chromatographie ionique, (droite) passeur .....	45
Figure 2-8 : (gauche) Thermogravimètre, (droite) principe de fonctionnement d'une thermobalance (LCPC, 2005).....	46
Figure 2-9 : ATG et DTG d'un mortier normalisé après 28 jours de cure, à une profondeur de 0 – 2 mm.....	46
Figure 2-10 : Mesure de la rugosité par microscopie numérique. A : vue de l'échantillon, B : choix de l'emplacement de la mesure de rugosité, C : profil total (courbe établie à partir des coordonnées numérisées à intervalles réguliers), abscisse et ordonnée en $\mu\text{m}$ ; D : profil de rugosité, abscisse et ordonnée en $\mu\text{m}$ . .....	48
Figure 2-11 : Courbes de croissance de la diatomée <i>C. closterium</i> dans des milieux de culture à 15 °C, 20 °C et 25 °C. Les marqueurs utilisés représentent les différents milieux de culture qui ont été testés dans cette étude (Affan et al., 2009).....	51
Figure 2-12 : Culture de la diatomée <i>C. closterium</i> .....	52
Figure 2-13 : Evolution de la densité optique (DO) à 550 nm dans le temps .....	52



Figure 2-14 : Evolution du pH de la solution algale .....	53
Figure 2-15 : Prédiction d'analyses thermogravimétriques pour les composés suivants : protéines, sucres, lipides et composés inorganiques à 10K/min (Debiagi et al., 2017)...	54
Figure 2-16 : Analyse thermogravimétrique du biofilm de <i>C. closterium</i> présent à la surface d'une éprouvette de mortier, après deux semaines d'immersion dans de l'eau de mer artificielle .....	54
Figure 2-17 : Spectrocolorimètre Ci60 (X-Rite) utilisé .....	56
Figure 2-18 : Schématisation de la réflexion d'un rayon lumineux avant colonisation (gauche) puis après colonisation (droite).....	56
Figure 2-19 : Evolution du pourcentage de réflectance selon la longueur d'onde à la surface d'éprouvettes de mortier après 0, 8 et 22 jours d'immersion dans une eau de mer naturelle.....	57
Figure 2-20 : Schéma d'une éprouvette de mortier dépliée, A : face supérieure, B1 : face latérale 1, B2 : face latérale 2, C : face inférieure. Les points noirs correspondent aux mesures de réflectance. L'encadré rouge donne un exemple des points utilisés pour calculer la moyenne de réflectance. ....	58
Figure 2-21 : Influence de l'humidité des échantillons sur les valeurs de réflectance d'éprouvettes propres et colonisées (De Muynck et al., 2009) .....	59
Figure 2-22 : Voies de désexcitation chez une plante saine (gauche) et une plante stressée (droite), (Bourrié, 2007) .....	60
Figure 2-23 : AquaPen-P AP-P 100 (Photon System Instruments) utilisé.....	60
Figure 2-24 : Schéma d'une éprouvette de mortier dépliée, A : face supérieure, B1 : face latérale 1, B2 : face latérale 2, C : face inférieure. Les points noirs correspondent aux mesures.....	61
Figure 2-25 : Courbe OJIP de fluorescence dans le temps (échelle logarithmique) d'une éprouvette de mortier recouverte par un biofilm. Fo : valeur de fluorescence à 50 $\mu$ s, Fm : valeur maximale de fluorescence.....	62
Figure 2-26 : Montage photographique mis en place.....	63
Figure 2-27 : Montage à l'intérieur du caisson photographique.....	63
Figure 2-28 : Photographie d'une éprouvette de mortier recouverte d'un biofilm, avant traitement (A) et après traitement (B).....	64
Figure 3-1 : Spectre du rayonnement solaire (Kanmogne et al., 2012) .....	69
Figure 3-2 : Spectre lumineux du tube LED X-Change Tube Daylight Sunrise (SERA) .....	70
Figure 3-3 : Données géométriques du dispositif expérimental.....	72
Figure 3-4 : Dispositif expérimental, sans eau de mer.....	72
Figure 3-5 : Evolution de la surface colonisée par la diatomée <i>Cylindrotheca closterium</i> sur une éprouvette de mortier normalisé (face orientée à la lumière) .....	74
Figure 3-6 : Evolution de la surface colonisée au cours de l'expérience, obtenue par analyse d'images.....	75
Figure 3-7 : Evolution de l'intensité d'encrassement sur la face supérieure des éprouvettes de mortier.....	76
Figure 3-8 : Evolution de la quantité de biomasse Fo durant l'expérience sur les faces supérieures .....	77

Figure 3-9 : Comparaison de la tendance des résultats avec les trois outils de caractérisation (Spectro : spectrocolorimétrie, Photo : analyse d'image, Fluo : fluorimétrie). A : MN_Exp1, B : MN_Exp2, C : MN_Exp3 .....	78
Figure 3-10 : Evolution du rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème (Fv/Fm) de la diatomée <i>C. closterium</i> à sur la face supérieure des éprouvettes de mortier .....	79
Figure 3-11 : Mise en évidence des reliefs existant sur les faces latérales des éprouvettes de mortier.....	80
Figure 3-12 : Intensité d'encrassement (%) pour les faces latérales.....	80
Figure 3-13 : Quantité de biomasse Fo durant l'expérience sur les faces latérales.....	81
Figure 3-14 : Comparaison de la tendance des résultats avec les deux outils de caractérisation (Spectro : spectrocolorimétrie, Fluo : fluorimétrie). A : MN_Exp1, B : MN_Exp2, C : MN_Exp3.....	82
Figure 3-15 : Evolution du rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème (Fv/Fm) de la diatomée <i>C. closterium</i> à sur les faces latérales des éprouvettes de mortier .....	83
Figure 3-16 : Intensité d'encrassement (%) pour la face inférieure.....	84
Figure 3-17 : Quantité de biomasse Fo pendant l'expérience sur la face inférieure.....	85
Figure 3-18 : Comparaison de la tendance des résultats avec les 3 outils de caractérisation (Spectro : spectrocolorimétrie, Fluo : fluorimétrie). A : MN_Exp1, B : MN_Exp2, C : MN_Exp3 .....	86
Figure 3-19 : Evolution du rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème (Fv/Fm) de la diatomée <i>Cylindrotheca closterium</i> sur les faces inférieures des éprouvettes de mortier .....	86
Figure 3-20 : Evolution de la colonisation d'un échantillon de béton après 0 (A) et 11 (B) semaines de suivi de colonisation (De Muynck et al., 2009). C : teinte d'une éprouvette de mortier normalisé après 1 semaine d'immersion, séchée pendant 1 heure .....	88
Figure 3-21 : (A) Comparaison de l'intensité d'encrassement dans le bac MN_Exp3, (B) Quantité de biomasse dans le bac MN_Exp1, (C) Fv/Fm dans le bac MN_Exp3.....	89
Figure 3-22 : Evolution de la présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire, à 3 profondeurs différentes.....	92
Figure 3-23 : Evolution de la présence des ions sulfate dans le matériau cimentaire selon 3 profondeurs dans le temps .....	93
Figure 3-24 : Evolution de la présence des ions sodium dans le matériau cimentaire selon 3 profondeurs dans le temps .....	94
Figure 3-25 : Analyse thermogravimétrique (DTG) du matériau cimentaire à 4 échéances différentes (0, 2, 4, 6 semaines) dans la gamme de profondeur 0 - 2 mm.....	95
Figure 3-26 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les mortiers MN_Exp et MN_Ref, aux trois profondeurs d'étude, après deux, quatre et six semaines d'immersion .....	96
Figure 3-27 : Evolution de la quantité de carbonate de calcium dans les mortiers MN_Exp et MN_Ref, aux trois profondeurs d'étude, après deux, quatre et six semaines d'immersion .....	97

Figure 3-28 : Evolution du pourcentage de présence des ions nitrate dans le matériau durant l'expérience, selon trois profondeurs différentes.....	98
Figure 3-29 : Suivi du pH du matériau cimentaire aux trois profondeurs d'étude, durant le temps de l'expérience .....	99
Figure 3-30 : Evolution de la concentration des ions nitrate dans le milieu d'eau de mer artificielle.....	100
Figure 3-31 : Evolution de la concentration en ions sodium dans le milieu d'eau de mer artificielle.....	101
Figure 3-32 : Evolution de la concentration en ions chlorure dans le milieu d'eau de mer artificielle.....	101
Figure 3-33 : Evolution de la concentration en ions sulfate dans le milieu d'eau de mer artificielle.....	101
Figure 3-34 : Evolution de la concentration en ions potassium dans le milieu d'eau de mer artificielle.....	101
Figure 3-35 : Evolution de la concentration en ions calcium dans le milieu d'eau de mer artificielle.....	101
Figure 3-36 : Evolution du pH dans le temps dans le milieu artificiel d'eau de mer.....	102
Figure 3-37 : Evolution du rapport Fv/Fm dans l'eau de mer artificielle .....	103
Figure 4-1 : Evolution de l'intensité d'encrassement et de la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes de mortier contenant 25% de sable calcaire.....	110
Figure 4-2 : Evolution de l'intensité d'encrassement et de la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes de mortier contenant 50% de sable calcaire.....	110
Figure 4-3 : Evolution de l'intensité d'encrassement et de la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes de mortier contenant 75% de sable calcaire.....	110
Figure 4-4 : Evolution de l'intensité d'encrassement et de la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes de mortier contenant 100% de sable calcaire .....	110
Figure 4-5 : Evolution de la surface colonisée sur une éprouvette de mortier de type SC_100, par prise de photographies durant l'expérience d'immersion en milieu marin artificiel .....	112
Figure 4-6 : Suivi de la quantité de biomasse Fo à la surface des éprouvettes de mortier contenant 0%, 25%, 50%, 75% et 100% de sable calcaire.....	115
Figure 4-7 : Evolution du rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème (Fv/Fm) de la diatomée <i>C. closterium</i> sur la face supérieure des éprouvettes de mortier, composées de 0%, 25%, 50%, 75% et 100% de sable calcaire .....	116
Figure 4-8 : Evolution de la présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire SC_25, selon trois profondeurs, dans le temps.....	119
Figure 4-9 : Evolution de la présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire SC_50, selon trois profondeurs, dans le temps.....	119
Figure 4-10 : Evolution de la présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire SC_75, selon trois profondeurs, dans le temps .....	119
Figure 4-11 : Evolution de la présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire SC_100, selon trois profondeurs, dans le temps.....	119

Figure 4-12 : Pourcentage de présence de l'ion chlorure selon la quantité de sable calcaire présent dans le matériau cimentaire, à différentes échéances (0, 2, 4 et 6 semaines d'immersion) à une profondeur de 0 – 2 mm. ....	120
Figure 4-13 : Evolution de la présence des ions sulfate dans le matériau cimentaire SC_25, selon trois profondeurs, dans le temps.....	122
Figure 4-14 : Evolution de la présence des ions sulfate dans le matériau cimentaire SC_50, selon trois profondeurs, dans le temps.....	122
Figure 4-15 : Evolution de la présence des ions sulfate dans le matériau cimentaire SC_75, selon trois profondeurs, dans le temps.....	122
Figure 4-16 : Evolution de la présence des ions sulfate dans le matériau cimentaire SC_100, selon trois profondeurs, dans le temps.....	122
Figure 4-17 : Evolution du pourcentage de présence des ions sulfate dans le temps, pour chaque formulation à une profondeur de 0 – 2 mm .....	123
Figure 4-18 : DTG (%/°C) de cinq formulations de mortier (SS_100, SC_25, SC_50, SC_75, SC_100) à une profondeur de 0 – 2 mm après deux semaines d'immersion en milieu marin artificiel .....	124
Figure 4-19 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les mortiers SS_100 à une profondeur de 0 – 2 mm .....	125
Figure 4-20 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les mortiers SC_25 à une profondeur de 0 – 2 mm .....	125
Figure 4-21 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les mortiers SC_50 à une profondeur de 0 – 2 mm .....	125
Figure 4-22 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les mortiers SC_75 à une profondeur de 0 – 2 mm .....	125
Figure 4-23 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les mortiers SC_100 à une profondeur de 0 – 2 mm .....	125
Figure 4-24 : Evolution de la portlandite (% massique) dans les cinq mortiers, en présence de biofilm à une profondeur de 0 – 2 mm.....	125
Figure 4-25 : DTG (%/°C) de mortier constitué de 75% de sable calcaire dans le temps, à une profondeur de 2 – 4 mm après deux, quatre et six semaines d'immersion .....	126
Figure 4-26 : DTG (%/°C) d'un échantillon de mortier SC_25 à une profondeur de 0 - 2 mm dans le temps .....	127
Figure 4-27 : Evolution du carbonate de calcium (% massique) dans les mortiers contenant 25%, 50%, 75% et 100% de sable calcaire et 100% de sable siliceux, à une profondeur de 0 – 2 mm, après deux, quatre et six semaines d'immersion.....	128
Figure 4-28 : Valeurs du pH pour les formulations SS_100, SC_25, SC_50, SC_75 et SC_100 à une profondeur de 0 – 2 mm .....	129
Figure 4-29 : Valeurs du pH pour les formulations SS_100, SC_25, SC_50, SC_75 et SC_100 à une profondeur de 2 – 4 mm .....	129
Figure 4-30 : Valeurs du pH pour les formulations SS_100, SC_25, SC_50, SC_75 et SC_100 à une profondeur de 4 – 6 mm .....	129
Figure 4-31 : Evolution de la présence des ions nitrates dans chacun des bacs (SS_100, SC_25, SC_50, SC_75 et SC_100) durant la manipulation.....	131

Figure 4-32 : Evolution de la présence des ions sodium en milieu marin artificiel .....	132
Figure 4-33 : Evolution de la présence des ions chlorure en milieu marin artificiel .....	132
Figure 4-34 : Evolution de la présence des ions sulfate en milieu marin artificiel .....	132
Figure 4-35 : Evolution de la présence des ions potassium en milieu marin artificiel ...	132
Figure 4-36 : Evolution des pourcentages de présence en ion calcium durant l'expérience d'immersion.....	133
Figure 4-37 : Evolution du pH de l'eau de mer artificielle (SC_25).....	134
Figure 4-38 : Evolution du pH de l'eau de mer artificielle (SC_50).....	134
Figure 4-39 : Evolution du pH de l'eau de mer artificielle (SC_75).....	134
Figure 4-40 : Evolution du pH de l'eau de mer artificielle (SC_100).....	134
Figure 4-41 : Evolution du pH en milieu marin artificiel durant l'expérience, selon la composition du mortier .....	134
Figure 4-42 : Suivi fluorimétrique de la surface des éprouvettes de mortier avec et sans nitrates dans la formulation.....	136
Figure 4-43 : Rendement quantique maximal de la photochimie du photosystème à la surface des éprouvettes de mortier immergées dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée .....	137
Figure 4-44 : Evolution de la présence des ions chlorure dans le matériau cimentaire enrichi en nitrates selon trois profondeurs, dans le temps .....	139
Figure 4-45 : Pourcentage de présence de l'ion chlorure dans les trois matériaux cimentaires à une profondeur de 0 - 2 mm, après deux, quatre et six semaines d'immersion.....	140
Figure 4-46 : Evolution de la présence des ions sulfate dans le matériau cimentaire enrichi en nitrates selon trois profondeurs, dans le temps.....	141
Figure 4-47 : Pourcentage de présence de l'ion sulfate dans les trois matériaux cimentaires à une profondeur de 0 - 2 mm, après deux, quatre et six semaines d'immersion.....	142
Figure 4-48 : Evolution de la quantité de portlandite (% massique) dans les échantillons à une profondeur de 0 - 2 mm .....	143
Figure 4-49 : DTG (%/°C) du mortier enrichi en ions nitrate, à une profondeur de 0 - 2 mm, durant l'expérience .....	144
Figure 4-50 : Evolution de la quantité de carbonate de calcium dans les échantillons à 0 - 2 mm durant l'expérience .....	145
Figure 4-51 : Evolution de la présence des ions nitrate dans le matériau cimentaire enrichi en nitrates selon 3 profondeurs, dans le temps.....	146
Figure 4-52 : Evolution du pourcentage de présence de l'ion nitrate dans le matériau, à une profondeur de 0 - 2 mm, après deux, quatre et six semaines d'immersion .....	147
Figure 4-53 : Valeurs du pH durant l'expérience pour les 3 formulations à une profondeur de 0 - 2 mm.....	148
Figure 4-54 : Valeurs du pH durant l'expérience pour les 3 formulations à une profondeur de 2 - 4 mm.....	148
Figure 4-55 : Valeurs du pH durant l'expérience pour les 3 formulations à une profondeur de 4 - 6 mm.....	148

Figure 4-56 : Evolution de la concentration en ions nitrate dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée.....	149
Figure 4-57 : Evolution de la concentration en ion chlorure dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée.....	150
Figure 4-58 : Evolution de la concentration en ion sodium dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée.....	150
Figure 4-59 : Evolution de la concentration en ion potassium dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée.....	150
Figure 4-60 : Evolution de la concentration en ion sulfate dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée.....	150
Figure 4-61 : Evolution de la concentration en ions calcium dans le milieu marin artificiel et dans l'eau salée.....	151
Figure 4-62 : Evolution du pH dans les solutions au cours du temps.....	152
Figure 4-63 : Schéma du dispositif expérimental utilisé en milieu semi-naturel ; les éprouvettes sont placées sur des tiges surélevées, selon la description du dispositif effectuée dans le chapitre 3.....	157
Figure 4-64 : Evolution de l'intensité d'encrassement sur la surface des éprouvettes de mortier au cours de l'immersion en milieu semi-naturel durant la saison de l'automne .....	158
Figure 4-65 : Evolution de l'intensité d'encrassement sur la surface des éprouvettes de mortier au cours de l'immersion en milieu semi-naturel durant la saison de l'hiver .....	159
Figure 4-66 : Evolution de la quantité de biomasse ( $F_o$ , unités arbitraires) sur la surface des éprouvettes de mortier durant l'expérience en saison hiver.....	160
Figure 4-67 : Evolution du rendement quantique de la photochimie du photosystème ( $F_v/F_m$ ) des cellules présentes à la surface des éprouvettes de mortier immergées en milieu marin semi-naturel durant la saison de l'hiver.....	161
Figure 4-68 : Evolution de l'intensité d'encrassement sur la surface des éprouvettes de mortier au cours de l'immersion en milieu semi-naturel durant la saison du printemps .....	162
Figure 4-69 : Evolution de la quantité de biomasse ( $F_o$ , unités arbitraires) sur la surface des éprouvettes de mortier durant l'expérience en saison printemps .....	162
Figure 4-70 : Evolution du rendement quantique de la photochimie du photosystème ( $F_v/F_m$ ) des cellules présentes à la surface des éprouvettes de mortier immergées en milieu marin semi-naturel durant la saison du printemps .....	163
Figure 4-71 : Evolution de l'intensité d'encrassement sur la surface des éprouvettes de mortier au cours de l'immersion en milieu semi-naturel à la fin de l'été.....	164
Figure 4-72 : Evolution de la quantité de biomasse ( $F_o$ , unités arbitraires) sur la surface des éprouvettes de mortier durant l'expérience à la fin de l'été .....	165
Figure 4-73 : Evolution du rendement quantique de la photochimie du photosystème ( $F_v/F_m$ ) des cellules présentes à la surface des éprouvettes de mortier immergées en milieu marin semi-naturel à la fin de l'été .....	166

---

Figure 4-74 : Comparaison de l'intensité d'encrassement à la surface des éprouvettes de mortier entre les éprouvettes immergées en milieu semi-naturel (automne, hiver, printemps et fin d'été) et celles immergées en milieu marin artificiel .....	167
Figure 4-75 : Comparaison de la quantité de biomasse à la surface des éprouvettes de mortier entre les éprouvettes immergées en milieu semi-naturel (automne, hiver, printemps et fin d'été) et celles immergées en milieu marin artificiel .....	168
Figure 4-76 : Comparaison du rendement quantique de la photochimie du photosystème à la surface des éprouvettes de mortier entre les éprouvettes immergées en milieu semi-naturel (automne, hiver, printemps et fin d'été) et celles immergées en milieu marin artificiel .....	169





## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1-1 : Composition d'un clinker de ciment Portland (Ollivier et Vichot, 2008) ...	11
Tableau 1-2: Composition granulométrique d'un sable de référence (NF EN 196-1) .....	13
Tableau 1-3 : Concentrations maximales autorisées (NF EN 1008) .....	13
Tableau 1-4 : Composition de l'eau de l'Océan Atlantique (Ollivier et Vichot, 2008) .....	14
Tableau 1-5 : Algues impliquées dans le processus de biodétérioration du béton (Wei et al., 2013) .....	31
Tableau 2-1 : Composition chimique du ciment (Calcia).....	39
Tableau 2-2 : Concentrations mesurées et maximales en ions chlorure, nitrate et sulfate dans une eau de gâchage .....	41
Tableau 2-3 : Proportions en matières premières utilisées pour les confections d'éprouvettes de mortier.....	42
Tableau 2-4 : Caractéristiques de la chromatographie ionique .....	44
Tableau 2-5 : Composition chimique du milieu de Conway.....	49
Tableau 2-6 : Mise en œuvre du milieu de Conway .....	49
Tableau 2-7 : Composition de l'eau de mer dans l'Océan Atlantique (Ollivier et Vichot, 2008) et par ajouts de sels de mer synthétiques Instant Ocean© (Atkinson et Bingma, 1997) .....	50
Tableau 3-1 : Composition des deux environnements d'étude .....	73
Tableau 3-2 : Composition du mortier normalisé utilisé pour l'essai de validation du dispositif expérimental .....	73
Tableau 4-1 : Valeurs maximales de colonisation mesurées pour chaque formulation de sable calcaire, par spectrophotométrie et fluorimétrie.....	109
Tableau 4-2 : Rugosités des surfaces des éprouvettes de mortier, mesurées par microscopie numérique .....	116
Tableau 4-3 : Valeurs des pH en début et fin d'expérience à la surface (0 – 2 mm) des éprouvettes de mortier selon leur formulation.....	130
Tableau 4-4 : Caractéristiques de l'eau de mer lors du remplissage des bacs en novembre 2016 (données SOMLIT) .....	158
Tableau 4-5 : Caractéristiques de l'eau de mer lors du remplissage des bacs en janvier 2017 (données SOMLIT) .....	159
Tableau 4-6 : Caractéristiques de l'eau de mer lors du remplissage des bacs en mai 2017 (données SOMLIT) .....	161
Tableau 4-7 : Caractéristiques de l'eau de mer lors du remplissage des bacs en mai 2017 (données SOMLIT) .....	164
Tableau 4-8 : Concentration des ions lors des différentes manipulations.....	166



## ANNEXES

## ANNEXE A : Fiche technique du ciment (Calcia)



Direction Industrielle  
et Technique  
Les Technodes  
B.P. 01  
78931 Guerville cedex

Direction Commerciale  
Assistance  
et Prescription Clients  
Tél. : 01 34 77 78 81  
Fax : 01 30 98 73 50

Version du : 28/01/2008

N° certificat CE : 0333-CPD-1602

Fiche produit de

**Ranville**  
**CEM I 52,5 N CE PM-CP2 NF**

## Caractéristiques physiques et mécaniques

Compression en MPa				Retrait en µm/m à 28j	eau pâte pure en %	Début de prise en mn	Chaleur en J/g à 41h	Surface Blaine en cm²/g	Masse Volumique en g/cm³	Stabilité en mm	Maniabilité sur mortier CEN en s
1j	2j	7j	28j								
22.6	33.8	48.1	61.3	460	28.2	155	322	3930	3.15	1.0	nd

Composition élémentaire (%)		Constituants (%)		Caractéristiques des constituants			
Perte au feu	2.15	<b>Principaux</b>		<b>Nature</b>	<b>Caractéristiques</b>		
SiO <sub>2</sub>	19.60	Clinker (K) Ranville	97.0	Ranville	CaO/SiO <sub>2</sub>	K	
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4.44	Laitier (S)			MgO (%)	1.31	
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4.00	Cendres (V)			Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (%)	4.95	
TiO <sub>2</sub>	0.27	Calcaire (L)			Insoluble (%)	nd	
MnO	0.05	Fumées de silice (D)			C <sub>3</sub> S (%)	68.6	
CaO	64.17	<b>Secondaires</b>			C <sub>2</sub> S (%)	8.5	
MgO	1.25	Calcaire (L)	3.0		C <sub>3</sub> A (%)	6.1	
SO <sub>3</sub>	2.60				C <sub>4</sub> AF (%)	12.7	
K <sub>2</sub> O	0.84	Total	100.0		NF C <sub>3</sub> S (%)	59.4	
Na <sub>2</sub> O	0.07	<b>Sulfate de calcium</b>			Laitier (S)	Laitier vitreux (%) (CaO+MgO)/SiO <sub>2</sub> CaO+MgO+SiO <sub>2</sub> (%)	
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0.49	Gypse	2.8		Cendres (V)	PF (%)	
S--	< 0.02	Anhydrite			Calcaire (L)	CaO réactive (%)	
Cl-	< 0.007	<b>Additifs</b>			Fumées de silice (D)	SiO <sub>2</sub> réactive (%)	
Insoluble CEN	0.28	Agent de mouture	0.023		CaCO <sub>3</sub> (%)		
Na <sub>2</sub> O éq. actif	0.61	Cloter F 5903 (AXIM)			Adsorption bleu méthylène (g/100g)		
Colorimétrie (L)	55.97	Agent réducteur	0.20		TOC (%)		
		Sulfate de fer			SiO <sub>2</sub> amorphe (%)		
					PF (%)		
					Aire massique BET (m²/kg)		

## Mouture

Broyeur(s)	3
------------	---

## Stockage

Silo(s)	cf plan de silotage
---------	---------------------

Valeurs moyennes année 2007 données à titre indicatif





Siège social :  
Rue des Technodes  
78930 Guerville  
Tél. : 01 34 77 78 00  
Fax : 01 34 77 79 06

SAS au capital de 509 836 525 €  
Siren 654 800 689 RCS Versailles

Points de vente	Vrac	Sac
Usine de Ranville	Oui	Non

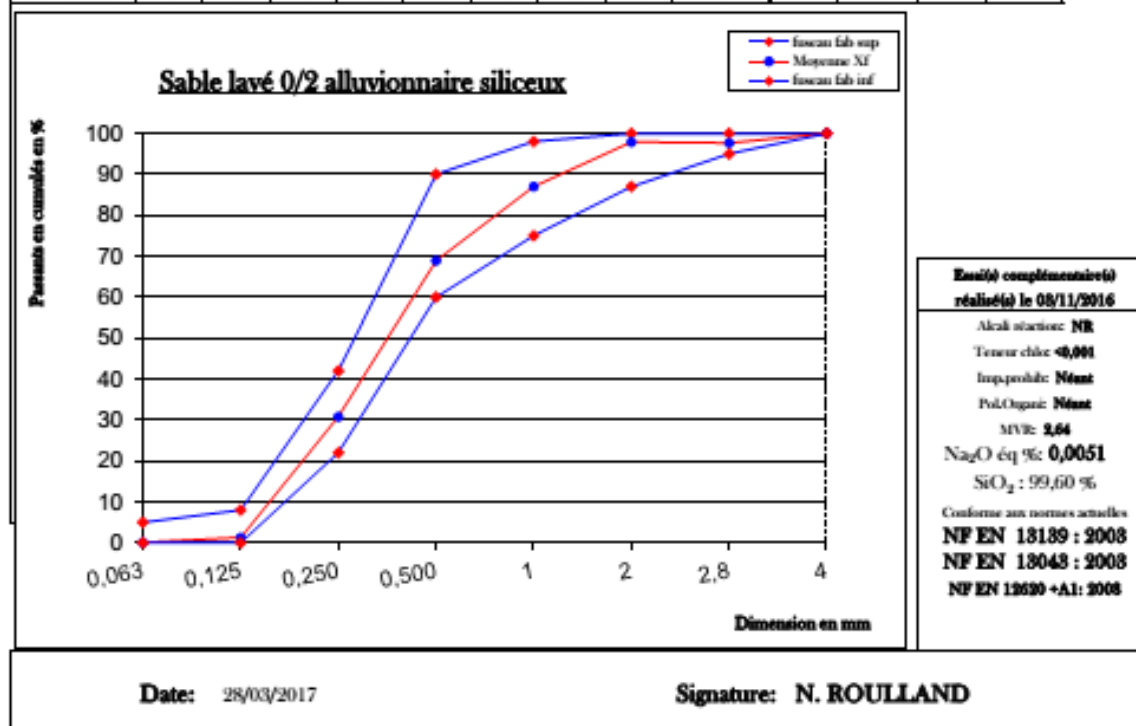
## ANNEXE B : Fiche technique du sable siliceux 0/2

 	<b>Fiche Technique Produit</b>	<b>Période de validité de l'engagement</b>
	<b>Sable lavé 0/2 alluvionnaire siliceux</b>	Due: 01/07/2017
		Aut: 31/12/2017

<b>Fournisseur:</b> SACAB <b>Site d'élaboration:</b> ESQUAY SUR SEULLES <b>Nature pétrographique:</b> ALLUVIONNAIRE <b>Elaboration:</b> LAVE - CRIBLE	
--	---

Partie Engagement du fournisseur															
Valeurs spécifiées sur lesquelles le fournisseur s'engage															
Norme NF P18-545												Code			
Classe Granulaire														A	
0 2															
				D		1,4D		2D							
		0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	2,8	4	FM	WA24	SE	S	SA	
V <sub>ss</sub> + u		5,2	12	46	93	100				2,54	7,0		0,5	0,35	
V <sub>ss</sub>		5	8	42	90	98	100	100	100	2,39	6,5		0,4	0,2	
X <sub>t</sub>															
V <sub>si</sub>		0	0	22	60	75	87	95	100	2,08		87,00			
V <sub>si-u</sub>		0	0	18	57	72	84			1,93		81,00			
sf Max															

Partie informative																	
Résultats de production																	
		dur: 06/10/2016				dur: 28/03/2017				dur: 09/10/2016				dur: 28/03/2017			
		0,063	0,125	0,250	0,5	1	2	2,8	4	FM	WA24	SE (10)	S	SA			
Maximum		0,15	1,53	34,70	76,12	97,31	98,91	99,82	100,00	3,10		90,00					
X <sub>f</sub> +1,25 sf		0,12	1,43	33,39	72,11	93,32	98,49	114,39	100,00	2,33		89,09					
Moyenne X <sub>f</sub>		0,09	1,24	30,77	68,92	86,97	97,89	97,65	100,00	2,17	0,3	88,31	0,01	0,02			
X <sub>f</sub> -1,25 sf		0,07	1,05	28,15	65,72	80,62	97,28	80,90	100,00	2,00		87,54					
Minimum		0,05	1,00	25,94	63,79	57,15	96,97	9,79	100,00	2,01		87,00					
Ecart type		0,02	0,15	2,10	2,56	5,08	0,48	13,40	0,00	0,16		0,77					
Nbre Résultats		45	45	45	45	45	45	45	45	45	1	45	1	1			

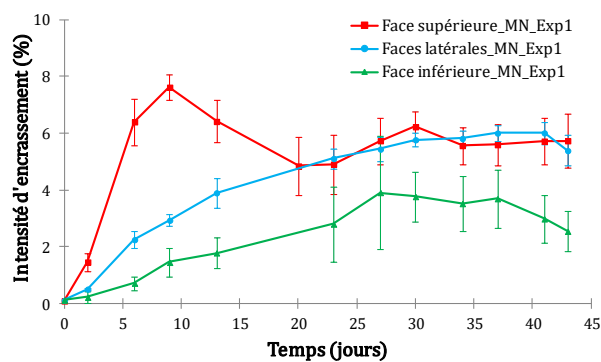




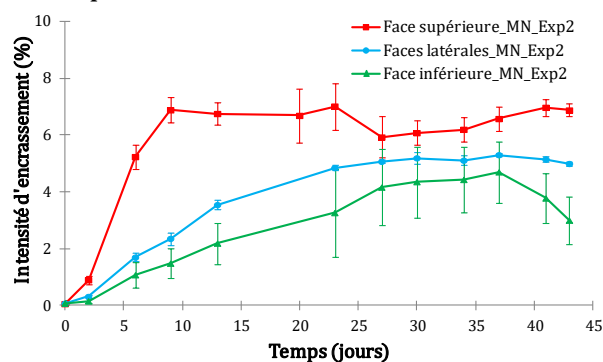
## ANNEXE D

Evolution de l'intensité d'encrassement sur toutes les faces par bac

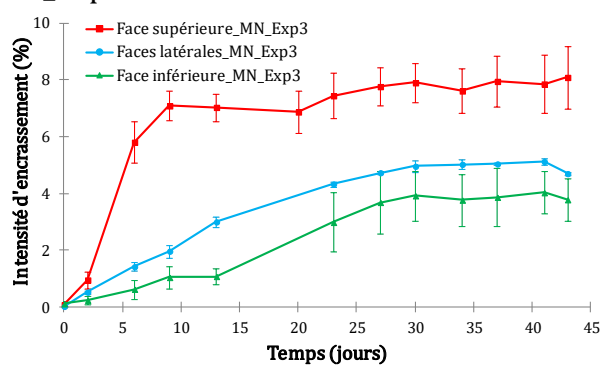
MN\_Exp1



MN\_Exp2

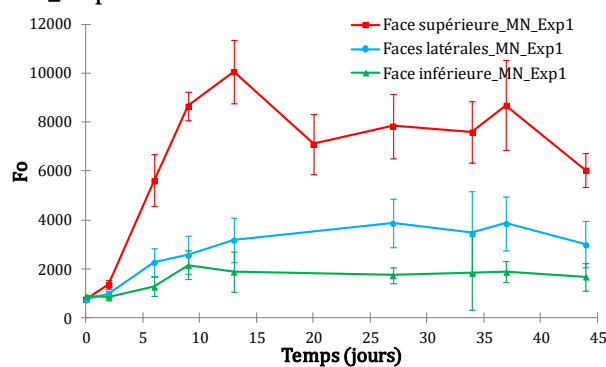


MN\_Exp3

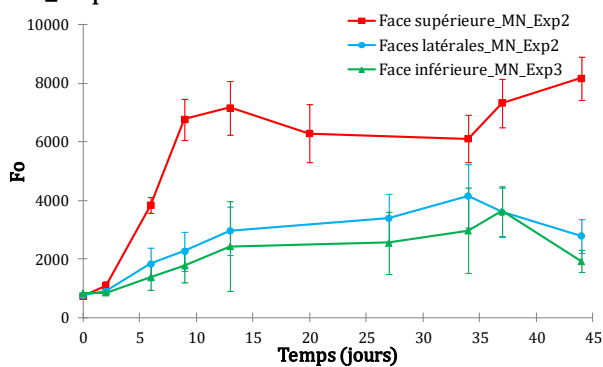


Evolution de la quantité de biomasse sur toutes les faces par bac

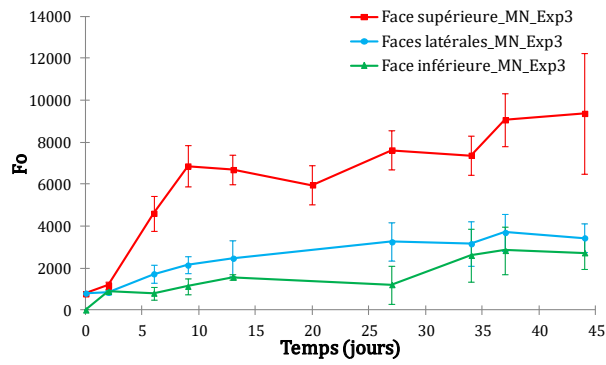
MN\_Exp1



MN\_Exp2

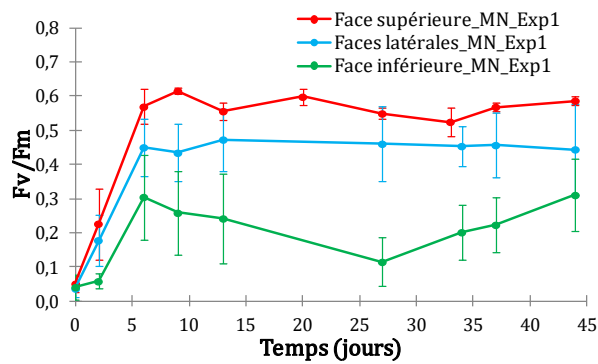


MN\_Exp3

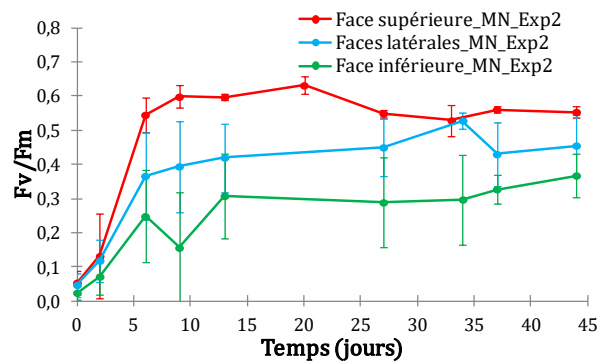


Evolution du ratio  $F_v/F_m$  sur toutes les faces par bac

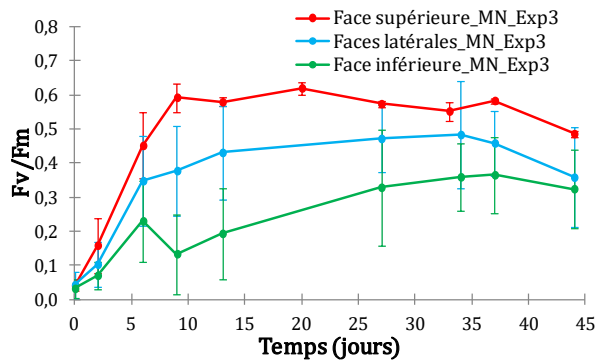
MN\_Exp1



MN\_Exp2



MN\_Exp3





## ANNEXE E

Concentrations des ions chlorure, sulfate, sodium et nitrate, mesurées dans les échantillons de mortier normalisé à 0 – 2 mm, 2 – 4 mm et 4 – 6 mm de profondeur avant immersion.

(g/L)	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Na <sup>+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
0 – 2 mm	0,0410	0,0301	0,0358	0,0237
2 – 4 mm	0,0278	0,0257	0,0177	0,0162
4 – 6 mm	0,0222	0,0197	0,0139	0,0122

Concentrations des ions chlorure, sulfate et sodium, mesurées dans les échantillons de sable calcaire à 0 – 2 mm, 2 – 4 mm et 4 – 6 mm de profondeur avant immersion.

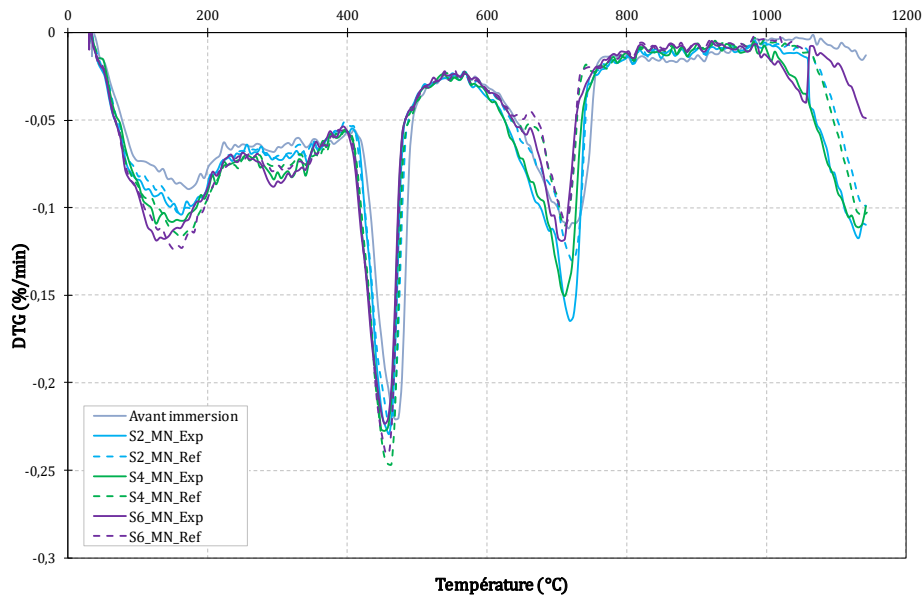
(g/L)		Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Na <sup>+</sup>
SS_100	0 – 2 mm	0,0410	0,0356	0,0358
	2 – 4 mm	0,0278	0,0315	0,0177
	4 – 6 mm	0,0222	0,0259	0,0139
SC_25	0 – 2 mm	0,0451	0,0358	0,0327
	2 – 4 mm	0,0344	0,0343	0,0208
	4 – 6 mm	0,0247	0,0256	0,0171
SC_50	0 – 2 mm	0,0524	0,0370	0,0454
	2 – 4 mm	0,0395	0,0265	0,0269
	4 – 6 mm	0,0251	0,0254	0,0197
SC_75	0 – 2 mm	0,0488	0,0370	0,0440
	2 – 4 mm	0,0353	0,0265	0,0172
	4 – 6 mm	0,0256	0,0254	0,0213
SC_100	0 – 2 mm	0,0472	0,0378	0,0377
	2 – 4 mm	0,0256	0,0257	0,0183
	4 – 6 mm	0,0210	0,0231	0,0184

Concentrations des ions chlorure, sulfate, sodium et nitrate, mesurées dans les échantillons de mortiers enrichis en nitrate à 0 – 2 mm, 2 – 4 mm et 4 – 6 mm de profondeur avant immersion.

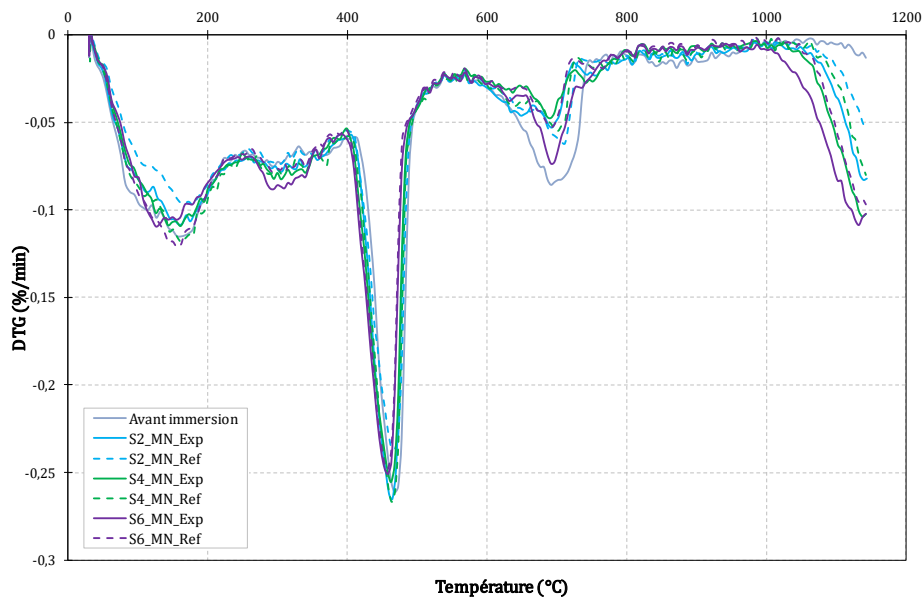
(g/L)	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Na <sup>+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
0 – 2 mm	0,0359	0,0317	0,0259	0,0237
2 – 4 mm	0,0209	0,0177	0,0136	0,0138
4 – 6 mm	0,0193	0,0169	0,0115	0,0131

## ANNEXE F

Dérivée première de l'analyse thermogravimétrique du matériau cimentaire étudié à la profondeur 2 – 4 mm, dans le temps



Dérivée première de l'analyse thermogravimétrique du matériau cimentaire étudié à la profondeur 4 – 6 mm, dans le temps



## RESUME

Dans le contexte actuel d'accroissement de la population mondiale, il est nécessaire de construire d'avantage d'infrastructures pour répondre à la pression industrielle grandissante. Ces constructions se font principalement sur la mer comme les ports, les îles artificielles ou encore les logements touristiques. Le béton est le matériau majoritairement utilisé en raison de son faible coût de production mais aussi de sa résistance à l'eau de mer. Comme tout matériau immergé en milieu marin, le béton est colonisé par les organismes vivants, devenant ainsi support de leur développement. Cependant, l'eau de mer est un milieu particulièrement agressif vis-à-vis des matériaux cimentaires ; des dégradations physiques, chimiques et biologiques sont observées dans le temps. Les deux premiers types de dégradation sont particulièrement bien documentés par la communauté scientifique. En revanche, les dégradations biologiques sont peu étudiées. L'objectif de cette thèse est donc de tout d'abord mettre en place un dispositif expérimental en laboratoire, permettant la colonisation d'un matériau cimentaire par des microorganismes. Des outils pertinents pour caractériser le biofilm sur le matériau ont été choisis après une étude bibliographique, dans le but de mieux comprendre la cinétique de colonisation. Des analyses chimiques du matériau ainsi que de l'eau de mer artificielle ont été effectuées à échéances régulières pour évaluer les actions du biofilm sur le matériau cimentaire. Différents matériaux ont été formulés pour étudier l'impact de la formulation sur la colonisation.

**Mots clefs :** mortier ; colonisation ; biofilm ; diatomées ; biodétérioration

## ABSTRACT

In the current context of increased world population, it is necessary to built more infrastructures to meet the increasing industrial pressure. These constructions are erected on the sea as harbors, artificial islands or tourist accommodation. Concrete is mainly used because of its low-cost and durability in the marine environment. Like any material immersed in seawater, concrete is colonized by living organisms, becoming an habitat for their development. However, seawater is a very aggressive environment towards cementitious materials; physical, chemical and biological degradations are observed with time. Nowadays, physical and chemical degradations are well understood and reported in the literature but there is a lack of knowledge concerning biological effects. The aim of this thesis is first develop an experimental device in laboratory, allowing the colonization of cementitious material by microorganisms. Relevant tools to characterize the biofilm on the material were chosen to better understand colonisation's kinetic. Chemical analysis of material and seawater were made to evaluate the actions of the biofilm on cementitious material. Different materials were produced to study the impact of the formulation on the colonization.

**Keywords :** mortar ; colonization ; biofilm ; diatoms ; biodeterioration