



**HAL**  
open science

# Formulation de mousses bio-calcifiantes pour la production de matériaux poreux

Margaux Ceccaldi

► **To cite this version:**

Margaux Ceccaldi. Formulation de mousses bio-calcifiantes pour la production de matériaux poreux. Science des matériaux [cond-mat.mtrl-sci]. Université Gustave Eiffel, 2023. Français. NNT : 2023UEFL2048 . tel-04438221

**HAL Id: tel-04438221**

**<https://theses.hal.science/tel-04438221v1>**

Submitted on 5 Feb 2024

**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.

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE GUSTAVE EIFFEL

Spécialité :  
Sciences des Matériaux

Ecole doctorale Sciences, Ingénierie et Environnement

# Formulation de mousses bio-calcifiantes pour la production de matériaux poreux

Présenté par :  
Margaux Ceccaldi

Composition du jury :

<b>Rapportrice</b>	RIO Emmanuelle	Professeur des universités
<b>Rapportrice</b>	SABLE Sophie	Maître de conférences
<b>Examineur</b>	EMERIAULT Fabrice	Professeur des universités
<b>Examineur</b>	VINCENT-BONNIEU Sébastien	Docteur
<b>Directeur de thèse</b>	PITTOIS Olivier	Directeur de recherche
<b>Co-directeur de thèse</b>	GRANDE Daniel	Directeur de recherche
<b>Encadrant de thèse</b>	GUEGUEN-MINERBE Marielle	Chargée de recherche
<b>Encadrante de thèse</b>	LANGLOIS Vincent	Maître de conférences



UNIVERSITÉ  
PARIS-EST CRÉTEIL  
VAL DE MARNE



Comme dirait Freddy “The Show must go on”

À a mo famiglia,

À u mo amore.



# Remerciements

Je souhaite remercier l'ensemble de mes encadrants : Daniel pour m'avoir accordé sa confiance, Marielle pour m'avoir ouvert les portes de la microbiologie, Vincent pour toutes ces discussions scientifiques enrichissantes et enfin Olivier pour ton aide précieuse tout au long de ma thèse. Merci de m'avoir poussé dans mes retranchements et d'avoir été toujours présent pour n'importe quelles questions, même les plus dérisoires.

Je souhaite aussi remercier l'ensemble de mon jury pour m'avoir accordé le grade de docteur en sciences des matériaux.

J'aimerais également remercier toutes les personnes avec qui j'ai eu la chance de collaborer : Sébastien pour ces rendez-vous mensuels, Théo et Yann pour m'avoir aidé avec la DBO. Merci Fabienne de m'avoir accompagnée pendant ces longues heures à attendre de beaux pics sur les chromatogrammes. Merci à Cédric pour avoir construit les différents dispositifs pour mes expériences. Merci à Coralie qui m'a aidé dans cette dernière ligne droite. Et évidemment, merci Issam pour ta bonne humeur (toujours en musique) et pour toute l'aide que tu as pu m'apporter, j'ai adoré travailler avec toi.

Merci aux membres des laboratoires Navier et CPDM. J'ai découvert de très belles personnes. Mon voisin Laurent (Lolo 2000), Julie, David, Florence, Yacine, Benjamin, Jaime, Abdoulaye (vive le plot C) et tous ceux avec qui j'ai eu la chance d'échanger au 4<sup>e</sup> comme au 5<sup>e</sup> étage. Merci aussi à Catherine et Clémence qui m'ont donné le goût de la recherche.

Je tiens à remercier tous les copains du labo (rpz l'équipe RMP + Franck), les anciens et les nouveaux doctorants/post docs/stagiaires.

Merci à tous mes colocs de bureau. Je veux remercier plus particulièrement Ali : my longest office mate, mon frère des mousses, thank you for your kindness.

J'aimerais remercier « ce club des cinq », mes quatre camarades avec qui j'ai commencé ce périple de doctorant, en octobre 2020. Ça a été une aide incroyable d'évoluer à plusieurs et en même temps avec toujours une bonne ambiance.

Merci Kassem pour ton sourire constant, merci Franck pour ta gentillesse, merci Nabil pour ton humour (doucement, tes chevilles vont gonfler), merci Antoine pour ton soutien sans faille et ces discussions matinales. Oui, j'avoue, j'ai passé de très bons moments dans ce bureau C442

## Remerciements

(rpz Paul), bureau dans lequel on a eu de nombreuses et grandes discussions. L'expérience aurait été nettement moins agréable sans vous.

Merci aux plus récents diplômés, Anatole et Elisa. Anatole et ta bienveillance inébranlable.

Elisa et ses discussions incompréhensibles et sans fin, j'ai tellement ri.

Merci à Rahima, ma jumelle, ou plutôt moi, parce que toi c'est moi. Merci, tu sais tout.

Un grand merci à ma famille et mes amis. Et un énorme merci à mon amour d'avoir été présent pendant ces 3 ans, essuyé mes larmes, calmé mes angoisses. Merci infiniment pour ta patience.

# Table des matières

Abréviations .....	7
Symboles .....	9
Introduction .....	11
Chapitre 1 : Généralités .....	15
1. Les bactéries .....	16
2. Bio-calcification .....	19
2.1. Mécanismes de bio-calcification : Cycle de l'azote.....	20
2.2. Mécanismes de bio-calcification : Cycle du carbone.....	21
3. Paramètres influençant l'efficacité de la bio-calcification .....	22
3.1. Composition de la solution bio-calcifiante .....	22
3.2. Conditions environnementales .....	26
3.3. Milieu granulaire.....	27
3.4. Méthodes d'injection .....	31
3.5. Conclusions.....	33
4. Tensioactifs .....	34
4.1. Structure moléculaire et propriétés .....	34
4.2. Interactions tensioactifs/bactéries .....	35
5. Les Mousses aqueuses.....	37
5.1. Structure d'une mousse, fraction liquide .....	37
5.2. Drainage et perméabilité .....	38
5.3. Vieillissement d'une mousse liquide .....	41
6. Les mousses dans les milieux poreux .....	42
6.1. Perméabilité .....	42
6.2. Murissement.....	44
Chapitre 2 : Matériaux et Méthodes .....	47



1. Microbiologie .....	48
1.1. Souches calcifiantes .....	48
1.2. Mise en culture des souches bactériennes.....	49
1.3. Dénombrement.....	50
1.4. Suivi du comportement bactérien au cours du temps ...	52
2. Bio-calcification ... ..	56
2.1. ... en milieu liquide .....	56
2.2. Préparation des solutions de calcification.....	57
3. Caractérisation du carbonate de calcium.....	58
3.1. Analyses qualitatives .....	58
3.2. Analyses quantitatives .....	59
4. Les tensioactifs .....	61
4.1. Liste des tensioactifs .....	61
4.2. Mesure de la concentration micellaire critique.....	62
4.3. Dosage des tensioactifs par CLHP.....	64
5. Production d'une mousse aqueuse contrôlée .....	67
5.1. Dispositif de moussage .....	67
5.2. Contrôle de la mousse .....	68
6. Echantillons poreux remplis de mousse .....	70
6.1. Milieu poreux : Empilements de grains .....	70
6.2. Remplissage de mousse .....	73
6.3. Mesure de perméabilité au liquide de la mousse aux temps courts .....	74
6.4. Mesure de perméabilité au liquide de la mousse aux temps longs .....	80
Chapitre 3 : Etude de la compatibilité entre bactéries et tensioactifs.....	83
1. Test de l'activité de l'uréase des souches uréolytiques calcifiantes.....	85
2. Respiration bactérienne en présence de tensioactifs .....	86
3. Effet de la concentration en tensioactifs sur la croissance des bactéries .....	94

4.	Etude de la consommation des tensioactifs par les bactéries.....	101
4.1.	Saponine.....	101
4.2.	APGs.....	105
4.3.	Conclusion.....	111
5.	Bio-calcification en milieu liquide.....	112
5.1.	Cinétique de calcification.....	112
5.2.	Effet de la concentration en Calcium et en bactéries.....	114
5.3.	Caractérisation du carbonate de calcium.....	117
6.	Conclusion du chapitre.....	119
	Chapitre 4 : Propriétés hydrauliques des milieux poreux remplis de mousse liquide.....	123
1.	Perméabilités de référence des mousses utilisées.....	125
2.	Perméabilité des échantillons poreux remplis de mousse.....	126
2.1.	Résultats expérimentaux.....	126
2.2.	Effet des tensioactifs et de la microstructure de la mousse confinée.....	129
2.3.	Remarque sur les domaines de validité des deux méthodes expérimentales.....	135
3.	Evolution de la perméabilité induite par le murissement de la mousse confinée.....	136
3.1.	Murissement des mousses liquides confinées.....	136
3.2.	Mesure de la perméabilité au cours du temps.....	140
4.	Conclusion du chapitre.....	142
	Chapitre 5 : Bio-calcification en milieu granulaire.....	145
1.	Bio-calcification dans une goutte entre deux plaques.....	146
2.	Bio-calcification dans un milieu granulaire 2D.....	148
2.1.	Montage expérimentale.....	148
2.2.	Un traitement du milieu granulaire 2D.....	150
2.3.	Plusieurs traitements du milieu granulaire 2D.....	152
3.	Conclusion du chapitre.....	156
	Conclusions et perspectives.....	159

Références .....	163
Annexes .....	171
1. Calculs des valeurs de $r$ particulières pour chaque type d'empilement.....	172
1.1. Calculs de $rc$ .....	173
1.2. Calculs de $rv$ et $rw$ .....	173
2. Vérification de la stationnarité du système .....	176
3. Comparaison des résultats expérimentaux à la littérature .....	177
4. Articles .....	178
4.1. Liquid relative permeability through foam-filled porous media: Experiments ...	179
4.2. Coarsening-induced time evolution of liquid permeability through foam-filled porous media .....	194
4.3. Daisy-shaped liquid bridges in foam-filled porous media.....	205

# Abréviations

ATG	Analyse Thermogravimétrique
BN	Bouillon Nutritif
CFC	Cubique Faces Centrées
CID	Carbone Inorganique Dissout
CLHP	Chromatographie Liquide à Haute Performance
CMC	Concentration Micellaire Critique
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CML	Concentration Minimale Létale
DBO	Demande Biochimique en Oxygène
DCO	Demande Chimique en Oxygène
DO	Densité Optique
DRX	Diffraction des Rayons X
MEB	Microscope Electronique à Balayage
MICP	Précipitation de Carbonate de calcium Induite Microbiologiquement
TA	Tensioactif
UFC	Unité Formant Colonie
UV	Ultra-Violet
rpm	Rotation par Minute
AcCa	Acétate de calcium
ACN	Acétonitrile
C8G	Octyl glucoside
C10G	Decyl glucoside
C8M	Octyl maltoside
C10M	Decyl maltoside
C12M	Dodecyl maltoside
Gluc	Glucopon
Sap	Saponine
TTAB	Bromure de tétradécyl triméthylammonium



# Symboles

$\alpha$	Coefficient
$\beta$	Coefficient
$A_{pic}$	Aire sous pic des chromatogrammes
$C$	Concentration des bactéries
$C(r)$	Coefficient de réduction de la perméabilité
$c$	Compacité
$D_b$	Diamètre de bulle
$\bar{D}_b$	Diamètre de bulle moyen
$D_g$	Diamètre des grains
$DO$	Densité optique
$\varepsilon$	Fraction liquide de la mousse
$k_D$	Perméabilité de Darcy
$k_f$	Perméabilité de la mousse confinée ( $k_D/p$ )
$k_{f0}$	Perméabilité de la mousse non confinée, perméabilité de référence
$\tilde{k}_f$	Perméabilité adimensionnée par le carré du diamètre de bulles
$k_{rel}$	Perméabilité relative ( $k_D(\varepsilon)/k_D(\varepsilon = 1)$ )
$p$	Porosité
$r$	Rapport de taille $D_b/D_g$
$r_v$	Rapport de taille pour lequel chaque pore contient strictement 1 bulle
$r_w$	Rapport de taille pour lequel chaque pore contient un nombre de bulles égale à son nombre de constriction
$r_c$	Rapport de taille pour lequel chaque pore contient un nombre de bulles égale à son nombre de constriction
$t_r$	Temps de rétention
$V$	Vitesse de croissance bactérienne
$V_{tem}$	Vitesse de croissance bactérienne du témoin



# Introduction



Depuis plusieurs années, la méthode de précipitation de carbonate induite par voie microbienne (MICP) émerge dans divers domaines, notamment celui des matériaux de construction. L'un des principaux facteurs de détérioration des matériaux utilisés dans la construction, par exemple les bétons ou les roches calcaires, est la présence de pores. Le traitement de ces matériaux avec des bactéries calcifiantes permet de remplir les pores avec la précipitation de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) et de limiter les détériorations potentielles. Par diverses voies métaboliques, certaines bactéries, dites calcifiantes, sont capable d'induire la formation de minéraux comme le  $\text{CaCO}_3$ <sup>1</sup>.

Cette méthode a été étudiée comme traitement de surface des roches ornementales<sup>2</sup> ou de granulats de béton recyclés<sup>3,4</sup>, pour la production de « bio-briques »<sup>5-9</sup> ou pour l'amélioration de sols pulvérulents<sup>10-14</sup>. De plus, le remplissage des pores ou des fissures avec le  $\text{CaCO}_3$  permet également l'immobilisation de composés polluants dans un matériau<sup>15</sup>. À l'université de Delft, Jonkers et al.<sup>16</sup> ont développé une méthode biologique pour élaborer des matériaux cimentaires autocicatrisants, en incorporant les bactéries calcifiantes encapsulées dans la formulation. Lorsqu'une fissure se forme, les capsules peuvent se dissoudre dans l'eau s'infiltrant par la fissure ou céder sous une certaine pression mécanique et libèrent les bactéries permettant l'initiation de la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  afin de colmater la fissure. De manière plus générale, si la méthode MICP permet de réduire la perméabilité d'un milieu poreux et de le réparer, elle peut également en améliorer les performances mécaniques<sup>11</sup>. Dans le cas du renforcement de matériaux pulvérulents ou la production de « bio-briques », la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  dans un milieu granulaire permet de créer des ponts solides entre les grains<sup>17</sup> (Figure 1), et d'améliorer les performances mécaniques macroscopiques du matériau.

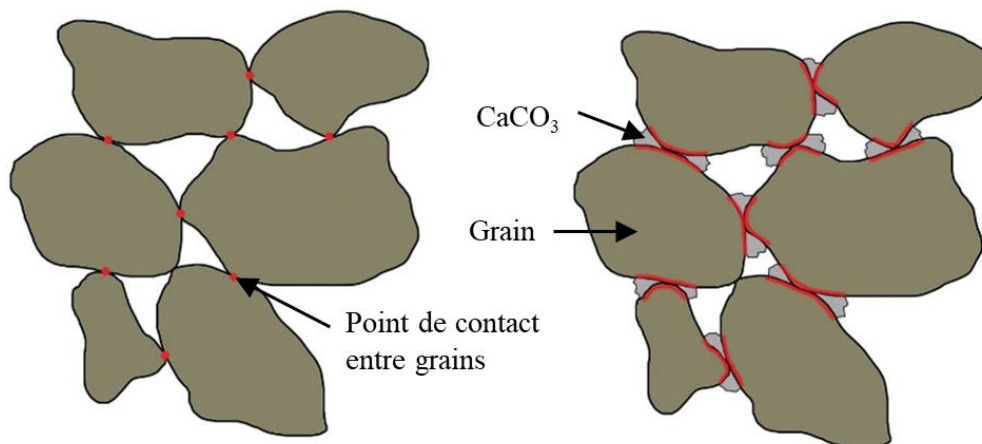


Figure 1. Illustration d'un ensemble de sable avant et après bio-cimentation<sup>18</sup>.

En 2013, Cheng et al.<sup>19</sup> ont abordé et étudié cette méthode pour différents degrés de saturation en liquide des pores d'un milieu granulaire (assemblage de sable). Leurs résultats montrent que cette méthode fournit une amélioration des performances mécaniques significative à faible saturation, entre 20 et 80% (du volume des pores occupé par le liquide), et pour de faibles quantités de CaCO<sub>3</sub> précipitées dans le sable. Cela s'explique par la capillarité : lorsqu'un milieu granulaire est désaturé en liquide, des ponts liquides se forment au voisinage des contacts des grains, ce qui permet de concentrer l'action des bactéries dans ces zones stratégiques. L'injection de mousses liquides dans les milieux granulaires pourrait conduire à une répartition assez similaire du liquide dans l'espace poreux et permettrait d'atteindre des degrés de saturation bien inférieurs à 20%.

L'objectif de la thèse est d'étudier l'adaptation de la méthode MICP avec des mousses bio-calciifiantes en vue d'élaborer des matériaux poreux cohésifs (« bio-briques ») pour des applications dans le domaine de la construction. Ainsi, l'utilisation de mousse soulève plusieurs problématiques. En effet, les mousses liquides sont produites à partir de solutions de tensioactifs qui sont, pour la majeure partie, bactéricides. L'enjeu est donc de trouver des tensioactifs inoffensifs pour les bactéries calcifiantes et qui n'altèrent pas leur propriété bio-calciifiante. De plus, les procédés de bio-calcification peuvent nécessiter plusieurs phases d'injection de liquide (nutriments ou réactifs) amenant un autre enjeu qui porte sur la connaissance des propriétés de la mousse confinée dans l'espace poreux (propriétés hydrauliques et vieillissement). Enfin, il s'agit de montrer par une observation locale si cette nouvelle méthode permet la formation de ponts solides entre les grains (condition indispensable à la production de matériaux cohésifs).

Ces diverses problématiques et les stratégies mises en œuvre pour y répondre seront développés dans divers chapitres de ce manuscrit. Cependant, dans le premier chapitre Généralités, nous définirons les différentes notions utiles à ce projet concernant la microbiologie (comportements bactériens, bio-calcification) et la physico-chimie des mousses (tensioactifs, caractérisation d'une mousse liquide, évolution d'une mousse). Nous présenterons également les avancées la littérature concernant la méthode MICP appliqué à l'amélioration des propriétés mécaniques de matériaux sableux. Dans le deuxième chapitre « Matériaux et méthodes », nous présentons les différents matériaux et méthodes microbiologiques et de caractérisation chimiques et physiques nécessaire pour mener à bien ce projet. Le troisième chapitre porte sur l'étude de la compatibilité entre tensioactifs et bactéries. Plusieurs tensioactifs sont testés pour déterminer la

molécule tensioactive idéale pour produire des mousses stables et non bactéricides. La formulation de la mousse est également investiguée pour permettre la bio-calcification de se produire. Le quatrième chapitre concerne l'étude des mousses liquides confinées dans un milieu granulaire. Les propriétés hydrauliques et l'évolution de ces mousses peuvent être impactées par le confinement. Dans le cinquième chapitre, nous nous intéressons à tester une formulation de mousse bio-calcifiante dans les conditions de bio-cimentation d'un assemblage de grains.

# Chapitre 1 : Généralités

Dans ce chapitre, nous nous intéressons à différentes notions de microbiologie (comportements bactériens, bio-calcification) et de physico-chimie des mousses (tensioactifs, caractérisation d'une mousse liquide, évolution d'une mousse). Nous nous intéressons également à la littérature concernant la méthode MICP pour l'amélioration de sols sableux.

## 1. Les bactéries

Les bactéries font partie de la grande famille des micro-organismes, parmi les moisissures, les virus, les levures, les microalgues et les archées. Les bactéries sont unicellulaires et procaryotes, c'est-à-dire qu'elles sont composées d'une cellule sans noyau. Toutes les informations génétiques, les réserves de carbone, de phosphate ou autre, se situent dans l'espace intracellulaire (cytoplasme) de la cellule.

L'enveloppe des cellules bactériennes est constituée de diverses parties (de l'intérieur vers l'extérieur) : une membrane cytoplasmique composée d'une bicouche phospholipidique, et d'une paroi cellulaire qui protège la cellule vis-à-vis de l'environnement extérieur. Selon la structure de cette paroi protectrice, deux sous-groupes bactériens se distinguent : les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif. Les bactéries Gram positif présentent une couche de peptidoglycane en guise de paroi (Figure 1- 1). Celle-ci est épaisse, plutôt élastique et perméable. Les bactéries Gram négatif ont une paroi constituée d'une couche de peptidoglycane et d'une bicouche phospholipidique (Figure 1- 1)<sup>20</sup>. En raison de l'épaisseur de la couche de peptidoglycane, les bactéries Gram positif sont plus résistantes à la pression osmotique que les Grams-négatifs.

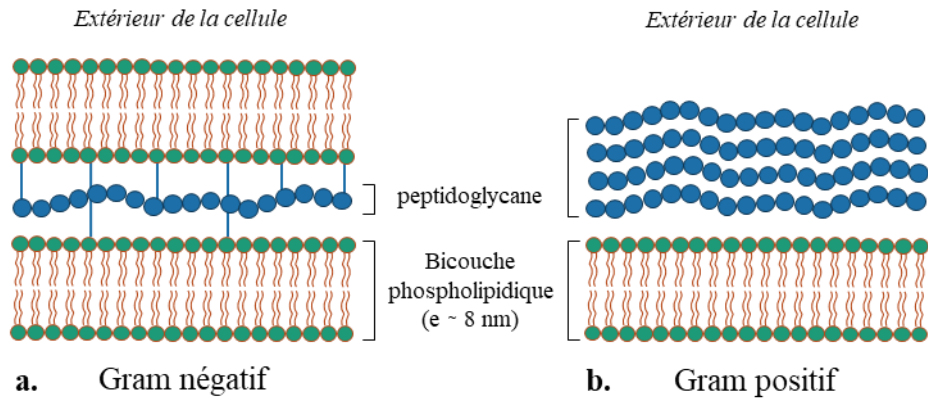


Figure 1- 1. Structure des parois cellulaires des souches bactériennes a. Gram négatif, b. Gram positif dont la membrane cellulaire est principalement composée d'une bicouche phospholipidique dont l'épaisseur est d'environ de 8 nm.

Il existe un grand nombre d'espèces bactériennes, divisés en différentes souches. Une souche bactérienne correspond à un ensemble de cellules dérivant d'une même bactérie d'origine et dont les bactéries ont hérité certains traits typiques.

Lorsqu'une espèce microbienne se trouve dans un environnement favorable à sa survie (présence de nutriments), les micro-organismes se développent naturellement et se multiplient. Selon les espèces, les nutriments nécessaires à leur bon développement diffèrent. L'ensemble de ces nutriments est appelé milieu de culture.

Le développement bactérien se produit par divisions cellulaires. Les stratégies de reproduction sont multiples, mais la stratégie la plus simple et la plus répandue est la scissiparité : la cellule s'allonge, les informations génétiques sont répliquées, puis la cellule se divise en deux cellules jumelles. Ce mécanisme amène à une croissance exponentielle de la taille de la population microbienne.<sup>20</sup>

En laboratoire, la culture des bactéries se fait souvent en milieu liquide dans un système fermé (ou culture en « batch »). Dans ce cas, le milieu de culture n'est pas renouvelé et la quantité de nutriments diminue à mesure que les bactéries se développent. Les bactéries produisent également des déchets dont la concentration augmente au cours du temps. La croissance bactérienne dans ce type de culture est constituée de 4 phases distinctes (Figure 1- 2.a) :

- 1. Phase de latence : les bactéries ne croissent pas immédiatement, c'est une phase d'adaptation au milieu de culture.
- 2. Phase de croissance (ou phase exponentielle) : augmentation du nombre de bactéries, on parle de phase exponentielle lorsque le taux de croissance (nombre de divisions par unité de temps) est maximal et constant pendant quelques heures.

- 3. Phase stationnaire, initiée par un ralentissement de la croissance ; résultant de la limitation en nutriments, le nombre de cellules qui naissent est égal au nombre de cellules qui meurent et il y a une accumulation de déchets toxiques.
- 4. Phase de déclin : les cellules ne se divisent plus, elles entrent en dormance ou elles sont détruites par autolyse.

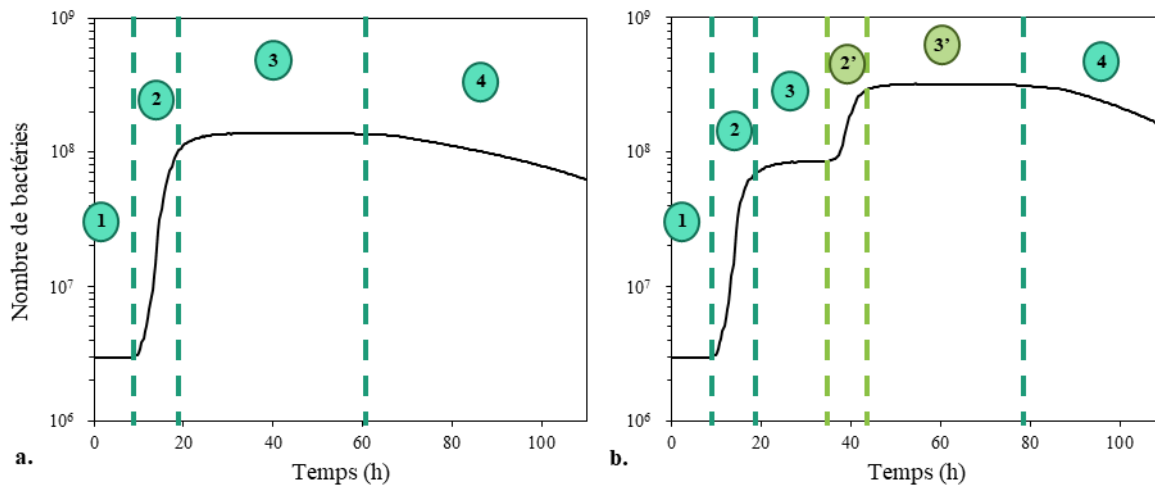


Figure 1- 2. a. Exemple de courbe de croissance bactérienne dans le cas d'un système fermé ; b. Exemple de courbe de croissance diauxique dans le cas d'un système fermé. Chaque phase de croissance est indiquée par un numéro, 1 : phase de latence ; 2 et 2' : phase de croissance ; 3 et 3' : phase stationnaire ; 4 : phase de déclin.

Lorsque le milieu de culture est composé d'au moins deux sources de carbone on peut observer une croissance diauxique<sup>21</sup>, c'est-à-dire une croissance en deux temps (Figure 1- 2.b). Ce phénomène de diauxie a été mis en évidence par Jacques Monod<sup>22</sup> en 1978. Ainsi, une fois le premier composé épuisé, les bactéries ont besoin d'un nouveau temps de latence pour s'adapter et pour pouvoir assimiler le deuxième composé, et ainsi de suite.

Les déchets produits par les bactéries sont souvent toxiques pour la souche mais peuvent parfois être valorisés, comme des protéines ou par exemple des ions permettant d'initier la précipitation de minéraux. Le phénomène de production et d'accumulation de minéraux par les bactéries est appelé bio-minéralisation. Lorsqu'il s'agit de précipitation de carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>), on parle de bio-calcification. On parlera de bio-cimentation pour le processus d'amélioration des propriétés mécaniques.

## 2. Bio-calcification

La précipitation de  $\text{CaCO}_3$  est un phénomène qui peut avoir lieu sans l'intervention de microorganismes. En effet, la dissolution et l'hydratation de  $\text{CO}_2$  dans l'eau produit le polyacide  $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ , plus généralement appelé carbone inorganique dissout (CID), dont les zones de prédominance respectives dépendent du pH (Figure 1- 3).

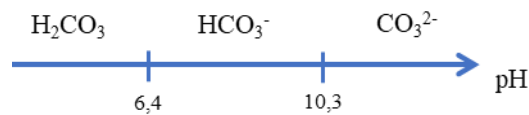
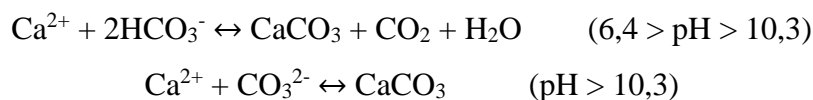


Figure 1- 3. Diagramme de prédominance acido-basique des espèces  $\text{H}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{HCO}_3^-$  et  $\text{CO}_3^{2-}$

Les réactions associées sont les suivantes :



En présence d'ions calcium et à  $\text{pH} > 6,4$ , les formes  $\text{HCO}_3^-$  et  $\text{CO}_3^{2-}$  peuvent précipiter des  $\text{CaCO}_3$ , produit très peu soluble dans l'eau. Les réactions chimiques en jeu sont les suivantes :



La précipitation de  $\text{CaCO}_3$  dépend donc de la concentration en CID, en ions calcium, du pH et de la présence ou non d'un site de nucléation, c'est-à-dire un site permettant la rencontre des ions. Cependant, l'hydratation de  $\text{CO}_2$  est une réaction très lente, ainsi le phénomène de calcification est aussi très lent.

Depuis plusieurs années, les microorganismes ont été étudiés dans le but de favoriser ce processus de calcification, souvent appelée MICP, un acronyme pour la Précipitation de Carbonate Induite par voie Microbienne. Quelques études ont été publiées sur la bio-calcification à partir de champignons (carbonate fongique)<sup>23,24</sup> et à partir d'algues (ou



microalgues)<sup>25</sup>, mais la majorité des études portent sur la calcification induite par des bactéries. En effet, certaines bactéries ont des métabolismes impliquant la création d'un milieu alcalin<sup>1</sup> (pH basique) et la production de CID, favorisant donc la précipitation de CaCO<sub>3</sub>. Selon la souche bactérienne, différents mécanismes métaboliques<sup>1,26</sup>, impliquant le cycle du carbone et/ou le cycle de l'azote, aboutissent à la précipitation de CaCO<sub>3</sub>. Les voies métaboliques spécifiques à cette étude seront décrites dans les paragraphes suivants 2.1 et 2.2.

De plus, les bactéries servent de sites de nucléation<sup>1,27,28</sup> dans la mesure où les ions carbonates sont produits et concentrés dans l'environnement proche de la bactérie. De plus, la paroi des bactéries est chargée négativement, ce qui permet d'attirer les cations divalents (tels que les ions calcium) à la paroi<sup>28</sup>. Ainsi, la rencontre des ions se situe au niveau de la paroi bactérienne et la précipitation se produit dans cette zone. Par ailleurs, lorsque la précipitation est conséquente la cellule bactérienne finit par être piégée par une croûte de CaCO<sub>3</sub><sup>1,10</sup>.

## 2.1. Mécanismes de bio-calcification : Cycle de l'azote

Le mécanisme le plus répandu et le plus étudié dans la littérature concerne le mécanisme de l'hydrolyse de l'urée en lien avec le cycle de l'azote. Ce mécanisme est possible en présence d'oxygène, de matières organiques, d'une source de calcium et d'urée à disposition des bactéries.

La dégradation de l'urée (CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O) par une enzyme (Equation 1- 1), l'uréase, entraîne la formation d'ammoniac (NH<sub>3</sub>) et d'un intermédiaire réactionnel le carbamate (H<sub>2</sub>N-COOH)<sup>27,29</sup>. Le carbamate réagit spontanément avec l'eau (Equation 1- 2) pour former à nouveau de l'ammoniac et de l'acide carbonique (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>).

Hydrolyse de l'urée :



Dissolution du NH<sub>3</sub> dans l'eau :



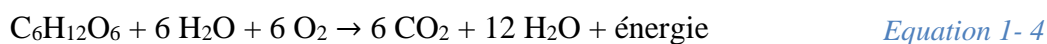
La dissolution de l'ammonium (Equation 1- 3) a pour effet de basifier localement le milieu autour des bactéries. Et donc à  $\text{pH} > 6,4$ , les ions  $\text{CO}_3^{2-}$  et  $\text{HCO}_3^-$  réagissent alors avec les ions calcium et la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  a lieu autour des bactéries.

L'uréase est produite par certaines bactéries dites uréolytiques. Différentes souches utilisent cette voie métabolique pour précipiter du  $\text{CaCO}_3$ . Les souches le plus étudiées font partie de la famille des *Bacillus* : *Sporosarcina pasteurii*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, etc... *Sporosarcina pasteurii* est connue pour synthétiser l'enzyme uréase en grande quantité (forte activité uréase) favorisant la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ <sup>30</sup>.

Il existe d'autres mécanismes moins répandus, en lien avec le cycle de l'azote, comme la réduction des nitrates (en l'absence d'oxygène ou en présence de très peu d'oxygène), en présence de matières organiques, de calcium et de nitrate, et l'ammonification des acides aminés en présence d'oxygène, de matières organiques et de calcium<sup>1</sup>.

## 2.2. Mécanismes de bio-calcification : Cycle du carbone

Toutes les bactéries ont besoin, entre autres, d'une source de carbone pour pouvoir se développer. Pour produire du carbonate, les bactéries peuvent aussi utiliser le carbone organique (cycle du carbone), c'est-à-dire les sucres ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) présents dans les nutriments comme les protéines ou des sels organiques. La réaction généralisée est la suivante<sup>31</sup> :



La concentration en  $\text{CO}_2$  dissout dans le milieu favorise alors la présence d'ions carbonates et la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ .

Certaines bactéries sont dotées de l'enzyme carbonique anhydrase qui provoque l'interconversion du dioxyde de carbone<sup>32</sup> en carbone dissout. La présence de cette enzyme favorise la formation de  $\text{CaCO}_3$ .

### 3. Paramètres influençant l'efficacité de la bio-calcification

Dans cette partie, nous allons passer en revue différents paramètres influençant l'efficacité de la bio-calcification utilisant la voie uréase (la voie la plus étudiée) : composition de la solution bio-calcifiante (bactéries, calcium et urée), conditions environnementales (pH, température) et structurelles (types de matériau granulaire), et techniques de mise en œuvre de la bio-cimentation.

#### 3.1. Composition de la solution bio-calcifiante

##### Source de calcium

La majorité des expériences sont effectuées avec le chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ). Ce composé est hautement soluble dans l'eau permettant une grande disponibilité des ions  $\text{Ca}^{2+}$  dans la solution. Le nitrate de calcium et l'acétate de calcium (AcCa) sont aussi hautement solubles dans l'eau. Plusieurs chercheurs ont étudié l'effet de la nature de la source de calcium sur la bio-précipitation. Il a été démontré que la source de calcium influence la cristallographie du  $\text{CaCO}_3$ , la morphologie et la taille des cristaux<sup>14,33,34</sup>. Le  $\text{CaCO}_3$  précipité peut rester amorphe ou devenir cristallin de trois façons différentes : en calcite, en vaterite ou en aragonite. La calcite est la forme cristalline la plus stable. Généralement, c'est de la calcite qui est précipitée en présence de  $\text{CaCl}_2$ <sup>14,33,34</sup>. En présence d'AcCa, il arrive d'obtenir de la vaterite<sup>34</sup>, de l'aragonite<sup>33</sup> ou de la calcite<sup>14</sup>. La nature du calcium n'est pas le seul facteur influençant la précipitation, il est donc complexe de prédire les caractéristiques de précipitation. Néanmoins, Zhang et al.<sup>33</sup> et Abo-El-Enein et al.<sup>14</sup> ont montré que l'AcCa pouvait être une bonne alternative au  $\text{CaCl}_2$  pour la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  par hydrolyse de l'urée en termes de amélioration des propriétés mécaniques.

##### Proportion des réactifs

Selon l'équation de la réaction pour la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  (paragraphe 2) dans le cas de bactéries uréolytiques, il faut 1 mole d'urée et 1 mole d'ion calcium pour obtenir 1 mole de  $\text{CaCO}_3$ . C'est donc naturellement que la majorité des expériences de bio-cimentation sont effectuées pour un mélange équimolaire d'urée et de calcium. Cette hypothèse a été validée par une étude de Nemati et al.<sup>35</sup> qui ont étudié l'effet de la proportion en calcium et en urée sur la précipitation en  $\text{CaCO}_3$  avec la souche *Proteus vulgaris*. Ils ont obtenu les meilleurs taux de

conversion (>99%) pour les ratios calcium:urée de 1:1 et 1,2:1. Néanmoins, Ivanov et al.<sup>36</sup> expliquent que le ratio calcium/urée optimal dépend du pH du milieu : si le pH est trop bas, il pourrait être nécessaire d'augmenter la proportion d'urée à hydrolyser pour augmenter le pH et favoriser la formation de CaCO<sub>3</sub>.

### **Souches bactériennes**

Le choix des bactéries est un point essentiel pour la bio-cimentation. En effet, en fonction de l'espèce et de la souche, les mécanismes employés pour induire la précipitation, ainsi que l'efficacité des enzymes, ne sont pas les mêmes<sup>37</sup>. De plus, la souche bactérienne doit être capable de survivre dans le milieu granulaire à bio-cimenter. C'est pour cette raison que beaucoup d'études sur l'amélioration des sols ont été réalisées avec des souches du type *Bacillus* comme *Sporosarcina pasteurii*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis*, que l'on retrouve abondamment dans les sols à l'état naturel. La souche *S. pasteurii* est la souche la plus étudiée et elle a montré une grande capacité d'adaptation aux variations de pH ainsi qu'une grande activité de l'uréase<sup>38</sup>. C'est une souche non pathogène qui utilise l'hydrolyse de l'urée pour induire la précipitation de CaCO<sub>3</sub>. D'autres chercheurs ont choisi d'utiliser les souches déjà présentes dans le milieu<sup>4,8,39</sup> à traiter pour éviter toute compétition avec la flore locale.

### **Activité uréase**

L'activité uréase est définie par la vitesse de réaction de l'hydrolyse induite par l'uréase et peut être décrite, par exemple, par la quantité d'urée hydrolysée par minute (en mmol/l/min). Nematy et al.<sup>40</sup> montrent que plus l'environnement est concentré en uréase, plus la réaction de précipitation est rapide : les vitesses de précipitation pour les concentrations d'uréase à 0,01 et 0,1 g/l sont respectivement 0,07 et 0,79 g/l/h (en gramme de CaCO<sub>3</sub> précipité).

Whiffin<sup>41</sup> a montré que l'activité uréase et la concentration en bactéries ne sont pas bien corrélées. Pourtant beaucoup d'études montrent une relation positive entre la concentration en bactéries et l'activité de l'uréase<sup>42-46</sup>. Par exemple, Zhao et al.<sup>45</sup> montrent que l'activité enzymatique de l'uréase (chez la souche *S. pasteurii*) augmente proportionnellement avec la concentration en bactérie ( $0,3 \leq DO \leq 1,5$ ). Cela suggère que chaque cellule bactérienne produit la même quantité d'uréase. De manière générale, la concentration en bactéries est représentée par la densité optique (DO) de la suspension bactérienne car la DO est proportionnelle avec la concentration en bactéries. Cet aspect sera détaillé dans le chapitre 2.

### Concentration en bactéries

Comme expliqué dans le paragraphe 2, en plus de synthétiser les enzymes nécessaires à la production des ions carbonates (uréase, carbonique anhydrase, etc), les cellules bactériennes agissent comme sites de nucléation<sup>1,27,28</sup>, c'est-à-dire que la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  est initiée principalement au niveau des cellules bactériennes.

Gandhi<sup>47</sup> évoque aussi que les cristaux de  $\text{CaCO}_3$  formés entrent en compétition avec les premiers cristaux précipités : c'est-à-dire, la croissance des premiers cristaux va être freinée par l'apparition de nouveaux cristaux. Dans le cas d'une concentration forte en bactéries (ou une activité enzymatique forte), les cristaux précipités seront alors plutôt petits. Cette hypothèse est confirmée par une étude de Cheng et al.<sup>48</sup> avec la souche *B. sphaericus*. L'observation des échantillons au microscope électronique à balayage montrent que pour une faible concentration en bactéries, les cristaux formés sont plus gros que les cristaux formés pour de fortes concentrations (Figure 1- 4). S'il y a peu de bactéries, les cristaux sont plus gros car tous les  $\text{CaCO}_3$  se forment sur quelques sites. Mais la taille des cristaux dépend aussi de la concentration en réactifs.

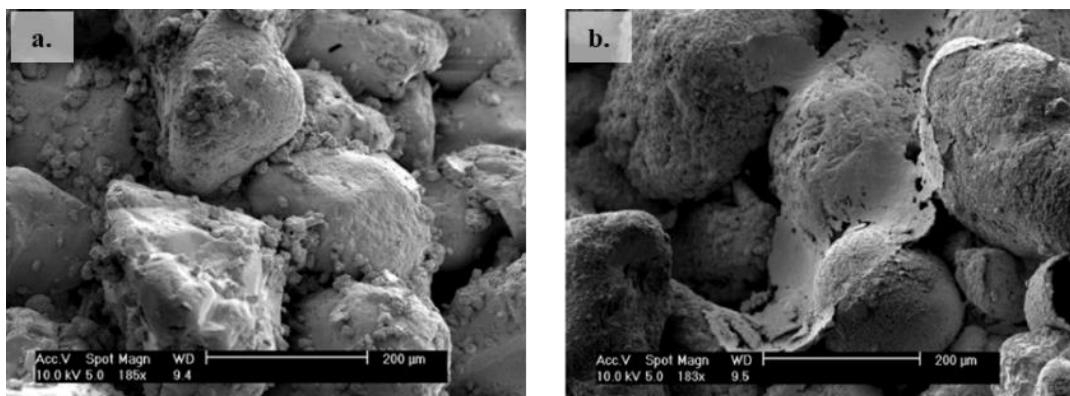
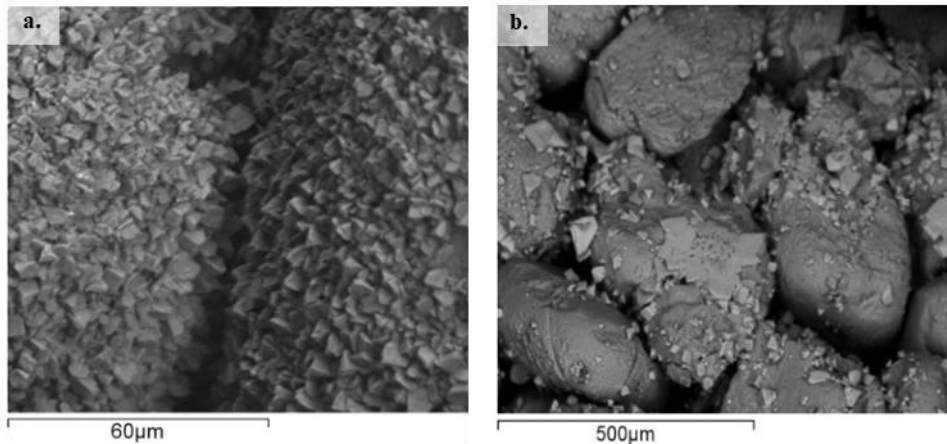


Figure 1- 4. Bio-cimentation d'un assemblage de sable à partir d'une suspension bactérienne pour une activité de l'uréase de a. 5  $\mu\text{mol/ml/min}$  et b. 50  $\mu\text{mol/ml/min}$ . L'activité de l'uréase a été diminuée en réduisant la concentration en bactéries. Modifié de Cheng et al. 2016<sup>48</sup> et Dadda 2017<sup>38</sup>.

### Concentration en réactifs

Plusieurs études montrent que l'augmentation de la concentration en réactifs (calcium et urée en proportions équimolaires) permet d'augmenter la quantité de  $\text{CaCO}_3$  précipité<sup>40,44-46</sup>. Toutefois, Al Qabany et al.<sup>49</sup> ont étudié la morphologie et la répartition de la bio-précipitation avec la souche *S. pasteurii* dans un échantillon de sable en fonction de la concentration en réactifs, urée et  $\text{CaCl}_2$ , à densité optique constante ( $\text{DO} = 0,8 - 1,2$ ). À 0,25 mol/l en réactifs,

les cristaux précipités de  $\text{CaCO}_3$  sont petits et sont répartis de façon homogène à l'échelle des grains (Figure 1- 5.a). De ce fait, les cristaux  $\text{CaCO}_3$  sont répartis uniformément au niveau des contacts entre les grains. À 1 mol/l, les cristaux précipités sont gros et sont répartis de façon hétérogène dans l'échantillon (Figure 1- 5.b).



*Figure 1- 5. Photos des échantillons de sable après bio-cimentation avec des concentrations en réactifs (urée et  $\text{CaCl}_2$ ) de a. 0,25 mol/l, b. 1 mol/l. Modifié de Al Qabany et Soga 2012<sup>49</sup>.*

La concentration a également un effet sur l'uniformité à l'échelle de l'échantillon. À forte concentration en réactifs, la rapidité de la réaction favorise l'obstruction des pores<sup>50</sup> proche de la zone d'injection et rendant difficile la propagation des réactifs dans le reste de l'échantillon.

En combinant les informations avec le paragraphe précédent, on s'aperçoit que de petits cristaux de  $\text{CaCO}_3$  se forment dans deux cas : à forte concentration en bactéries et/ou à faible concentration en réactifs. À l'inverse, de gros cristaux de  $\text{CaCO}_3$  se forment à faible concentration en bactérie avec une forte concentration en réactifs (suffisante pour faire croître les cristaux). Le rapport de ces deux concentrations semble donc un paramètre important dans le cadre du développement des précipités de  $\text{CaCO}_3$ . Néanmoins, la concentration en réactifs joue un rôle supplémentaire sur l'homogénéité de la précipitation dans les échantillons traités.

### **Effets sur les propriétés mécaniques**

Pour améliorer les propriétés mécaniques d'un matériau granulaire (sable), la majorité des études est réalisée en traitant le matériau plusieurs fois permettant d'atteindre des résistances mécaniques de quelques MPa<sup>42-45</sup>. Cela permet également d'atteindre les mêmes quantités de  $\text{CaCO}_3$  précipitées pour deux échantillons aux conditions différentes. Cela permet surtout

d'augmenter la quantité de  $\text{CaCO}_3$  précipités de façon homogène avec de faibles concentrations en réactifs. Pour une même quantité de  $\text{CaCO}_3$  précipité, Al Qabany et al.<sup>49</sup> montrent que la résistance à la compression est plus importante lorsque la concentration en calcium est plus faible avec la souche *S. pasteurii*, lorsque la précipitation se fait de façon plus homogène. Dans le cas des expériences de Zhao et al.<sup>45</sup>, ils parviennent à améliorer la résistance à la compression d'un échantillon de sable de façon proportionnelle à la concentration en réactifs sur une plage allant de 0,25 à 1 mol/l, et pour une DO égale à 0,6. Entre 1 et 1,5 mol/l, il n'y a pas d'amélioration, l'efficacité de la bio-cimentation est même réduite.

À concentration en réactifs constante (1 mol/l), Cheng et al.<sup>48</sup> montrent que la résistance mécanique est plus importante lorsque le processus a été réalisé (et répété) avec une faible concentration en bactéries (*B. sphaericus*), décrite par l'activité uréase : pour une quantité de  $\text{CaCO}_3$  de 0,04g/g de sable, la résistance à la compression est de 800 kPa, 420 kPa et 180 kPa pour des activités de l'uréase respectivement de 5, 10 et 50  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$ . Cela s'explique par une précipitation majoritairement localisée au niveau des contacts entre les grains lorsque la concentration en bactéries est faible.

Dans le cas de la souche *S. pasteurii*, la densité optique utilisée est généralement comprise entre 0,8 et  $2^{11-14,38,49,51,52}$  et la concentration en réactifs est comprise généralement entre 0,5 et 1,2 mol/l<sup>12-14,51</sup> pour le processus de bio-cimentation.

## 3.2. Conditions environnementales

### 3.2.1. Température

Ferris et al.<sup>53</sup> montrent que de 10°C à 20°C, l'activité de l'uréase de la souche *S. pasteurii* augmente d'un facteur 10 avec la température. Yi et al.<sup>54</sup> ont exploré une gamme plus large de la température (de 5 à 40°C) pour montrer son effet sur l'activité de l'uréase au bout de 48h. C'est à 30°C que l'activité de l'uréase est optimale. De 10 à 30°C la quantité d'urée décomposée est proportionnelle à la température ; au-delà de 35°C l'activité de l'uréase chute drastiquement. En 2009, Van Paassen étudie différents paramètres, dont la température, sur l'activité de l'uréase mais aussi sur sa cinétique. Il montre une relation exponentielle entre la vitesse de décomposition de l'urée  $v_h$  adimensionnée par la vitesse initiale  $v_{h0}$  et la température  $T$  :

$$\frac{v_h}{v_{h0}} = \exp\left((T - T_0) \frac{\ln Q_{10}}{10}\right) \quad \text{Equation 1- 5}$$

Le facteur de l'activité de l'uréase  $Q_{10}$  est égale à 3,4 pour une gamme de température comprise entre 5 et 35°C.

La température a aussi un impact sur la morphologie du  $\text{CaCO}_3$  précipité. En effet, Cheng et al.<sup>48</sup> ont étudié les tailles des cristaux de  $\text{CaCO}_3$  pour des températures de 4, 25 et 50°C lors de la bio-cimentation. Leurs observations au Microscope Electronique à Balayage (MEB) montrent que le  $\text{CaCO}_3$  s'organise en larges cristaux (20-50  $\mu\text{m}$ ) pour une température de 25°C. À 4 et 50°C, les cristaux formés sont dix fois plus petits (2-5  $\mu\text{m}$ ).

La gamme de températures idéale se situe entre 20 et 37°C<sup>55</sup>. Aussi, à température ambiante, les cristaux formés sont gros et sont plus efficaces pour augmenter la cohésion entre les grains<sup>48</sup>. Pour des températures plus élevées, les cristaux formés peuvent être plus nombreux<sup>40</sup> mais sont aussi plus petits, ce qui implique un renforcement du milieu granulaire plus faible pour une même quantité de  $\text{CaCO}_3$  précipitée.

### 3.2.2. pH

Dans la littérature, les études décrivent souvent des expériences avec *S. pasteurii* pour un pH autour de 9<sup>13,14,49,51</sup>. En effet, cette valeur de pH a été déterminée comme étant le pH optimal pour la croissance de *S. pasteurii*<sup>56</sup>, de même que pour d'autres souches bio-calcifiantes et de type *Bacillus*, par exemple *B. sphaericus*. Stocks-Fischer et al.<sup>57</sup> montrent également que la précipitation induite liée à l'activité uréase de la souche *S. pasteurii* est optimale pour une plage de pH entre 8,3 et 9.

Néanmoins, plusieurs études ont montré que l'hydrolyse de l'urée implique une augmentation du pH dans l'environnement local des bactéries<sup>53,58</sup>, ce qui permet d'étudier la bio-précipitation pour une gamme plus large de pH initial (entre 6,5 et 9,3). La bio-précipitation est quand même plus lente pour des valeurs de pH inférieures à 8<sup>37,41,59</sup>. Cependant, lorsque la réaction est lente, les cristaux formés sont de taille plus large, favorisant la formation de ponts entre les grains<sup>37,41</sup>.

### 3.3. Milieu granulaire

La composition du milieu granulaire influence la bio-précipitation par différents biais : la nature minéralogique des grains, la taille et la distribution de taille des grains, ainsi que leur angularité.



Mortensen et al.<sup>60</sup> ont étudié différents types de sable en terme de minéralogie pour la bio-précipitation : du sable de quartz, de calcite, d'oxide de fer, et de feldspath. Il s'est avéré que la sable de calcite, déjà riche en  $\text{CaCO}_3$ , est le sable le plus favorable pour la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$ .

La taille des grains aussi très importante. En effet, la taille des bactéries peut être entre 0,3 et 3  $\mu\text{m}$ <sup>60</sup>. La perméabilité du sol, fixée en partie par la taille des grains, doit être suffisamment grande pour permettre le passage des bactéries à travers l'espace poreux. D'après Maier et al. (2009)<sup>61</sup>, un sol sableux avec une taille de grains entre 0,05 à 2 mm est adéquate pour le déplacement de la souche *S. pasteurii* dans les pores, rendant possible leur injection en milieu poreux sableux<sup>10,62</sup>.

Cheng et al.<sup>48</sup> ont expérimenté la bio-cimentation de sable avec une fine distribution de 0,15 mm et 1,18 mm. Leur étude montre que la précipitation dans les grains de 0,15 mm permet d'obtenir une meilleure résistance à la compression pour une même quantité de  $\text{CaCO}_3$  précipité. De plus, dans sa thèse soutenue en 2007, Rebata-landa<sup>63</sup> explore une large gamme de taille de grains entre 0,36  $\mu\text{m}$  et 10 mm, dont des argiles, du sable et des graviers. Elle détermine un maximum de précipitation de  $\text{CaCO}_3$  pour les plus petites tailles de grains de sable autour de 10 et 300  $\mu\text{m}$  (Figure 1- 6). Lorsque la taille des grains de sable augmente, le pourcentage de  $\text{CaCO}_3$  précipité diminue. Les sols argileux ont une granulométrie trop faible (faible perméabilité) pour injecter correctement les bactéries. Tandis que les sols de gravier ont une taille de pores trop importante, il devient difficile de créer des ponts entre les grains (espace entre grains important) et la majorité de la bio-précipitation se produit à la surface des grains et diminue l'efficacité du procédé<sup>37</sup>. Les petites tailles de grains de sable facilitent bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  et favorisent l'amélioration des propriétés mécaniques.

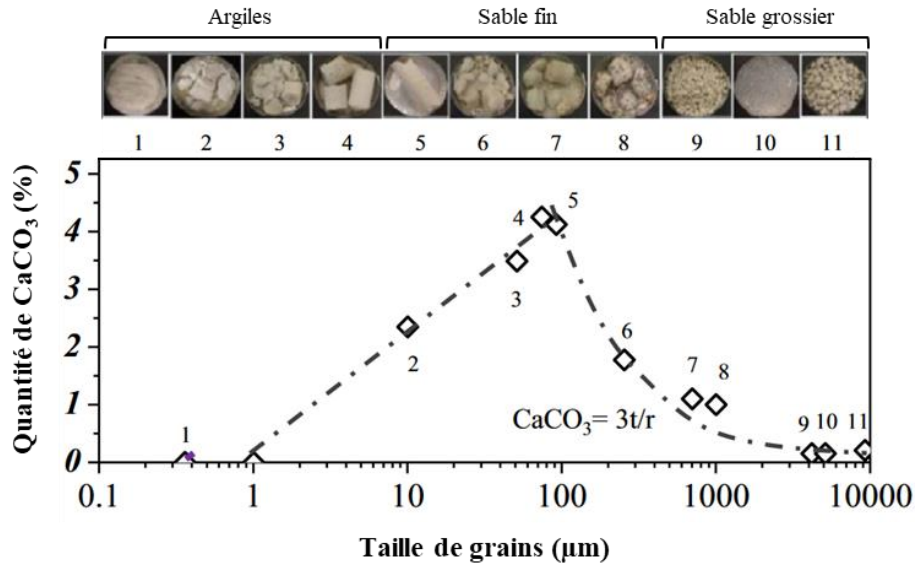


Figure 1- 6. Quantité de CaCO<sub>3</sub> précipitée en fonction de la taille des grains du matériau granulaire.

Modifié à partir de Tang et al. 2020<sup>37</sup> et Rebat-Landa 2017<sup>63</sup>

Cheng et al.<sup>48</sup> et Mortensen et al.<sup>60</sup> ont également étudié l'effet de la distribution de taille sur la bio-précipitation. Pour un sable fin et polydisperse (plusieurs tailles de grains), l'amélioration des propriétés mécaniques est plus importante et aussi plus rapide que pour un sable monodisperse (une seule taille de grains). De la même façon que pour un sable fin, une distribution large de taille de grains induit un plus grand nombre de contacts entre particules. Pour éclaircir l'effet de la taille et celui de la distribution de taille des grains, Al Qabany (2011)<sup>37,64</sup> a étudié l'effet de la densité relative du milieu granulaire sur les propriétés mécaniques pour différentes quantités de CaCO<sub>3</sub> précipité. Il a pu montrer que la résistance à la compression augmente avec la densité relative initiale de l'échantillon de sable pour une quantité de CaCO<sub>3</sub> identique.

Mais Kadhim et Zhen (2017)<sup>65</sup> soulignent que les bactéries peuvent flocculer, c'est-à-dire qu'elles peuvent s'agréger et former des objets de taille supérieure à 100μm, réduisant ainsi leur capacité à être transportées dans le milieu. Dans ce cas de figure, réduire la porosité en ayant un sable avec plus grande distribution est défavorable pour une bonne amélioration des propriétés mécaniques.

L'aspect anguleux des grains de sable a aussi un effet sur l'amélioration des sols par la bio-précipitation. Effectivement, Nafisi et al.<sup>66</sup> révèlent qu'un sable aux grains anguleux favorise la cohésion des grains bio-cimentés par rapport à un sable aux grains sphériques. Xiao et al.<sup>51</sup> renforcent cette observation en étudiant différentes proportions de particules angulaires

dans la composition du sable pour la bio-cimentation. Effectivement, lorsque la proportion de particules anguleuses augmente, les cristaux de  $\text{CaCO}_3$  sont plus efficaces, c'est-à-dire formant un pont entre deux grains, et précipités au niveau des contacts entre grains (« effective crystals », Figure 1- 7.a). Tandis que les cristaux sont précipités majoritairement au niveau de la surface des grains lorsqu'ils sont sphériques (Figure 1- 7.b). Du fait de l'augmentation du nombre de contacts inter-particulaires en présence de grains anguleux, la résistance à la compression des échantillons plus anguleux et bio-calcifiés est plus importante.

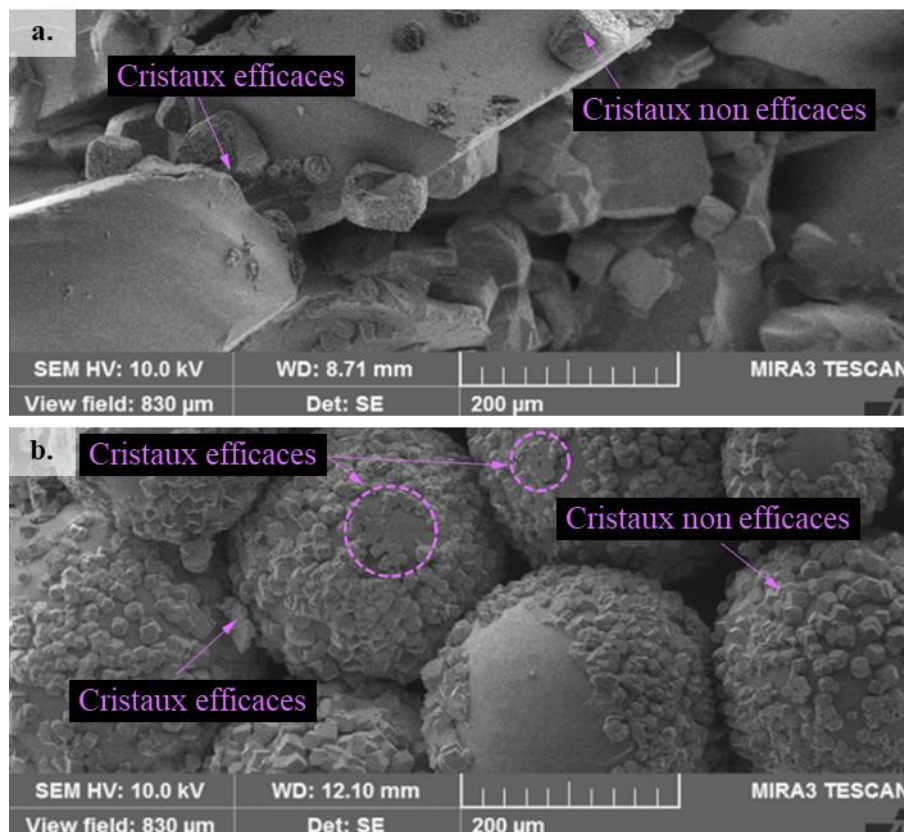


Figure 1- 7. Bio-cimentation d'un ensemble de grains a. anguleux et b. ronds. Modifié de Xiao et al. 2019<sup>51</sup>. Les « cristaux efficaces » participent à la formation de ponts entre grains. Les « cristaux non efficaces » sont localisés à la surface des grains.

Ainsi, si l'on a le choix du milieu granulaire à rendre cohésif, le paramètre important à optimiser est donc le nombre de contacts entre les grains<sup>37</sup>.

### 3.4. Méthodes d'injection

La technique employée pour injecter les bactéries et les différents réactifs a également son importance. Elle détermine la répartition des bactéries et donc la localisation de la précipitation. Plusieurs stratégies d'injection sont utilisées : la méthode d'injection classique, la méthode dite de pré-mélange et la méthode de percolation.

La méthode d'injection classique, la plus couramment employée pour la bio-cimentation d'un milieu granulaire, consiste à injecter directement les solutions de réactifs et de bactéries dans les milieux granulaires. Cependant, pour éviter que l'initiation de la précipitation se produise avant l'injection et provoque un colmatage des premiers pores pendant l'injection, les bactéries et les réactifs (urée, calcium) sont injectés séparément. On parle d'une injection en deux temps. Généralement, l'injection se fait du haut vers le bas pour se rapprocher des conditions d'application sur un sol. La majorité de études démontrent néanmoins une inhomogénéité de la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  dans les échantillons<sup>13,58,67,68</sup>.

La répartition des bactéries peut être contrôlée par la vitesse d'injection et l'ajout de sels pour fixer les cellules<sup>12,13</sup>. En effet, dans un échantillon de sable, la surface des grains est globalement chargée négativement par la présence de groupements silanol, tout comme la surface des cellules bactériennes. L'adsorption ou la fixation des bactéries sur ce type de surface est alors difficile du fait des effets répulsifs entre deux surfaces de même charge. Le sel permet d'écranter ces charges et de faciliter la fixation des cellules sur la surface des grains. Mais même avec une répartition uniforme des bactéries, la vitesse de réaction (rapide) fait que les réactifs sont consommés dès le début de l'injection<sup>12,13</sup>. Le liquide se décharge en réactifs à mesure qu'il avance dans l'échantillon, impliquant un maximum de précipitation localisé au niveau du point d'injection.

Pour ralentir l'initiation de la précipitation et permettre aux réactifs de diffuser dans tout l'échantillon, Cheng et al.<sup>69,70</sup> ont proposé une nouvelle méthode consistant à injecter le mélange des bactéries et des réactifs à un pH de 4. Le pH remonte progressivement grâce à la production d'ammonium lors de la réaction d'hydrolyse de l'urée menant à la précipitation. Cette méthode a mené à une précipitation plus homogène sur des échantillons de 1m de hauteur et presque homogène sur des échantillons de 2m de hauteur. Pour la même quantité de  $\text{CaCO}_3$  précipité (0,08g/g de sable), la résistance à la compression atteint une valeur entre 1,5 et 1,7 MPa contre 1,1 MPa avec la méthode à deux injections<sup>71</sup>.

Une autre méthode pour répartir les bactéries de façon uniforme est d'utiliser la méthode de pré-mélange<sup>39,45,72</sup>. Cela consiste à mélanger mécaniquement le milieu granulaire avec la suspension bactérienne avant d'introduire le mélange dans un moule et injecter la solution de cimentation. Les études montrent que cette technique permet de gagner en homogénéité<sup>58</sup> mais serait moins efficace par rapport aux autres méthodes. De plus, le mélange mécanique implique une perturbation du sol<sup>73</sup> qui le fragilise et rend la méthode inadaptée pour le renforcement d'anciennes structures<sup>38</sup>.

Pour injecter la solution de cimentation, Cheng et Cord-Ruwisch<sup>74</sup> ont exploité la méthode de percolation. C'est-à-dire qu'ils ont laissé la solution calcifiante (1 mol/l de  $\text{CaCl}_2$  et 1 mol/l d'urée) s'écouler uniquement par l'action de la gravité. De cette manière, ils ont procédé à la bio-cimentation dans des conditions saturées (en empêchant l'écoulement) mais aussi insaturées. La bio-cimentation est moins efficace dans les conditions insaturées mais plus homogène que dans les conditions saturées. Néanmoins, Cheng et al.<sup>19</sup> ont aussi étudié la méthode de percolation pour différents degrés de saturation liquide dans un milieu granulaire de sable (Figure 1- 8). Leurs résultats montrent une amélioration des performances mécaniques à faible saturation du volume poreux, entre 20 et 80%, et pour de faibles quantités de  $\text{CaCO}_3$  précipitées. À faible saturation en liquide, par la capillarité, le liquide se concentre à la surface des grains et au niveau des contacts entre les grains. Cela permet une distribution de la précipitation plus optimale.

De plus, Cheng et Cord-Ruwisch<sup>75</sup> ont travaillé à plus grande échelle (échantillons de 2m de hauteur) avec deux types de sables (fin et grossier). L'étude a montré que la méthode de percolation pouvait être efficace, avec une précipitation homogène, dans le sable grossier mais n'a pas du tout fonctionné avec le sable fin. Les auteurs expliquent ce résultat du fait de la perméabilité trop faible du sable fin, la précipitation n'ayant lieu qu'au niveau du point d'injection.

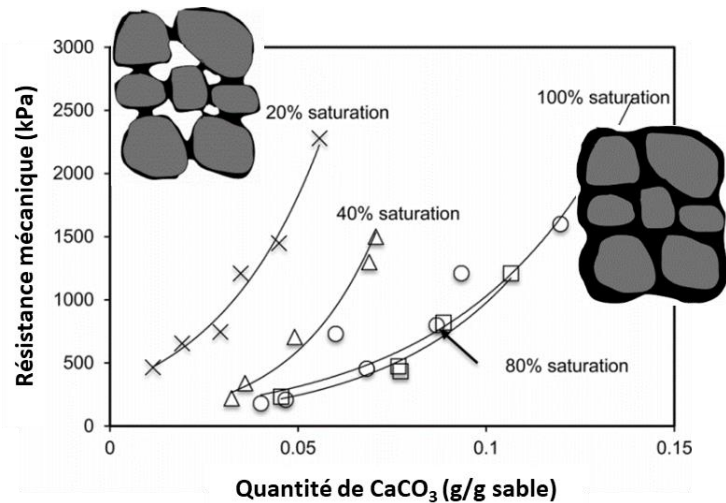


Figure 1- 8 Variation de la résistance mécanique en fonction de la quantité de  $\text{CaCO}_3$  précipité et différentes conditions de saturation d'un assemblage de sable. Modifié de Cheng 2012

### 3.5. Conclusions

De nombreuses études se sont penchées sur les paramètres affectant la calcification à partir de souches bactériennes uréolytiques. Les paramètres sont nombreux, ce qui rend le procédé complexe. Mais ces études mettent en évidence que l'efficacité de la bio-cimentation, en termes d'amélioration des propriétés mécaniques, est favorisée par une répartition homogène de la précipitation, avec un nombre important de contacts inter-particulaires et le développement de gros cristaux. Selon les paramètres discutés dans les précédents paragraphes, ces trois caractéristiques peuvent être obtenues de la façon suivante :

- Précipitation de gros cristaux : faible concentration en bactéries, température entre 20 et 37°C.
- Homogénéité de la bio-cimentation : faible concentration en calcium, ralentissement de la réaction.
- Nombreux contacts inter-particulaires et taille des pores : grains anguleux, sables fins.

La bio-cimentation dans des conditions de milieu insaturé est aussi intéressante pour augmenter l'efficacité du procédé. À 20% de saturation, il semble qu'il y ait toujours de la précipitation au niveau de la surface des grains (en plus des zones de contacts) qui n'est pas nécessaire pour l'amélioration des propriétés mécaniques. Travailler à une saturation inférieure à 20% pourrait aider à réduire encore la précipitation à la surface et rendre le procédé encore plus efficace. Pour atteindre ces faibles taux de saturation, les mousses liquides semblent représenter une solution pertinente. Avant de présenter quelques éléments sur les mousses liquides, il convient

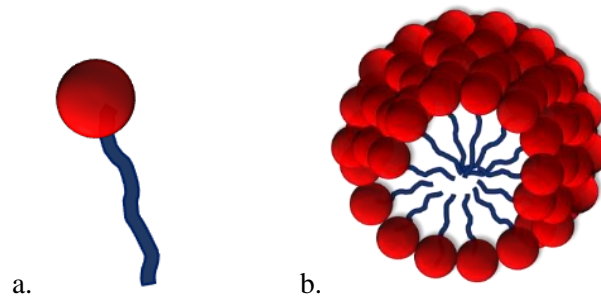
de s'attarder un peu sur les tensioactifs, qui sont nécessaires à la formation d'une mousse liquide stable.

## 4. Tensioactifs

### 4.1. Structure moléculaire et propriétés

Schématiquement, un tensioactif est une molécule composée d'une partie polaire hydrophile et d'une partie hydrophobe, comme le montre la Figure 1- 9.a. La longueur de(s) chaîne(s) alkyle(s) (hydrophobe) et la taille de la partie hydrophile définissent le comportement du tensioactif en phase aqueuse.

En milieu aqueux, ces molécules tendent à minimiser les contacts entre leurs chaînons hydrophobes et l'eau, ce qui entraîne un comportement propre aux tensioactifs : ils s'assemblent et s'organisent sous forme de micelles (Figure 1- 9.b). Ce phénomène nécessite d'atteindre une concentration minimale : la concentration micellaire critique (CMC).



*Figure 1- 9. a. Structure moléculaire d'une molécule de tensioactif : partie hydrophile en rouge et partie hydrophobe en bleu foncé ; b. Schéma d'une micelle formée par l'assemblage de plusieurs tensioactifs.*

Dans le cas où la concentration des tensioactifs est inférieure à la CMC, les molécules sont dites libres (en solution) et en équilibre thermodynamique avec d'autres situées à l'interface eau-air (le chaînon hydrophobe orienté hors de l'eau). Lorsque la concentration augmente, le nombre de tensioactifs à l'interface augmente jusqu'à la saturation. Une fois l'interface saturée, les

molécules sont forcées de s'assembler en micelles pour minimiser leur contact avec l'eau. La CMC est donc la concentration à laquelle les micelles commencent à se former.

Par ailleurs, l'adsorption de tensioactifs à l'interface induit une diminution de la tension de surface, l'énergie nécessaire pour stabiliser l'interface liquide-air. En dessous de la CMC, la tension de surface  $\gamma$  ( $\text{N.m}^{-1}$ ) est liée à la concentration  $c$  ( $\text{mol.l}^{-1}$ ) en tensioactifs par la relation de Gibbs<sup>76</sup> :

$$d\gamma = -\Gamma \times k_B \times T \times d(\ln c) \quad \text{Equation 1-6}$$

Avec  $\Gamma$  la concentration des tensioactifs à la surface ( $\text{mol.m}^{-2}$ ),  $k_B$  la constante de Boltzmann ( $\text{N.m.K}^{-1}$ ) et  $T$  la température (K).

Une fois la CMC atteinte, l'interface est saturée en tensioactif et la tension de surface ne varie plus. Pour une solution tensioactive sous la CMC il est possible de déterminer sa concentration  $\Gamma$  en mesurant la tension de surface.

#### 4.2. Interactions tensioactifs/bactéries

Généralement les tensioactifs sont utilisés pour des applications antibactériennes. Afin de choisir un tensioactif non antibactérien, il faut essayer de comprendre les interactions tensioactifs-bactéries qui conduisent à la mort du microorganisme.

Lorsqu'un micro-organisme évolue dans un environnement contenant des composés toxiques en quantité suffisante, la cellule bactérienne est soit lysée (mort de la bactérie), soit la cellule se met dans un état de dormance<sup>20</sup> : un état où les bactéries sont inactives, il n'y a alors plus de reproduction microbienne. Lorsque les bactéries se trouvent à nouveau dans un environnement favorable à leur développement, les cellules se « réveillent » et l'activité bactérienne reprend. Le terme d'activité bactérienne sous-entend tous les comportements des cellules vivantes, soit : la consommation de nutriment, la respiration, la croissance, etc...

Deux concentrations sont caractéristiques des produits chimiques vis-à-vis des bactéries : la concentration minimale inhibitrice (CMI), concentration à laquelle la croissance microbienne est inhibée et les cellules peuvent entrer dans l'état de dormance ; et la concentration minimale létale (CML), concentration à laquelle les cellules sont lysées. La CMI est toujours inférieure à la CML ou est parfois inexistante.



Dans le domaine de la microbiologie, certains composés naturels bactéricides sont présents chez les êtres vivants. L'ensemble des peptides antimicrobiens présentent un caractère amphiphile<sup>77,78</sup> et forment des pores ioniques au niveau de la membrane microbienne par interactions électrostatiques<sup>20</sup>. Ce processus altère la perméabilité membranaire conduisant à la lyse du microorganisme. Les bactériocines<sup>79,80</sup> sont des protéines toxiques qui forment également des pores transmembranaires par différents mécanismes et provoquent la lyse de la bactérie par la fuite du contenu intracellulaire. Dans le domaine agroalimentaire, les conservateurs alimentaires sont souvent des acides organiques<sup>20</sup> (par exemple : oxyde d'éthylène, sulfite, nitrite de sodium, formiate d'éthyle). Certains dénaturent les protéines cellulaires situées dans la membrane cytoplasmique et endommagent cette dernière. D'autres interfèrent avec le fonctionnement d'acides nucléiques et inhibent la reproduction cellulaire. Dans certains produits alimentaires, le simple fait de diminuer le pH peut suffire à avoir un effet antibactérien.

Les molécules appelées détergents sont utilisées pour solubiliser les protéines membranaires afin de les isoler pour les étudier ou bien pour les reconstituer dans une autre membrane. Leur capacité à solubiliser dépend des propriétés hydrophile-hydrophobe des tensioactifs et de leur capacité à s'auto-assembler. Par exemple, les molécules aux têtes très hydrophiles sont plus lentes à pénétrer et traverser une membrane lipidique.

Globalement, les molécules amphiphiles agissent sur les bactéries par une attaque de la membrane plasmique. Le processus le plus commun est la formation de pores transmembranaires induisant la lyse de la cellule devenue très perméable. Le caractère amphiphile des molécules favorise les interactions avec la membrane (composé de molécules amphiphiles), ainsi que le caractère bactéricide des molécules. Finalement, en fonction de la souche bactérienne utilisée et du tensioactif, les interactions tensioactifs/membrane peuvent être différents et surtout plus ou moins létales pour la cellule.

Les propriétés tensioactives (diminution de l'énergie de surface d'un liquide) de ces molécules permettent aussi de stabiliser des films liquides fins et ainsi de former des mousses liquides.

## 5. Les Mousses aqueuses

### 5.1. Structure d'une mousse, fraction liquide

Une mousse liquide est une dispersion dense de bulles de gaz dans un liquide contenant des tensioactifs (solution moussante). Sa structure est formée par un empilement de bulles d'air séparées par des zones de liquide : les canaux, appelés bords de Plateau, sont connectés entre eux par des nœuds et des films liquides (voir Figure 1- 10 et Figure 1- 11). La présence de tensioactifs avec une concentration supérieure à la CMC (saturation des interfaces) dans la solution moussante permet de stabiliser les films liquides en engendrant des forces de surface répulsives. Du fait de la grande quantité d'énergie interfaciale mise en jeu dans une mousse liquide, cette dernière est thermodynamiquement instable et évolue selon plusieurs mécanismes que nous détaillerons plus tard.

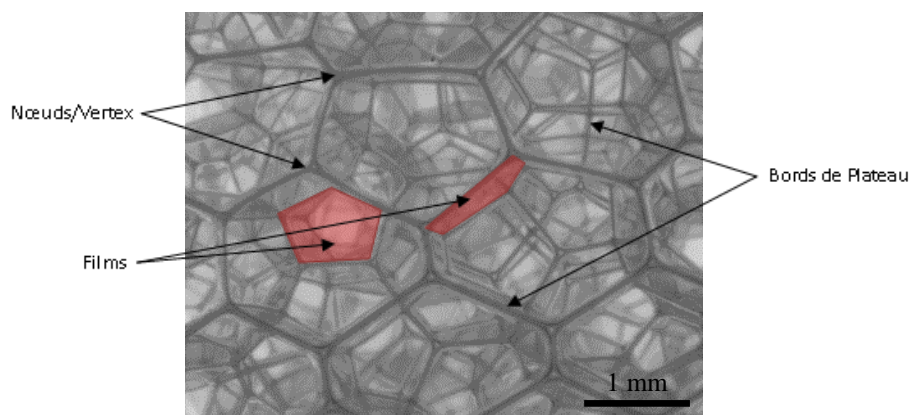


Figure 1- 10. *Eléments du réseau liquide de la mousse : les bords de Plateau, les nœuds (appelés aussi Vertex) et les films.*

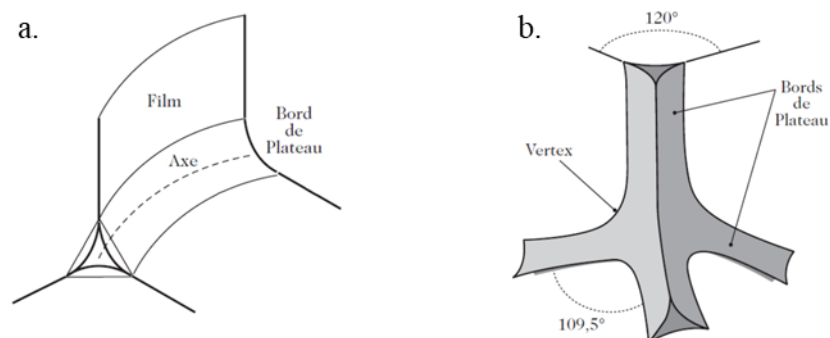


Figure 1- 11. *Eléments du réseau liquide de la mousse. a. Structure d'un bord de Plateau.*

*b. Structure d'un nœud. Modifié de Cantat et al. 2010<sup>76</sup>*

Les paramètres importants pour décrire une mousse monodisperse sont la taille des bulles (diamètre), notée  $D_b$ , et la fraction liquide  $\varepsilon$  qui correspond à la fraction volumique occupée par le liquide dans le volume de mousse.

## 5.2. Drainage et perméabilité

Le drainage dans une mousse est défini par l'écoulement du liquide à travers la microstructure de la mousse, c'est-à-dire entre les bulles. Sous l'effet de la gravité, le liquide est entraîné vers le bas alors que les bulles se déplacent vers le haut. Cela implique un assèchement du haut de la mousse tandis que le bas devient plus humide.

Ce mécanisme d'écoulement est plus ou moins rapide selon la valeur de la perméabilité  $k$  de la mousse vis-à-vis du liquide. Par exemple, lorsque la fraction liquide d'une mousse augmente, les bords de Plateau et les nœuds se dilatent et facilitent l'écoulement du liquide.

La vitesse d'écoulement peut être décrite par la loi de Darcy<sup>81</sup> :

$$\vec{v} = \frac{k(\varepsilon)}{\eta} (\rho \vec{g} + \vec{\nabla} P) \quad \text{Equation 1-7}$$

Cette vitesse dépend de la perméabilité  $k(\varepsilon)$  ( $\text{m}^2$ ) et du gradient de pression capillaire  $\vec{\nabla} P$  (Pa), qui rend compte de la pression exercée entre les bulles en contact, ainsi que de l'effet de la gravité ( $\vec{g}$  est l'accélération de la pesanteur ( $9,81 \text{ m.s}^{-2}$ ), et  $\rho$  la masse volumique du liquide ( $10^3 \text{ kg.m}^{-3}$ )),  $\eta$  ( $10^{-3} \text{ Pa.s}$ ) correspond à la viscosité en volume. Ainsi, pour une mousse de fraction initiale uniforme, le liquide s'écoule vers le bas sous l'effet des forces de gravité jusqu'à ce que les gradients de pression capillaire s'y opposent.

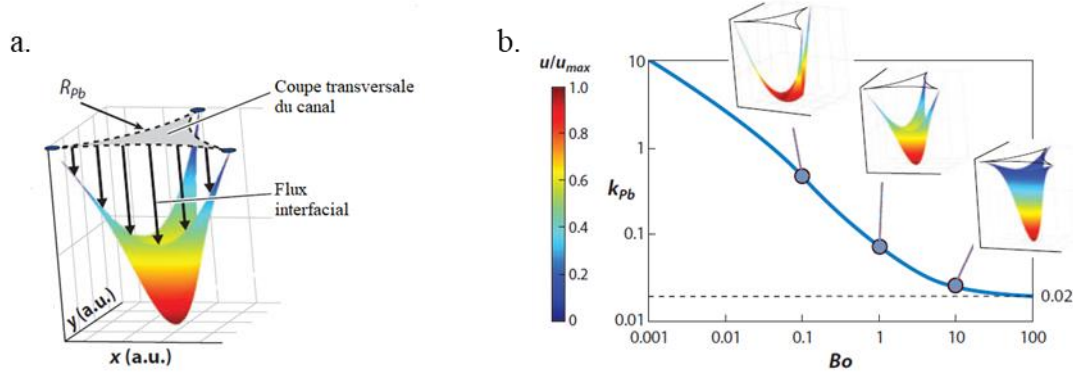


Figure 1- 12. *Écoulement liquide dans un bord de Plateau. a. Tracé d’une section illustrant le champ de vitesse du liquide dans un bord de Plateau infiniment long. Indiqué par les flèches, la section du bord de Plateau est entraînée par l’écoulement de liquide sauf aux trois coins où les films se rejoignent. b. Dépendance de la perméabilité  $k_{pb}$  adimensionnée du bord de Plateau en fonction du nombre de Boussinesq. Modifié de Cohen-Addad et al. 2013<sup>82</sup>.*

De plus, la perméabilité dépend de la mobilité des interfaces. La Figure 1- 12 illustre cet effet et montre l’évolution de la perméabilité d’un bord de Plateau de mousse liquide en fonction du nombre de Boussinesq ( $Bo = \eta_s/\eta R_{pb}$ ) qui dépend de la viscosité de cisaillement de surface  $\eta_s$  (Pa.s.m), de la viscosité de volume  $\eta$  (Pa.s) et du rayon de courbure d’un bord de Plateau  $R_{pb}$  (m) (Figure 1- 12). Ce paramètre permet de quantifier les dissipations visqueuses en surface (du fait de l’existence d’une viscosité de surface) et en volume. Dans le cas d’un bord de Plateau, deux limites<sup>82</sup> peuvent se comprendre aisément :

- Pour  $Bo \gg 1$ , les interfaces sont globalement immobiles malgré les contraintes visqueuses générées par l’écoulement dans le bord de Plateau. En retour, l’écoulement de liquide est donc fortement freiné par les parois et la perméabilité du bord de Plateau, et donc de la mousse, est relativement faible.
- Pour  $Bo \ll 1$ , les interfaces sont beaucoup plus mobiles, entraînées par l’écoulement de volume, ce qui engendre une augmentation de la perméabilité de la mousse.

Dans l’article de Rouyer et al.<sup>83</sup>, la perméabilité d’une mousse monodisperse est décrite selon ces deux mêmes limites par les équations suivantes, sur une très grande gamme de fraction liquide (Figure 1- 13) :

- Pour une mousse aux interfaces mobiles :

$$\frac{k_f}{D_b^2} = \frac{\varepsilon^{3/2}}{1248(1 - 2,7\varepsilon + 1,2\varepsilon^2)^2}$$

Equation 1- 8

- Pour une mousse aux interfaces rigides :

$$\frac{k_f}{D_b^2} = \frac{\varepsilon^2}{1700(1 - 2,15\varepsilon + 1,37\varepsilon^2)^2} \quad \text{Equation 1- 9}$$

Ces expressions tiennent donc compte de la capacité des interfaces chargées de tensioactifs à être mises en mouvement ou à résister à la contrainte visqueuse de l'écoulement du liquide entre les bulles.

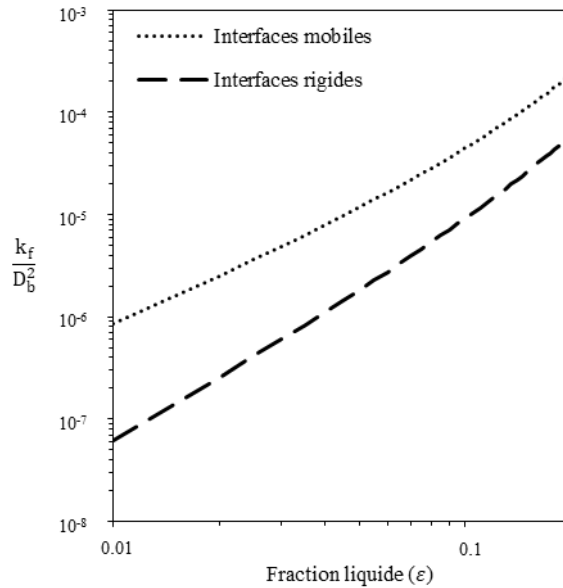


Figure 1- 13. Perméabilité adimensionnée par le carré de la taille des bulles en fonction de la fraction liquide pour des mousses au interfaces mobiles (courbe en pointillé) et des mousses aux interfaces rigides (courbe en trait) d'après les Equation 1- 8 et Equation 1- 9<sup>83</sup>.

La méthode classique pour mesurer la perméabilité d'une mousse est la méthode dite de drainage forcée<sup>76</sup>. Il s'agit d'introduire le liquide par le haut d'une mousse en imposant le débit d'injection  $q_i$ . En supposant que la fraction liquide initiale est relativement uniforme et vaut  $\varepsilon_0$ , on va donc avoir à partir du haut une augmentation de la fraction liquide dans la mousse qui va progresser vers le bas sous la forme d'un front liquide (Figure 2- 19) visible à l'œil nu, se déplaçant à la vitesse  $v_f$ . Derrière ce front, la fraction liquide  $\varepsilon (> \varepsilon_0)$  est quasi constante. Dans cette zone, il n'y a donc pas de gradient de pression osmotique. Ainsi, le liquide s'écoule sous l'effet de la gravité uniquement. Dès lors, la loi de Darcy (1) prend la forme suivante :

$$\frac{q_i}{S} = \frac{k_{f0}}{\mu} \rho g \quad \text{Equation 1- 10}$$

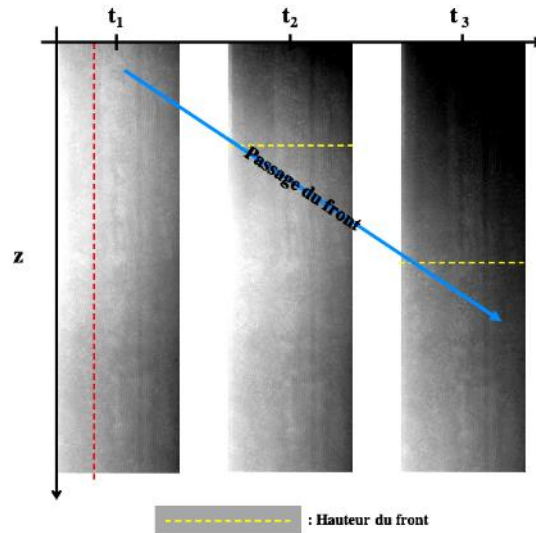


Figure 1- 14. Images d'une colonne de mousse (Glucopon) observée par transmission de lumière lors du passage du front de drainage.

On détermine la fraction liquide  $\varepsilon$  de la mousse située derrière le front par conservation du volume de liquide ( $\varepsilon_0$  étant celle avant le passage du front) :  $v_f(\varepsilon - \varepsilon_0) = q_i/S$ . Ainsi, la mesure de  $v_f$  fournit la fraction liquide :

$$\varepsilon = \varepsilon_0 + \frac{q_i}{Sv_f} \quad \text{Equation 1- 11}$$

Une fois déterminées la perméabilité de la mousse  $k_{f0}$  et la fraction liquide associée pour des débits  $q_i$  différents, ces données peuvent être tracées comme le présente la Figure 1- 13.

### 5.3. Vieillessement d'une mousse liquide

Au cours du temps, une mousse liquide est soumise au drainage gravitaire, mais aussi à deux autres mécanismes : la coalescence et le murissement.<sup>84</sup>

La coalescence est le phénomène conduisant à la rupture des films séparant deux bulles voisines. Ceci survient lorsque les films sont trop asséchés (ce qui est favorisé par le drainage) et surtout lorsque les tensioactifs utilisés ne sont pas assez efficaces.

Le murissement de la mousse correspond à des échanges gazeux entre les bulles dus aux différences de pression entre celles-ci<sup>85</sup>. Après un éventuel régime transitoire dû à la distribution

initiale des bulles de la mousse, les bulles les plus petites se vident jusqu'à leur disparition dans les bulles plus grosses qu'elles, et ainsi de suite. Cela implique une augmentation de la taille moyenne des bulles. Le régime de ce phénomène est dit *auto-similaire* car même si la taille moyenne des bulles augmente, la distribution réduite des tailles, quant à elle, ne varie plus. La solubilité du gaz dans le liquide et l'épaisseur du film sont les deux principaux ingrédients du murissement de la mousse. Plus le gaz est soluble dans le liquide, plus les échanges gazeux sont rapides. Par exemple, le dioxygène est très soluble dans l'eau par rapport à l'azote. Les échanges gazeux sont aussi plus rapides lorsque l'épaisseur de film est petite. Pour des mousses standards en termes de fraction liquide, c'est-à-dire  $\varepsilon \lesssim 30\%$ , on peut décrire comme suit l'augmentation du rayon moyen avec l'âge de la mousse<sup>76,86</sup> :  $\langle R(t) \rangle \propto t^{1/2}$ . Lorsque la quantité de liquide augmente au-delà de 35-40%, le murissement suit un autre régime : le murissement d'Ostwald. Dans ce cas, la taille moyenne des bulles évolue en  $\langle R(t) \rangle \propto t^{1/3}$ .<sup>76</sup>

## 6. Les mousses dans les milieux poreux

### 6.1. Perméabilité

En présence de liquide dans un milieu poreux, il est habituel de décrire les flux des phases liquides et gazeuses en termes de perméabilités relatives, c'est-à-dire :  $k_{rel} = k_D/k_{D(\varepsilon=1)}$ , où  $k_{D(\varepsilon=1)}$  est la perméabilité du milieu totalement saturé. L'expression de Carman-Kozeny<sup>87,88</sup> permet de décrire le cas d'un milieu totalement saturé :

$$k_{D(\varepsilon=1)} = \frac{p^3 D_g^2}{180 (1-p)^2} \quad \text{Equation 1- 12}$$

De la même façon, la perméabilité d'un milieu poreux rempli de mousse peut être exprimée en termes de perméabilité relative qui peut être corrélée au modèle de perméabilité relative de type Corey décrit par la relation suivante<sup>89</sup> :

$$k_{rel} = k_{rel}^0 \left( \frac{S_w - S_{wc}}{1 - S_{wc} - S_{gr}} \right)^{n_w} \quad \text{Equation 1- 13}$$

Avec la perméabilité relative au point final de la phase considérée  $k_{rel}^0$ , la saturation en gaz résiduel  $S_{gr}$ , la saturation en eau  $S_w$  et la saturation en eau irréductible  $S_{wc}$  et ainsi que l'exposant de Corey  $n_w$ .

Dans un travail pionnier, Bernard et al.<sup>90</sup> ont étudié l'effet de la présence de mousse sur la perméabilité des milieux poreux à l'eau. Ils ont introduit parallèlement une solution savonneuse et de l'air afin d'obtenir des fractions liquide (saturations) allant de 80 à 20% du volume poreux. D'après leurs observations, la perméabilité au liquide est une fonction unique et croissante de la saturation en liquide. En particulier, la présence de tensioactif, donc de mousse, ne semble pas modifier la perméabilité relative du liquide (eau) par rapport au cas de référence, pour lequel la solution ne contient pas de tensioactif. En d'autres termes, la perméabilité au liquide est la même en présence ou en l'absence de films de mousse. Ce résultat, qui est actuellement utilisé comme hypothèse de base dans les modèles pour les mousses à travers les milieux poreux, a été renforcé récemment par Eftekhari & Farajzadeh<sup>89</sup>. Ces derniers parviennent à ajuster les paramètres du modèle de Corey (Equation 1- 13) afin de faire correspondre une unique courbe avec les données expérimentales de perméabilité relative  $k_{rel}$  déterminées en présence et en l'absence de tensioactifs (Figure 1- 15).

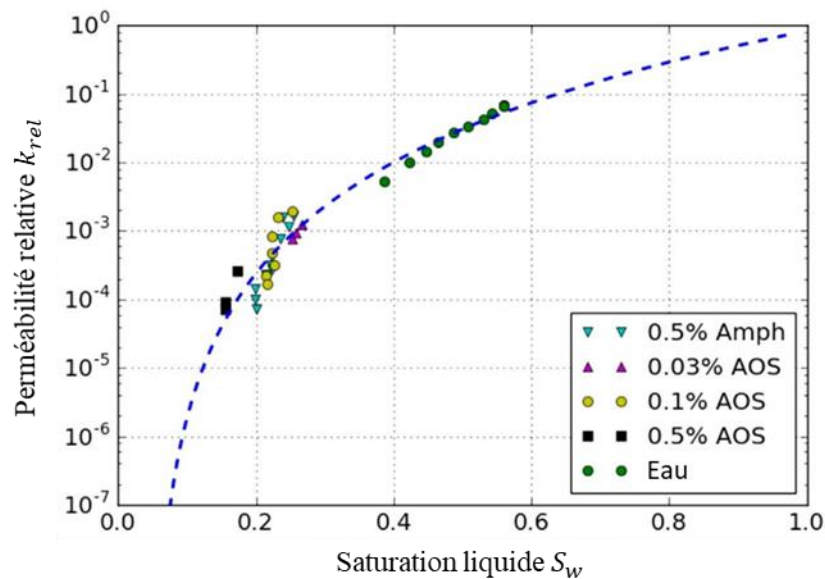


Figure 1- 15. Perméabilité relative aux liquides en l'absence et en présence des tensioactifs sodium C14-16 olefin sulfonate (AOS) à différentes concentrations et Capryl/Capramidopropyl Betaine (Amphosol) dans un milieu granulaire (grès de Bentheimer). La courbe pointillée représente le modèle de Corey dont les paramètres sont ajustés tels que :  $k_{rel}^0 = 0,720$ ,  $S_{gr} = 0,03$ ,  $S_{wc} = 0,05$  et  $n_w = 4,423$ . Modifié de Eftekhari et Frajzadeh<sup>89</sup>.



## 6.2. Murissement

Toutes les études expérimentales jusqu'à aujourd'hui sur le murissement d'une mousse en milieu poreux ont été effectuées sur des systèmes modèles 2D ou quasi-2D de milieux poreux<sup>84,91-93</sup>.

Néanmoins, les différentes études montrent que le murissement évolue en 3 phases différentes en fonction du volume d'une bulle par rapport au volume d'un pore (Figure 1- 16) :

- Lorsque  $V_{bulle} \ll V_{pore}$  (Figure 1- 16(a)) : la mousse se comporte comme dans un système ouvert, on est dans le régime auto-similaire<sup>93</sup>
- Lorsque  $V_{bulle} < V_{pore}$  (Figure 1- 16(b)) : les bulles sont toutes en contact avec la paroi des pores, le murissement ralenti par l'effet des parois<sup>91</sup>
- Lorsque  $V_{bulle} \approx V_{pore}$  (Figure 1- 16(c)) : Xu et al.<sup>92</sup> montrent que les grosses bulles sont déformées et se vident dans les plus petites (à l'inverse du murissement dans un système ouvert) jusqu'à l'obtention de bulles monodisperses, phénomène appelé anti-murissement.

In fine, le murissement s'arrête. La taille des bulles est contrainte par la taille des pores, leur taille ne varie plus<sup>93</sup>. On s'attend à retrouver le même phénomène dans nos systèmes de mousses confinées.

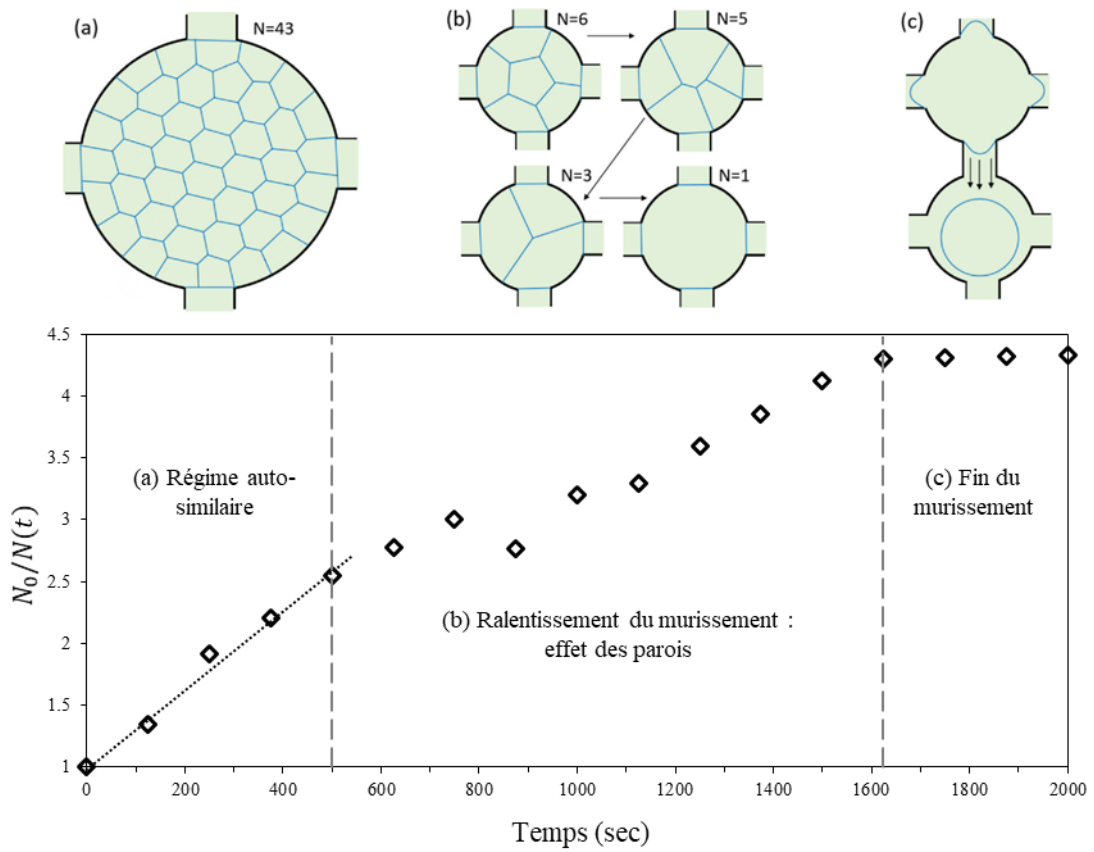


Figure 1- 16. Rapport entre le nombre initial de bulles,  $N_0$ , et le nombre de bulles à l'instant  $t$  en fonction du temps. Ce rapport de nombre de bulles suit une évolution selon les trois régimes de murissement : (a) régime auto-similaire, (b) ralentissement du murissement par les effets de parois, (c) Fin du murissement et phénomène d'« anti-murissement », modifié de Jones et al. 2018<sup>93</sup>. Les schémas, modifiés de Yu et Kanj 2022<sup>91</sup>, au-dessus du graphe représentent l'état du nombre de bulles dans un pore associés aux différents régimes.



## **Chapitre 2 : Matériaux et Méthodes**

Ce chapitre est consacré à définir les produits chimiques et microbiologiques ainsi que les techniques expérimentales physiques, chimiques et microbiologiques utilisées.

## 1. Microbiologie

### 1.1. Souches calcifiantes

Une multitude de souches sont capables d'induire la précipitation de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ). Ce processus peut avoir lieu via différentes voies métaboliques (cf Généralités). Dans cette thèse, nous nous intéressons à (1) l'hydrolyse de l'urée et (2) la conversion métabolique des matières organiques par la respiration bactérienne. Nous souhaitons pouvoir travailler avec ces deux voies métaboliques afin de déterminer si l'une est plus propice que l'autre au développement de bio-précipitation dans une mousse.

L'hydrolyse de l'urée est un mécanisme largement décrit dans la littérature et les souches les plus étudiées sont du genre *Bacillus*, dont *Sporosarcina pasteurii* (anciennement *Bacillus pasteurii*)<sup>13</sup>, *Bacillus sphaericus*<sup>19</sup>, *Bacillus subtilis*<sup>94</sup>, etc. La souche *Sporosarcina pasteurii* est décrite comme l'une des souches les plus efficaces pour la précipitation de carbonate grâce à sa forte activité uréolytique<sup>58</sup>.

Les mécanismes impliquant la respiration bactérienne sont beaucoup moins détaillés dans la littérature, mais certaines souches sont connues pour utiliser cette voie, comme les souches *Bacillus halodurans*<sup>95</sup>, *Bacillus pseudofirmus*<sup>96</sup> et *Bacillus cohnii*<sup>96</sup>, etc. Les travaux de thèse de Heriberto Martinez<sup>4</sup> en 2021 ont permis d'isoler une souche à partir du microbiote prélevé à la surface de gravillons de béton recyclés carbonatés. Cette souche, appelée A2-3, s'apparente à *Bacillus haynesii*, une bactérie Gram positif non pathogène. Il a été montré que cette souche est capable de précipiter du  $\text{CaCO}_3$  sur de la gélose nutritive et sur la surface de matériaux cimentaires, en présence d'acétate de calcium (AcCa) qui lui sert à la fois de source de  $\text{Ca}^{2+}$  et de sel organique pour la conversion métabolique en  $\text{CO}_2$  puis  $\text{CO}_3^{2-}$ .

Parmi les souches uréolytiques, les souches *S. pasteurii* (DSMZ 33), *B. sphaericus* (DSMZ 28) et *B. subtilis* (DSMZ 10) ont été retenues et fournies par l'institut Leibniz DSMZ (Collection allemande de Micro-organismes et cultures cellulaires). Pour la souche non-uréolytique, la souche A2-3, provenant du laboratoire Comportement Physico-Chimique et Durabilité des

Matériaux (MAST/CPDM), est retenue. Toutes ces bactéries sont aérobies. Ainsi, leur développement et/ou leur subsistance nécessitera la présence d'oxygène. Ce caractère nous conduit à privilégier le dioxygène pour la génération des mousses, notamment dans le cas où les bactéries devraient être en contact prolongé avec la mousse.

## 1.2. Mise en culture des souches bactériennes

Les milieux de culture pour les souches *S. pasteurii*, *B. sphaericus* et *B. subtilis* ont été sélectionnés suite aux recommandations du fournisseur, l'institut Leibniz DSMZ. Le milieu de culture utilisé pour la souche A2-3 a été choisi par rapport au protocole de culture défini précédemment par Heriberto Martinez<sup>4</sup>. Les trois milieux de culture utilisés pour la culture bactérienne sont répertoriés dans le Tableau 2- 1.

Les souches *B. sphaericus* et *B. subtilis* sont cultivées dans un mélange de peptone (Merck) à 5 g/l et d'extrait de viande (Merck) à 3 g/l, dont le pH est ajusté à 7 avec quelques gouttes de NaOH à 5 mol/l. La souche *S. pasteurii* est cultivée dans du Bouillon Nutritif (BN) ou dans un mélange de bouillon CASO de chez Merck Millipore à 30 g/l et d'urée à 20 g/l. Le bouillon « CASO broth » est composé de peptones et de tryptones. La souche A2-3 est cultivée dans le Bouillon Nutritif (BN) « FDA-BAM » de chez Merck Millipore, composé d'enzymes et d'extrait de viande. La solution de BN est toujours préparée à 8g/l avec un pH de 8 (initialement  $6,8 \pm 0,2$  à 25°C) ajusté à l'aide de quelques gouttes de NaOH à 5 mol/l.

Pour préparer les milieux de culture, les solutions sont stérilisées par autoclavage à 121°C pendant 15 min avec une pression de 1 bar au-dessus de la pression atmosphérique. Pour le milieu CASO-urée, l'urée est préparée et stérilisée à part, par filtration ( $\emptyset$  0,20 $\mu$ m), car les molécules d'urée se dégradent à 121°C. L'urée stérile est ensuite ajoutée à la préparation du bouillon CASO pré-stérilisé.

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre (Mettler Toledo EL2 / 1232075516).

La conservation des souches s'effectue par congélation de suspensions mères. Dans un premier temps, les suspensions mères sont centrifugées dans des tubes Falcon® stériles pendant 12 minutes à 3000g. Puis en conditions stériles, le surnageant est remplacé par un mélange constitué du milieu de culture correspondant à la souche et de 20% en masse de glycérol. Enfin, les solutions sont congelées à -30°C.

Dans le cadre du dénombrement des bactéries sur milieu gélosé, 15g/L d'agar sont ajoutés pendant la préparation des milieux nutritifs avant stérilisation. La solution gélosée est coulée dans des boîtes de Petri stériles.

*Tableau 2- 1. Souches bactériennes et leur milieu de culture*

Souches	Milieux de culture	pH
<i>Bacillus sphaericus</i> DSMZ 28	Peptone (5g/l), extrait de viande (3g/l)	Ajusté à 7 avec du NaOH
<i>Bacillus subtilis</i> DSMZ 10		
<i>Sporosarcina pasteurii</i> DSMZ 33	Bouillon Nutritif (8g/l)	Ajusté à 8 avec du NaOH
	CASO (30g/l), urée (20g/l)	pH 6
A2-3	Bouillon Nutritif (8g/l)	Ajusté à 8 avec du NaOH

Pour cultiver les souches, on procède à un repiquage, c'est-à-dire que 500µl de suspension mère sont prélevés afin d'inoculer 50ml de milieu de culture neuf dans un erlenmeyer de 250ml afin d'avoir une quantité suffisante de dioxygène (4/5<sup>e</sup> du contenant) disponible pour les bactéries. Les souches sont repiquées systématiquement toutes les 48h à 72h, de sorte que lorsqu'une suspension bactérienne est utilisée pour une expérience, les bactéries sont toujours âgées de 48h. La température d'incubation des bactéries est de 30°C avec une agitation de 60 rpm. Tous les deux mois, la culture est renouvelée en repartant d'une nouvelle souche congelée.

### 1.3. Dénombrement

#### 1.3.1. Dénombrement sur milieu gélosé

Pour connaître la quantité de bactéries dans un milieu, on peut utiliser la méthode de dénombrement sur gélose. Pour cela, il s'agit de diluer la suspension mère de bactéries pour diluer le nombre de bactéries. Chacune des bactéries donnera lieu à la formation d'une colonie sur la gélose qu'il sera possible de dénombrer à l'œil. En milieu stérile, on réalise donc des dilutions en cascade au 10<sup>ième</sup> comme illustré sur la Figure 2- 1.

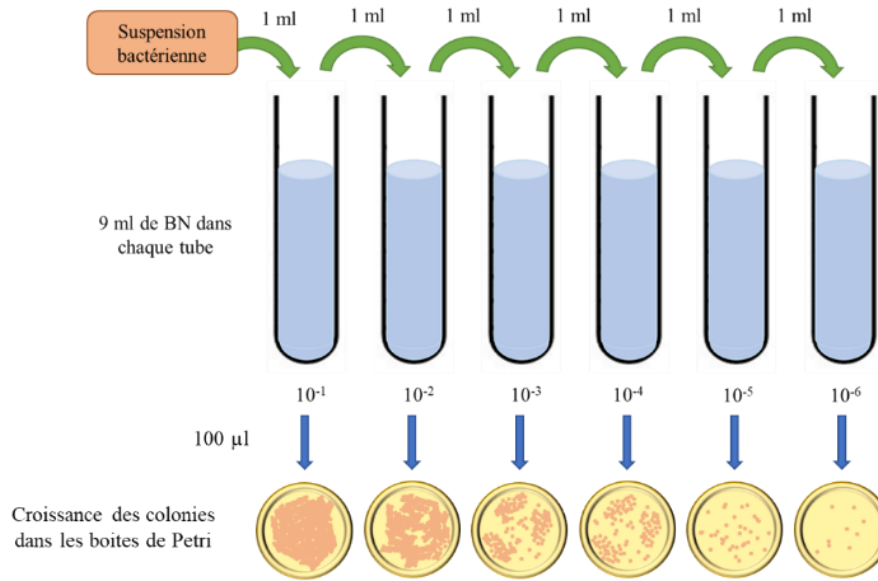


Figure 2- 1. Schéma du procédé expérimental employé pour la méthode des dilutions successives. Les étapes de dilution permettent de parvenir à une concentration telle que les colonies de bactéries soient dénombrables et séparées (au plus quelques centaines par boîte). Cette méthode suppose que chaque colonie provient du développement d'une seule bactérie.

Une fois les dilutions réalisées, un volume de  $V=0,1$  ml est prélevé de chaque tube et étalé sur un fond de gélose dans des boîtes de Petri différentes. Ces boîtes sont conservées dans une étuve à 30 °C pendant 24 à 48h pour permettre à chaque bactérie présente dans la solution déposée de développer une colonie. En comptant ces colonies dans chaque boîte par exemple  $N_i$  colonies dans la boîte de dilution  $10^i$ , on détermine la concentration de bactéries (en Unité Formant Colonie/ml, soit UFC/ml) en moyennant les valeurs sur plusieurs boîtes, comme l'indique l'Equation 2- 1. Notons que seules les boîtes dans lesquelles le nombre de bactéries (colonies) dénombrées se trouve en 30 et 300 UFC ( $30 < N_i < 300$ ) sont considérées pour ce calcul, soit un nombre  $n_b$  de boîtes compris entre x et y typiquement :

$$C = \frac{1}{n_b \times V} \sum_i 10^i N_i \text{ (UFC/ml)} \quad \text{Equation 2- 1}$$

### 1.3.2. Densité optique

La densité optique (DO), ou absorbance, est une grandeur adimensionnelle qui correspond à la capacité de l'échantillon à absorber la lumière qui le traverse. Elle est définie par la relation



$DO = -\log(I/I_0)$  où  $I_0$  est l'intensité du rayon lumineux reçu par l'échantillon et  $I$  est l'intensité du rayon lumineux transmis.

La mesure de la DO d'une culture bactérienne est pertinente car le développement des bactéries dans le milieu implique que la solution devienne trouble et absorbe de plus en plus la lumière. À partir d'une concentration d'environ  $10^6$  bactéries/ml, la DO d'une suspension bactérienne est proportionnelle à la concentration en bactéries. Lorsque la concentration est trop importante, le capteur sature (pour  $DO > 1,5$ ) et on perd la proportionnalité. Néanmoins cette technique permet d'avoir une information rapide sur la quantité de bactéries dans le milieu. Pour les fortes concentrations, nous garderons en tête que la valeur est sous-estimée. De plus, la mesure de DO peut être diminuée en raison d'inhomogénéités présentes dans la suspension (sédimentation, agrégation des bactéries, ...). Il faut donc s'assurer que la suspension soit bien homogène lors de la mesure.

La DO des cultures bactériennes est mesurée à l'aide du spectrophotomètre Thermo Scientific Multiskan SkyHigh UV/Vis. La longueur d'onde standard pour la mesure de densité optique en microbiologie est 600nm, longueur d'onde dans le domaine du visible et pour laquelle les composés cellulaires absorbent le moins la lumière.

Pour faire correspondre la densité optique à une concentration bactérienne, on peut combiner la méthode avec un étalonnage par dénombrement sur gélose.

#### 1.4. Suivi du comportement bactérien au cours du temps ...

##### 1.4.1. ... par mesure de pression

Comme les souches bactériennes utilisées dans ces travaux sont des souches aérobies, le suivi de la consommation en oxygène donne une information sur l'activité globale des bactéries et/ou sur la croissance bactérienne. Cette mesure de la demande biochimique en oxygène (DBO) est couramment utilisée pour évaluer le niveau de pollution organique des eaux.

L'appareil de mesure OxiTop® - I permet de suivre ce paramètre pendant plusieurs jours de façon cumulative. La Figure 2- 2 représente une partie du dispositif. Les échantillons à analyser sont introduits dans des bouteilles équipées de têtes de mesure OxiTop® - I permettant de mesurer la baisse de pression induite par la consommation en oxygène. Pour que la mesure de pression reflète la consommation en oxygène, le CO<sub>2</sub> pouvant être produit par l'activité bactérienne est absorbé par des granules de KOH placés dans un réservoir en caoutchouc (voir Figure 2- 2).

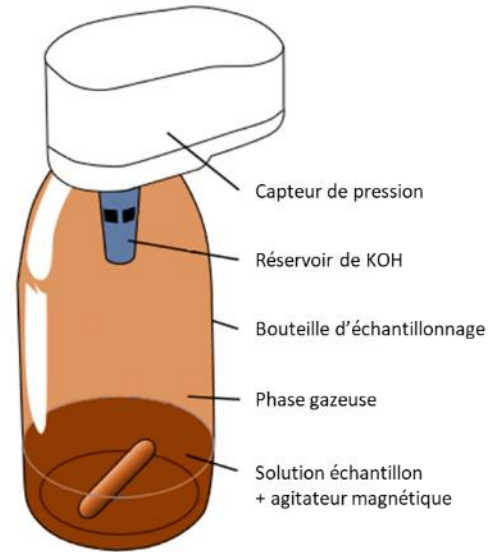


Figure 2- 2. OxiTop® - I

L'ensemble des bouteilles équipées, notamment avec des barreaux aimantés, est placé sur une plaque d'agitation dans une étuve. La mesure s'effectue sous agitation à une température de 30°C.

Dans ce dispositif expérimental, la variation de pression dépend de la quantité d'oxygène consommée et du volume de gaz contenu dans la bouteille. Ainsi, compte tenu de la gamme d'utilisation optimale du capteur de pression, il est nécessaire d'estimer l'ordre de grandeur de la quantité d'oxygène qui sera consommée par les bactéries afin de choisir le volume de gaz qui permettra la mesure la plus précise de la DBO. L'estimation de la DBO repose sur la mesure de la Demande Chimique en Oxygène (DCO) qui correspond à la quantité maximale d'oxygène consommable compte tenu de la matière oxydable présente dans l'échantillon. Les bactéries n'étant pas capable de tout oxyder, on estime généralement que la valeur maximale de DBO peut atteindre 50% de la valeur de DCO.

Les valeurs de DCO sont mesurées à l'aide du photomètre Spectroquant® Nova 60 en préparant les échantillons à partir des cellules de test « COD Cell Test », de la marque Supelco® chez Sigma-Aldrich, dont la plage de mesure est 25 – 1500 mg/l. Les échantillons, dont la composition est dans les mêmes proportions que les échantillons pour la DBO mais rapportées pour un volume de 1 ml (indiquée dans le Tableau 2- 2), sont introduits dans les cellules avec un volume de 3ml, puis chauffés pendant 2h à 148°C. Après 10min de refroidissement, les cellules sont agitées puis laissées à refroidir encore pendant 30min à température ambiante. Ensuite, les cellules sont placées dans le photomètre qui détermine la valeur de DCO à partir de la densité optique (DO) mesurée. Pour « viser » la plage de mesure de 25 – 1500 mg/l, il est

possible de diluer les échantillons avant le traitement thermique. Les valeurs de DCO obtenues sont répertoriées dans le Tableau 2- 3.

*Tableau 2- 2. Volumes des éléments eau ultrapure, Bouillon Nutritif (BN), tensioactif (TA) et inoculum composant le mélange pour les mesures de DBO. L'inoculum est cultivé pendant 48h dans le BN à une température de 30°C avant utilisation.  $C_m$  = concentration de la solution mère*

	Préparation des échantillons pour la mesure de DCO		Préparation des échantillons pour la mesure de DBO	
	Volumes pour le Témoin (ml)	Volumes en présence de tensioactif (ml)	Volumes pour le Témoin (ml)	Volumes en présence de tensioactif (ml)
H <sub>2</sub> O ultrapure	0.866	0.816	19,664	18,529
BN pH8	0.111	0.111	2,514	2,514
TA ( $C_m = 20\text{CMC}$ )	/	0.050	/	1,135
Inoculum	0,023	0,023	0,522	0,522
<b>Volume total</b>	<b>1 ml</b>		<b>22,7 ml</b>	

*Tableau 2- 3. Valeurs de DCO pour chaque échantillon contenant l'eau, le BN pH8 et un tensioactif à la concentration 1CMC. Les proportions sont les mêmes qu'indiqués dans le Tableau 2- 2.*

Conditions	Témoin	Saponine	C8G	C8M	C10M	C12M	C10G	Glucopon
DCO (mg/L)	1200	4507	7144	7028	2704	1822	2384	1712
50% DCO	600	2253,5	3572	3514	1352	911	1192	856

D'après le Tableau 2- 3, on peut donc estimer que les valeurs de DBO auront pour valeur maximale environ 3500 mg/L, tous échantillons confondus. D'après le mode d'emploi des OxiTop® - I, le volume d'échantillon pour une plage de mesure de 0 à 4000 mg/L est de 22,7ml. Les bouteilles de DBO sont préparées avec les volumes d'eau ultrapure, de Bouillon Nutritif (BN) à pH8, de tensioactif (TA) et d'inoculum âgé de 48h indiqués dans le Tableau 2- 2.

Dans ce travail de thèse, des suivis de la consommation en oxygène ont été effectués en milieu liquide contenant les bactéries et les tensioactifs à tester. Pour ces mesures, la concentration des tensioactifs a été fixée à leur concentration micellaire critique (1CMC). Les valeurs de CMC sont données dans le paragraphe 4.2. Par ailleurs, le pH et la quantité de bactéries (en UFC/ml) de chaque échantillon sont mesurés en début et en fin de mesure de DBO. Le bouillon BN est

utilisé pour ces mesures, quelle que soit la souche testée. Les solutions de tensioactifs sont filtrées à 0,20µm.

#### 1.4.2. ... par densité optique

Le spectrophotomètre d'absorbance Thermo Scientific Multiskan SkyHigh permet la mesure de DO sur des microplaques à 96 puits (Figure 2- 3) toutes les 20 minutes et sur une durée de 6 jours, de sorte à avoir le type de courbe représenté dans la Figure 2- 4.

Les microplaques utilisées sont stériles. Le volume d'un puits est égal à 200µl. Les mesures de DO sont réalisées toutes les 20 minutes à une longueur d'onde de 600nm.

De plus, avant chaque mesure de DO, la microplaque est agitée pendant 5 secondes pour s'assurer de l'homogénéité des suspensions homogènes.

Les résultats correspondant au blanc, au témoin et aux conditions expérimentales sont moyennés sur 8 mesures. Un exemple typique des courbes obtenues est donné sur la Figure 2- 4. On peut en extraire diverses informations : le temps de latence ( $T_{p\text{latence}}$ ), la vitesse de croissance ( $V$ ) et la densité optique maximale ( $DO_{\text{max}}$ ). Par la suite, la vitesse de croissance sera adimensionnée par la vitesse de croissance du Témoin ( $1/100^\circ$ ) :  $V^* = V/V_{\text{témoin}}$ .



*Figure 2- 3. Microplaque de 96 puits*

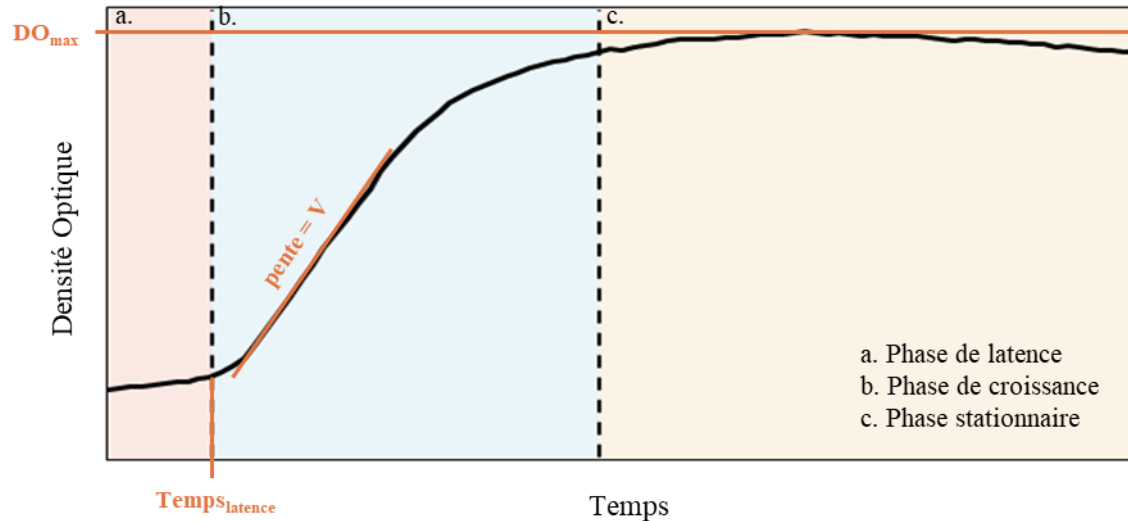


Figure 2- 4. Courbe caractéristique présentant la densité optique d'une culture bactérienne en fonction du temps. On y distingue trois phases : a. phase de latence b. phase de croissance c. phase stationnaire.

## 2. Bio-calcification ...

Afin de tester et d'affiner la composition des solutions bio-calcifiantes et moussantes, la capacité des bactéries à induire la calcification est étudiée en milieu liquide.

### 2.1. ... en milieu liquide

La méthode consiste à renouveler le milieu de culture d'une suspension bactérienne âgée de 48h avec une solution calcifiante (paragraphe 2.2) prodiguant tous les composés nécessaires pour les bactéries et induire la calcification.

Pour renouveler les milieux, un volume de suspension bactérienne est centrifugé à 3000g pendant 12min dans des tubes Falcon® de 50 ml, le surnageant est ensuite éliminé dans des conditions stériles et la solution calcifiante est ajoutée au culot contenant les bactéries (Figure 2- 5). Le tube est enfin agité pour re-suspendre les bactéries dans le liquide. L'introduction de la solution calcifiante aux bactéries correspond au début de l'expérience de calcification. Le volume de solution calcifiante est toujours de 5 ml afin d'avoir un volume d'air d'environ 9/10 dans les tubes.

Le volume de la suspension bactérienne à centrifuger détermine la concentration en bactéries pour la calcification : les bactéries peuvent être diluées en centrifugeant un volume  $V_c < 5$  ml, les bactéries peuvent être concentrées en centrifugeant un volume  $V_c > 5$  ml, elles peuvent avoir la même concentration qu’initialement en centrifugeant un volume  $V_c = 5$  ml.

Chaque expérience est réalisée en triplicata.

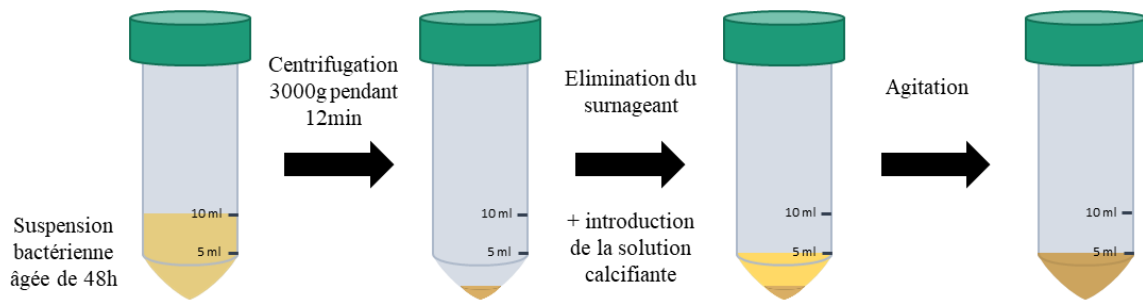


Figure 2- 5. Préparation de la suspension bactérienne avant la bio-calcification en milieu liquide.  
 Dans cet exemple, les bactéries sont concentrées 2 fois.

Les tubes sont ensuite conservés dans l’étuve à 30°C pendant une durée variable.

À la fin des expériences, les échantillons sont centrifugés à 3000g pendant 12min. Ensuite, le surnageant est éliminé et le culot est séché à 40°C pendant minimum 48h. Une fois séché, le culot de masse  $m_{ech}$  est récupéré et broyé.

## 2.2. Préparation des solutions de calcification

Les solutions calcifiantes sont préparées avec de l’AcCa (source de calcium), avec de l’urée (dans le cas de la souche *S. pasteurii*) et avec du milieu nutritif comme indiqué dans le Tableau 2- 4.

Tableau 2- 4. Composition des solutions calcifiantes pour chaque souche et méthodes de stérilisation

Souche	A2-3	<i>S. pasteurii</i>	Stérilisation
Acétate de Calcium (AcCa)	0,2 mol/l à 1 mol/l		Autoclave
Milieu nutritif	BN pH 8 à 8g/l	CASO 30g/l	Autoclave
Urée		0,2 mol/l à 1 mol/l	Filtration 0,21µm
Tensioactif	2 CMC		Filtration 0,21µm

L’urée et l’AcCa sont toujours introduits dans des proportions équimolaires.

Chaque produit est stérilisé : l'AcCa et le milieu nutritif sont stérilisés à l'autoclave pendant 15min à 121°C et 1 surpression de 1bar. L'urée et les tensioactifs sont stérilisés ensemble en solution par filtration ( $\emptyset$  0,20 $\mu$ m). L'AcCa et le milieu nutritif CASO sont autoclavés séparément pour mieux solubiliser les composants dans l'eau. Une fois stérilisés, les produits sont mélangés ensemble.

### 3. Caractérisation du carbonate de calcium

#### 3.1. Analyses qualitatives

##### 3.1.1. Identification des formes cristallines par diffraction des Rayons X

La technique de diffraction des rayons X (DRX) est une méthode non destructive qui permet de déterminer les formes cristallines présentes dans un échantillon. Les analyses sont effectuées sur le diffractomètre PANalytical Empyrean avec le rayonnement  $K\alpha$  du cobalt (40KeV et 30mA), au moyen d'un détecteur PIXcel3D et de l'optique Bragg-BrentanoHD.

L'échantillon est soumis aux rayons X pour des angles incidents allant de 4° à 80° (2 $\theta$ ). Les rayons X incidents sont diffractés lorsqu'ils interfèrent avec une phase cristalline et les interférences constructives sont détectées. Un diffractogramme est obtenu en traçant l'intensité du signal en fonction de l'angle 2 $\theta$ . On peut reconnaître une forme cristallographique spécifique par le positionnement des pics et de leur intensité qui sont exclusifs à une seule phase cristalline. Dans le cas du CaCO<sub>3</sub>, les phases cristallisables sont l'aragonite, la calcite et la vaterite et donne respectivement des pics majoritaires (soit une intensité de 100%) à 30.5°, 34.3° et 31.5°.

Les diffractogrammes obtenus sont traités par le logiciel « Highscore + » à partir de la base de données Crystallography Open Database.

##### 3.1.2. Observation des précipités au Microscope Electronique à Balayage (MEB)

Avant d'observer les précipités au MEB (XL 30, Philips et Quanta) ils ont été placés dans une enceinte à 40°C pendant au moins deux journées, afin de s'assurer qu'ils étaient complètement secs. Leur observation est effectuée en SE (électrons secondaires) et BSE (électrons rétrodiffusés) sans métallisation préalable en mode faible vide, tension du filament = 2,21V.

## 3.2. Analyses quantitatives

### 3.2.1. Analyse Thermo Gravimétrique

L'appareil ATG Netzsch Sta 409 E est utilisé pour analyser les échantillons bio-calcifiés. Cette technique consiste à mesurer la variation de masse de l'échantillon soumis à une rampe de température, comparée à celle d'un échantillon référence, ici du kaolin calciné, qui se comporte comme un matériau inerte jusqu'à 1300°C. Le type de graphique obtenu ressemble à ce qui est représenté dans la Figure 2- 6, où l'on voit la décomposition thermique d'un échantillon de  $\text{CaCO}_3$  se décomposer entre 600 et 900°C.

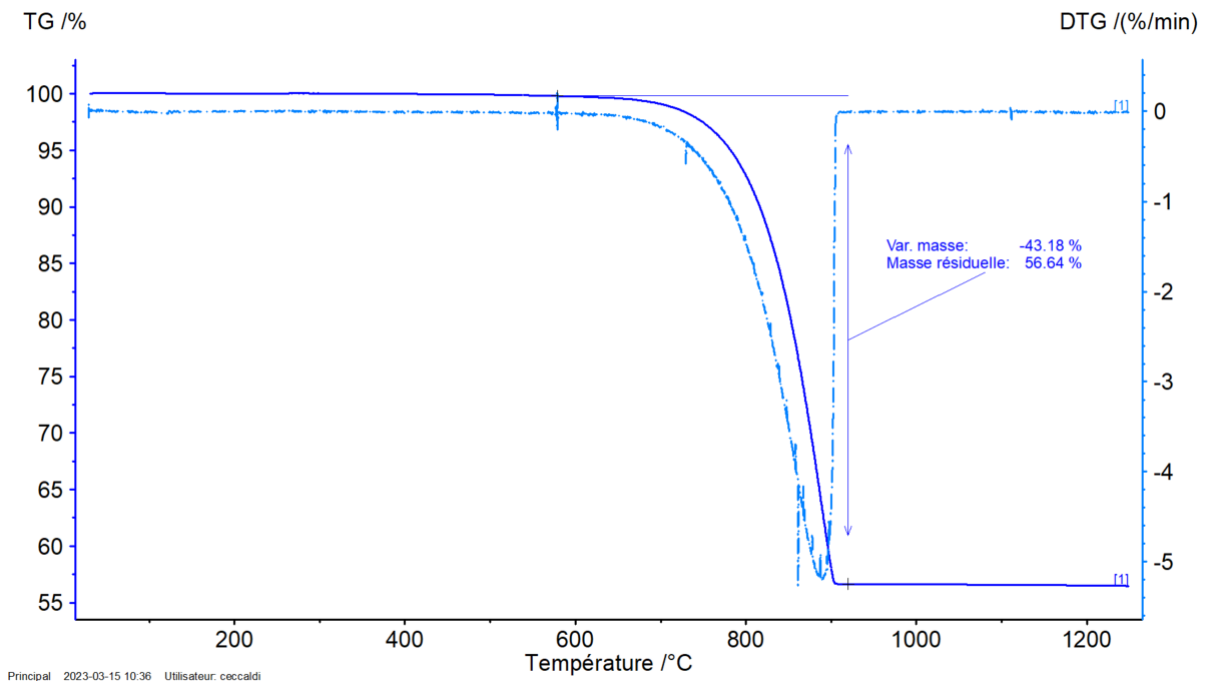


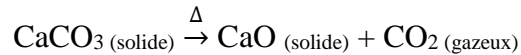
Figure 2- 6. Analyse thermogravimétrique d'un échantillon de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ). La courbe TG bleue continue correspond à la variation de la masse de l'échantillon divisée par sa masse initiale (exprimée en %) en fonction de la température. La courbe DTG bleue discontinue correspond à la dérivée de la courbe TG. Le  $\text{CaCO}_3$  se décompose thermiquement entre 600 et 900°C.

La méthode d'analyse est initiée par une température fixée à 35°C. Le vide est effectué 3 fois pour supprimer l'oxygène de l'environnement et le remplacer par de l'azote (40 ml/min) afin d'éviter l'oxydation des constituants de l'échantillon. La rampe de température monte de 35°C à 1250°C à une vitesse de 10°C/min avec une température d'arrêt à 1260°C.



La perte de masse de l'échantillon,  $m_p$ , est mesurée au cours de la rampe de température (Figure 2- 6).

Sous l'effet de la chaleur, le  $\text{CaCO}_3$  se décompose en oxyde de calcium (CaO) et en dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) suivant la réaction de décomposition thermique suivante :



La réaction de décomposition du  $\text{CaCO}_3$  est une réaction totale. Dans le cas du  $\text{CaCO}_3$ , la perte de masse n'atteint jamais les 100% car le CaO produit ne se décompose qu'à une température d'environ 2500°C, valeur qui n'est pas atteinte lors de l'essai. La perte de masse  $m_p$  mesurée entre 600 et 900°C est donc exclusivement associée au départ des molécules de  $\text{CO}_2$  sous forme de dégagement gazeux. Du fait de la stœchiométrie de la réaction de décomposition, on en déduit la masse de  $\text{CaCO}_3$  dans l'échantillon de masse  $m_{éch}$  :

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

où  $M_{\text{CaCO}_3}$  et  $M_{\text{CO}_2}$  sont les masses molaires du  $\text{CaCO}_3$  et du  $\text{CO}_2$ .

### 3.2.2. Calcul taux de conversion

Lors de la formation de  $\text{CaCO}_3$ , une mole d'AcCa, contenant une mole de  $\text{Ca}^{2+}$ , permet de former une mole de  $\text{CaCO}_3$ . Pour toutes les voies métaboliques, on considère alors l'AcCa comme réactif limitant pour cette réaction. À partir de ce postulat, on détermine une masse théorique formable de  $\text{CaCO}_3$  selon la formule :

$$m_{\text{CaCO}_3(th)} = \frac{m_{\text{AcCa}}}{M_{\text{AcCa}}} \times M_{\text{CaCO}_3} \quad \text{Equation 2- 3}$$

Avec  $m_{\text{AcCa}}$  (g) la masse d'AcCa introduite pour l'expérience.

Ainsi on calcule un taux de conversion selon :  $tx_{conv} = \frac{m_{\text{CaCO}_3(ATG)}}{m_{\text{CaCO}_3(th)}}$ .

Remarque : Le calcul n'est pas strictement qualitatif car le calcul ne tient pas compte du  $\text{Ca}^{2+}$  déjà contenu dans le milieu de culture (les peptones, l'extrait de viande...).

## 4. Les tensioactifs

Lors de la formulation des mousses de bactéries, la principale difficulté est de trouver un tensioactif qui ne soit pas bactéricide, qui n'interfère pas avec la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ , et qui assure la formation et la stabilité dans le temps de la mousse.

Du fait des motifs de glucose qu'ils contiennent, deux types de tensioactif, parmi une grande variété, ont attiré notre attention : les saponines et les Alkyl Poly Glucosides (APG). Nous nous sommes limités à ces deux types de tensioactifs pour une question de temps.

### 4.1. Liste des tensioactifs

La saponine (Figure 2- 7) est un tensioactif issu de la biomasse, qu'on extrait des plantes ou des graines<sup>97</sup> et présente donc un potentiel non bactéricide. Cette molécule est composée de plusieurs chaînes de sucre (hydrophile) et d'une partie hydrophobe appelée aglycone<sup>98</sup>. La saponine (S/0380/48) utilisée dans ce projet provient de chez Fisher Scientific.

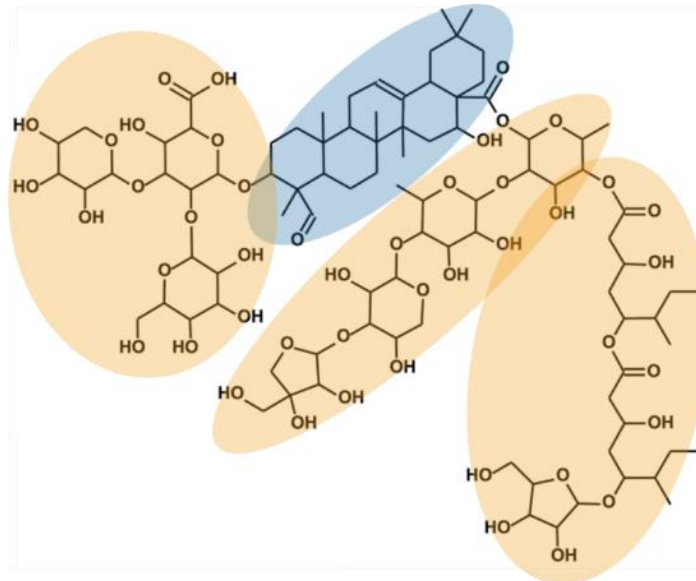


Figure 2- 7. Structure moléculaire de la saponine « *Quillaja Saponaria* ». La partie hydrophobe est surlignée en bleu et les parties hydrophiles sont surlignée en orange. Modifié de Guzmán et al. 2020<sup>99</sup>.

Plus la structure comporte de résidus de sucre, plus les molécules vont être attractives entre elles via des interactions hydrogènes<sup>100</sup>.

Les Alkyl Polyglucosides (APGs) sont des tensioactifs dérivés du glucose ( Figure 2- 8). Ces molécules sont constituées d'une chaîne carbonée hydrophobe d'une longueur de n carbones et d'une chaîne hydrophile d'un ou plusieurs motifs de glucose. On sait que les bactéries consomment généralement les sucres (glucose) grâce à une enzyme, ces molécules ont alors un potentiel avec les bactéries comme sources de nutriment et donc non bactéricides.

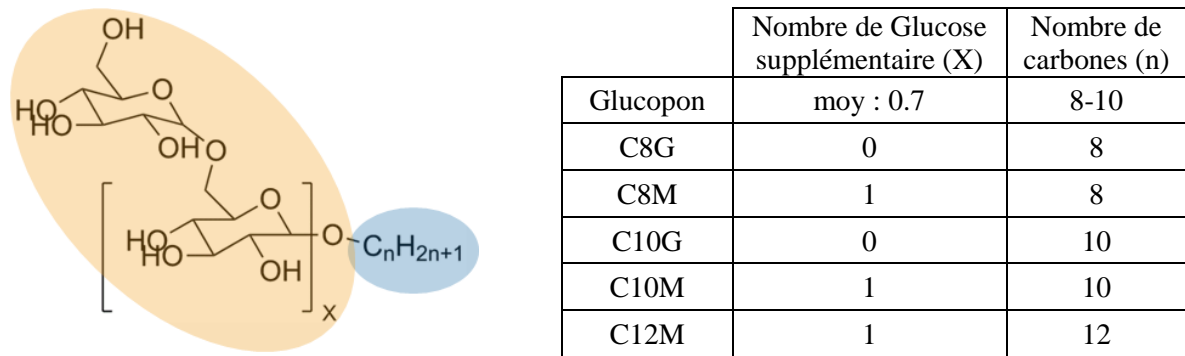


Figure 2- 8. À gauche : Structure moléculaire générale des APGs. La partie hydrophobe est surlignée en bleu et les parties hydrophiles sont surlignée en orange ; À droite : tableau énumérant la structure des différents APGs utilisés.

On note les APGs : C(n)G ou C(n)M avec n correspondant à la longueur de la chaîne carbonée et G (pour glucoside) et M (pour maltoside) correspondant à 1 et 2 motifs de glucose respectivement. Dans le cadre de cette thèse, j'ai étudié 5 APGs purs : C8G, C8M, C10G, C10M, C12M et un APG commercial, le Glucopon, qui constitue un mélange de quatre APGs : C8G, C8M, C10G et C10M.

#### 4.2. Mesure de la concentration micellaire critique

La concentration micellaire critique (CMC) correspond à la concentration pour laquelle les tensioactifs en solution commencent à s'assembler et à former des micelles. Lorsque la concentration en tensioactifs augmente avant la CMC, les tensioactifs s'accumulent au niveau de l'interface liquide/air et font diminuer la tension de surface. Une fois la CMC atteinte, l'interface est saturée en tensioactifs. L'augmentation de la concentration en tensioactifs augmente la concentration en micelles, la valeur de la tension de surface restant constante. On peut donc déterminer la CMC en mesurant la tension de surface en fonction de la concentration en tensioactifs. La méthode choisie pour cette mesure est celle de la goutte pendante. Le

tensiomètre à goutte et son logiciel Tracker de chez Teclis scientifique permet la mesure de la tension de surface à partir du profil de la goutte (pendante) et de son ajustement par l'équation de Young-Laplace. La tension de surface a été déterminée pour différentes concentrations en tensioactifs (Figure 2- 9).

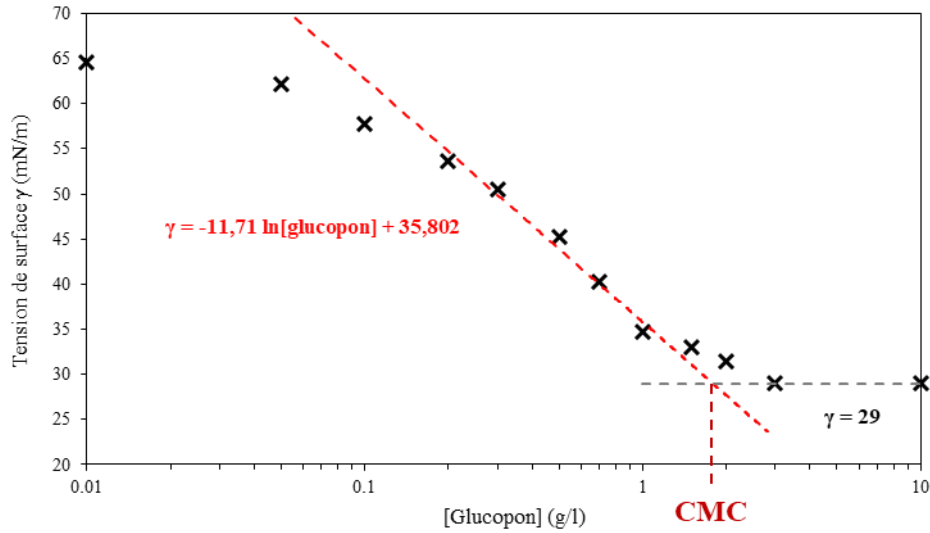


Figure 2- 9. Tension de surface pour  $t=600\text{sec}$  en fonction de la concentration en Glucopon selon la méthode de la goutte pendante avec le Teclis.

Néanmoins, les mesures effectuées sur les solutions connues de saponine ont montré une dynamique très lente des tensioactifs pour atteindre l'équilibre. La tension de surface de chaque solution a donc été mesurée au cours du temps (Figure 2- 10).

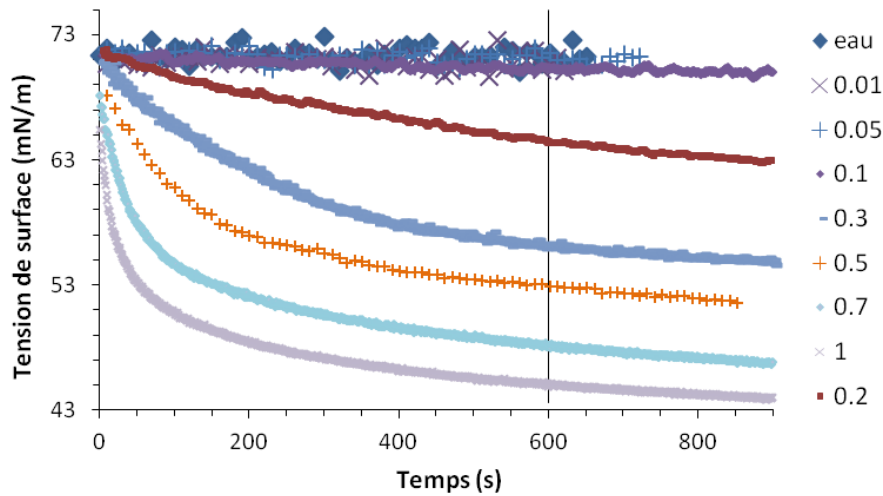


Figure 2- 10. Tension de surface de solutions à différentes concentrations (indiqué à droite en g/L) en saponine en fonction du temps.

Dans la mesure où la modélisation de cette cinétique d'adsorption dépassait largement le cadre de cette caractérisation de la CMC, nous choisissons d'exploiter les valeurs de tension de surface mesurées à 10 min pour toutes les concentrations (Figure 2- 9).

Sur le graphe de la Figure 2- 9, l'intersection des droites en pointillés rouge et gris permet d'estimer la CMC du GlucoPON, soit  $CMC_{\text{glucoPON}} \sim 2 \text{ g/l}$ . Les valeurs de CMC des différents tensioactifs utilisés dans ce projet sont répertoriées dans le Tableau 2- 5, et comparées à celles de la littérature.

Tableau 2- 5. Valeurs de concentration micellaire critique (CMC) trouvées dans la littérature et mesurées pour les différents tensioactifs utilisés.

Tensioactifs	Saponine	C8G	C10G	C8M	C10M	C12M	GlucoPON
CMC expérimentale (g/l)	3	7	0,7	10	0,95	0,05	2
CMC littérature (g/l)	ND	7 <sup>101</sup>	0,7 <sup>101</sup>	10 <sup>102</sup>	1 <sup>102</sup>	0,08 <sub>103</sub>	ND

### 4.3. Dosage des tensioactifs par CLHP

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) est une technique qui repose sur la séparation de composés en fonction de leurs affinités avec la phase mobile et la phase stationnaire. Il est possible de séparer, d'identifier et de quantifier différents composés en fonction de leur temps de rétention dans la colonne de chromatographie.

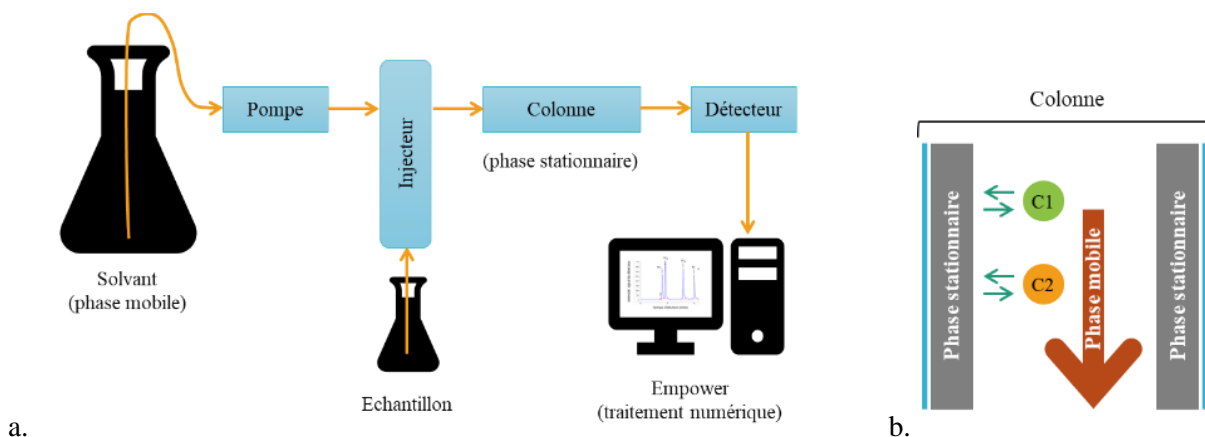


Figure 2- 11. a. Schéma du système de chromatographie liquide ; b. Principe de séparation des composés (C1 et C2) d'un mélange par chromatographie liquide en fonction des affinités entre les composés et la phase mobile avec la phase stationnaire.

Comme on peut le voir dans la Figure 2- 11.a, l'échantillon est injecté dans un circuit où circule déjà un solvant appelé éluant, il s'agit de la phase mobile. Le mélange échantillon + solvant passe ensuite dans une colonne, la phase stationnaire. En fonction des composés à séparer, le choix de la colonne est important. Elle peut être polaire (dite colonne normale) ou apolaire (dite colonne inverse). La surface interne d'une colonne normale est constituée d'une paroi en gel de silice présentant des groupements silanol (Si-OH). La surface interne des colonnes inverses est généralement constituée de gel de silice greffé avec des chaînes alkylées, dont la longueur peut varier en fonction de la force apolaire voulue. Le temps de rétention des composés dans la colonne dépend donc de l'affinité de ces composés avec cette surface, qui contrôle les échanges entre la phase mobile et la phase stationnaire (Figure 2- 11.b). Ainsi, après un choix précis de la colonne et du détecteur, cette méthode permet d'isoler et de quantifier un composé dans un mélange complexe. Étant donné la complexité des compositions des solutions étudiées (Bouillon nutritif, tensio-actifs, bactéries, ...), cette méthode peut être efficace pour suivre les concentrations en tensio-actifs suite à l'activité bactérienne.

Cependant, étant donné la différence de structure moléculaire des Alkyl Polyglucosides (APG) et des saponines, deux protocoles de séparation ont été nécessaires (cf. paragraphe 4.3.1 et 4.3.2).

Le système de chromatographie de la compagnie Waters est piloté à partir du logiciel Empower. Les échantillons analysés pour étudier la consommation des tensioactifs par les bactéries correspondent aux échantillons à la fin des expériences de DBO (paragraphe 1.4.1.), soit une mise en contact de 14 jours des bactéries avec les tensioactifs. Chaque échantillon est filtré à 0,45µm avant analyse.

### 4.3.1. Saponine

Pour identifier la Saponine, on s'est appuyé sur l'article de Young Wan Ha<sup>104</sup> et on a choisi la détection UV. En effet, selon la Figure 2- 12, la saponine absorbe vers 280 nm. Le débit et la température ont été fixés à 1ml/min et 30°C respectivement. Le volume d'injection est de 50µl. On a utilisé une colonne inverse C18 (phase stationnaire apolaire) Zorbax SB-Aq 4.6 x 150mm, 5µm pour ces mesures. Cette colonne fonctionne avec un pH inférieur à 5, donc le mélange Acétonitrile/Acide acétique à 1% a été utilisé comme éluant et a été efficace avec la méthode du gradient :

- 0-15 min : 5 – 15% ACN
- 15-30 min : 15 – 25% ACN
- 30-31 min : 25 – 5% ACN

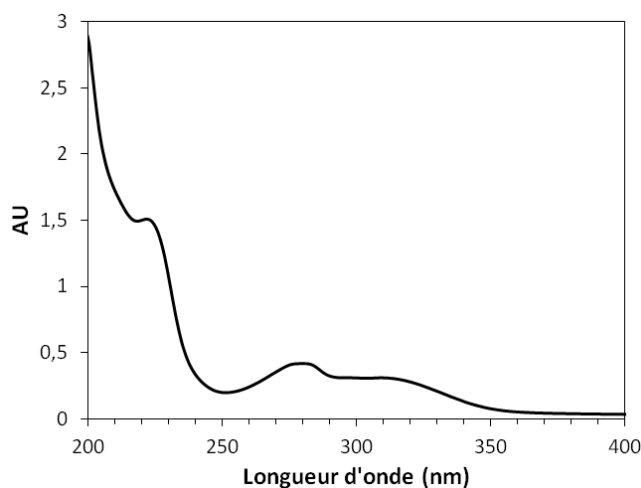


Figure 2- 12. Absorbance en UV de la Saponine à 5 g/l dans de l'eau et de l'acétonitrile à 50/50

#### 4.3.2. APGs

Les APGs ne répondent pas en UV, on a donc choisi un détecteur d'indice de réfraction. On s'est appuyé sur le travail de Bravo Rodriguez<sup>105</sup> dans la littérature pour débiter les tests de quantification des APGs.

En gardant une détection UV en plus du détecteur d'indice de réfraction, on peut facilement faire la différence entre les APGs et le bouillon nutritif (BN) lors de la séparation car ce dernier répond en UV. En effet, le BN absorbe à environ 260 nm, ce qui semble correspondre à la présence de bases azotées au sein des protéines qui composent le BN.

La colonne choisie pour ces mesures est une colonne inverse C18 (phase stationnaire apolaire) Zorbax bonus-RP 4,6 x 250mm, 5 $\mu$ m, qui permet de détecter facilement les composés phénoliques. L'éluant utilisé est un mélange d'acétonitrile (ACN) et d'acide acétique à 1% (pH=3) à 35/65 avec un débit de 0,7ml/min et une température de 30°C. Le volume d'injection est de 20 $\mu$ l.

Les APGs C8M, C8G, C10M et C10G sont analysés en chromatographie.

## 5. Production d'une mousse aqueuse contrôlée

### 5.1. Dispositif de moussage

Le dispositif permettant la production de mousse consiste en une jonction en T comme schématisé dans la Figure 2- 13, développé dans la thèse de Benjamin Haffner<sup>106</sup>. Un débit d'azote est poussé à une entrée de la jonction, alors qu'un débit de solution moussante est poussé à l'autre entrée, produisant des bulles à la sortie, formées par la rencontre du liquide et du gaz. Les bulles produites sont collectées dans une colonne verticale en verre de section  $S = 5,27.10^{-4} \text{ m}^2$ , initialement remplie de solution moussante. Une caméra placée à la paroi de la colonne permet de les observer (voir le type d'image obtenue sur la Figure 2- 13). Le contrôle de la sortie du liquide dans le bas de la colonne permet soit de stabiliser la position de la mousse dans la colonne, soit de la laisser sortir par le haut à un débit choisi. À la sortie de la colonne de mousse, un apport en liquide au débit  $q_i$  peut être ajouté à la mousse issue de la colonne pour augmenter sa fraction liquide : la valeur obtenue sera notée  $\varepsilon$ .

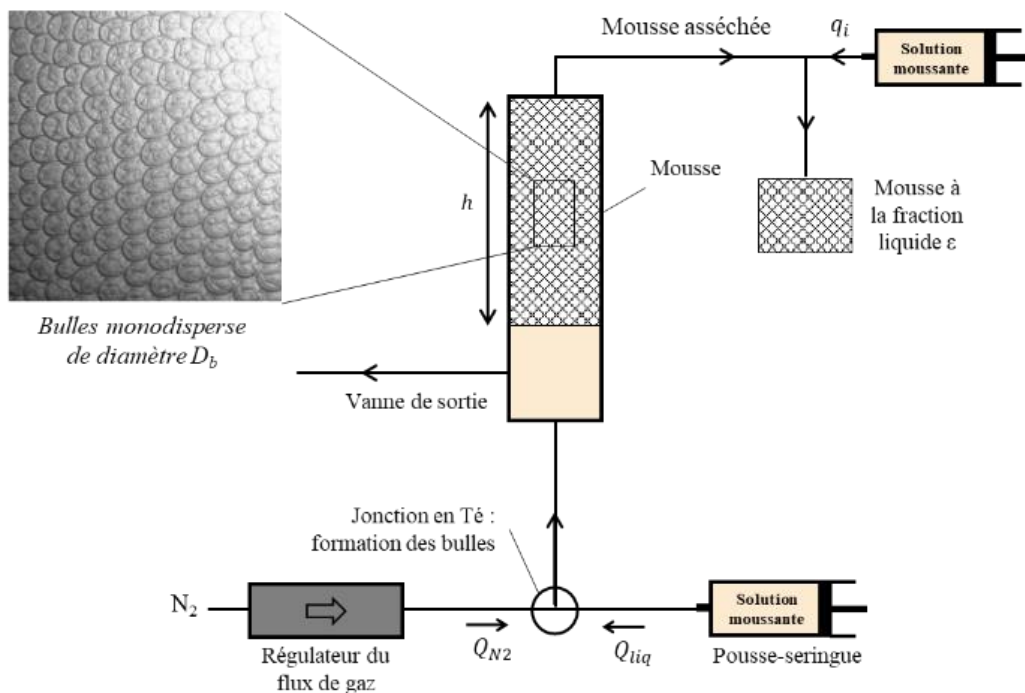


Figure 2- 13. Schéma représentant le système permettant la production de mousse.



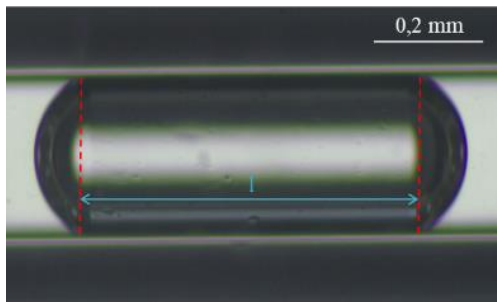
## 5.2. Contrôle de la mousse

### 5.2.1. Taille de bulles

Le dispositif de génération des bulles (Figure 2- 13) permet de former une mousse monodisperse et de changer le diamètre des bulles  $D_b$  en jouant sur le rapport des débits d'azote  $Q_{N_2}$  et de solution moussante  $Q_{liq}$  au niveau de la jonction. Pour caractériser cette jonction, c'est-à-dire établir la relation  $D_b = f(Q_{N_2}/Q_{liq})$ , il nous faut mesurer précisément  $D_b$ .

La méthode retenue consiste à aspirer un peu de mousse produite à l'aide d'une seringue, au bout de laquelle on connecte ensuite un capillaire en verre (Hirschmann Laborgeräte, Ringcaps 5 $\mu$ L) de diamètre  $d = 0,288$  mm. En faisant ressortir de la seringue doucement cette mousse à travers le capillaire, on obtient sous microscope des images qui permettent d'observer directement les bulles confinées (tubulaires) et d'en déduire leur taille (Figure 2- 14.a). On prend soin de s'assurer que les bulles observées ne sont pas des bulles cassées lors de leur transfert. Le volume de gaz observé peut s'écrire  $V_b = \pi d^2 l / 4 + \pi d^3 / 6$  et diamètre cherché est  $D_b = (6V_b / \pi)^{1/3}$ . L'erreur relative sur la taille de bulle est estimée à 2%.

a.



b.

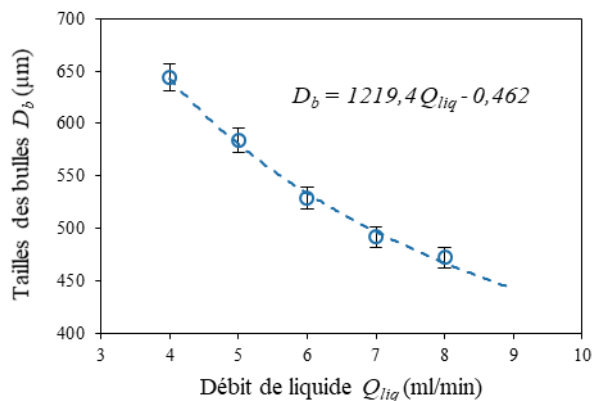


Figure 2- 14. a. Image d'une bulle de Glucopon confinée dans un tube capillaire permettant d'en mesurer la taille ; b. Relation entre le diamètre des bulles produites et le débit de liquide  $Q_{liq}$  (solution de Glucopon à 10 g/l) introduit dans le générateur pour un débit d'azote fixé à 10 ml/min.

On présente dans la Figure 2- 14.b les tailles  $D_b$  d'une mousse de Glucopon (10g/l) mesurées pour différents débits de liquide, le débit d'azote étant fixé à la valeur maximale permise par le régulateur, c'est-à-dire  $Q_{N_2} = 10$  ml/min. On note qu'un débit liquide de 7,1 ml/min permet d'obtenir des bulles d'environ 500  $\mu$ m de diamètre.

Pour la mousse de saponine, l'évolution de la taille des bulles en fonction du débit de liquide  $Q_{liq}$  est le même que pour le Glucopon. Cependant, on a remarqué que la taille des bulles obtenues avec la solution de Saponine dépend de l'âge de la solution. Globalement, après 2 jours, plus la solution de Saponine est vieille, plus la taille des bulles augmente pour la même valeur de  $Q_{liq}$ . Ce comportement peut s'expliquer par le fait que la solution est polluée par des micro-organismes. Le changement de viscosité ou l'obstruction du capillaire dans la jonction peut modifier la taille des bulles formées. Dans ce cas, il est nécessaire de changer régulièrement la solution de saponine et de vérifier, avant chaque expérience, la taille des bulles. On aurait pu utiliser une lampe UV pour tuer ces micro-organismes.

Avec différentes jonctions, il est possible d'atteindre une gamme de taille de bulle plus large. On peut donc former des bulles de taille entre environ 330  $\mu\text{m}$  et 2000  $\mu\text{m}$ .

### 5.2.2. Fraction liquide

On cherche ici à imposer une fraction liquide à la mousse évacuée de la colonne à débit constant, en contrôlant le drainage de celle-ci lors de son séjour dans la colonne. Etant donné notre dispositif, le moyen le plus simple est d'imposer le débit de sortie, qu'on a choisi de valeur égale au débit  $Q_{N2} = 10 \text{ ml/min}$ , puis de choisir une hauteur  $h$  de mousse dans la colonne (c'est-à-dire fixer la position de l'interface de séparation entre la mousse et le liquide). Ceci permet de fixer le temps de séjour de la mousse dans la colonne. Il suffit alors d'imposer un débit d'imbibition  $q_i$  de solution en sortie de colonne, soit introduire du liquide dans la mousse à une certaine vitesse, pour contrôler la fraction volumique en liquide  $\varepsilon$  dans la mousse. En pratique, le maintien d'une hauteur fixe de mousse dans la colonne consiste à évacuer par le bas de la colonne l'excès de liquide introduit avec les bulles en provenance du générateur.

Il a été constaté que pour être en mesure de contrôler  $\varepsilon$  sur une grande plage de valeurs, il est préférable d'imposer une hauteur de mousse relativement importante, et donc une fraction liquide initialement faible, qu'il sera possible d'ajuster en sortie avec le débit d'imbibition. Par ailleurs, les variations de la fraction liquide engendrées par les possibles variations de  $h$  sont plus faibles lorsque  $h$  est relativement grand.

L'étape suivante consiste à faire varier le débit d'imbibition  $q_i$  alors que  $h$  est fixée à 225 mm, le débit de sortie de la mousse étant toujours 10 ml/min. La fraction liquide peut être contrôlée entre 1,2% et 8% en variant le débit  $q_i$  (Figure 2- 15) pour le Glucopon et entre 5% et 30% pour la Saponine.

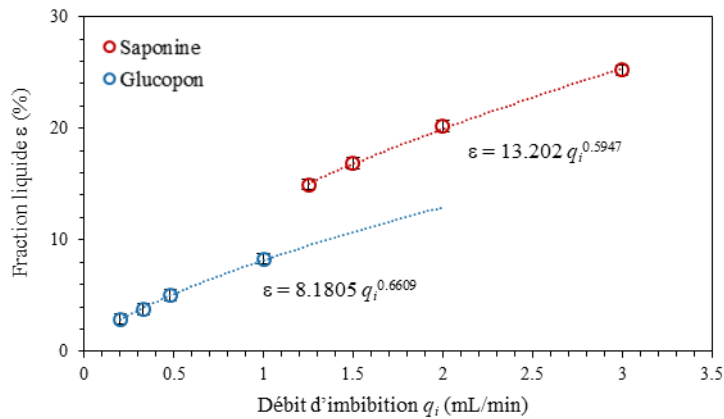


Figure 2- 15. Fraction liquide des mousses de Glucopon et de saponine pour  $h = 225$  mm sortant de la colonne de production au débit 10 ml/min, en fonction du débit d'imbibition  $q_i$ .

Nous sommes donc en mesure de produire des mousses de Glucopon et de Saponine de diamètre de bulle dans la gamme 330-2000  $\mu\text{m}$  et de fraction liquide contrôlées de 1 à 8% et de 5 à 30% respectivement.

## 6. Echantillons poreux remplis de mousse

Afin de simplifier l'étude, le matériau poreux choisi est un empilement de billes de verre, soit des grains de verre. Dans ce type de système poreux, il est possible de contrôler et de faire varier facilement la taille des grains et par conséquent la taille des pores.

### 6.1. Milieu poreux : Empilements de grains

La première étape est de déterminer la distribution des tailles des différents lots de grains. Pour chaque lot, une taille de grains est indiquée, soit : 1mm (D1), 1,2 mm (D1.2), 1,5 mm (D1.5), 2 mm (D2), 3 mm (D3) et 5 mm (D5). Ces distributions représentées dans la Figure 2- 16 ont pu être déterminées par traitement d'images capturées à partir d'un microscope binoculaire. De cette même façon, on a pu remarquer des défauts récurrents : des grains allongés, en forme de goutte ou des siamois. Le nombre de défauts est plus important dans le lot de grains dits de 1,2mm.

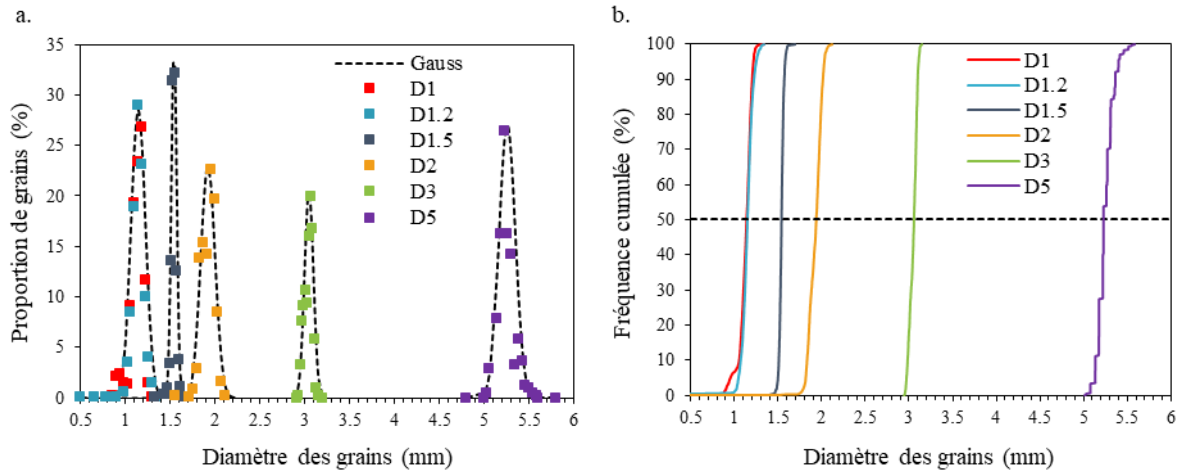


Figure 2- 16. a. Distribution des diamètres des grains et b. Fréquence cumulée en fonction du diamètre de grains pour chaque taille de grains supposé 5 mm en violet (485 grains) ; 3 mm en vert (601 grains) ; 2 mm en orange (1116 grains) ; 1,5 mm en bleu foncé (707 grains) ; 1,2 mm en bleu (1499 grains) ; 1 mm en rouge (1521 grains) ; a. Les courbes en pointillés correspondent à l’ajustement de gaussienne sur chaque série de grains. b. La droite en pointillés représente la fréquence cumulée à 50% permettant de déterminer le diamètre  $D_{50}$ , diamètre pour lequel 50% des grains ont un diamètre inférieur ou égale à  $D_{50}$ .

Tableau 2- 6. Valeurs des diamètres moyens en nombre  $\bar{D}$ , des écarts-type  $\sigma$  et des diamètres  $D_{50}$  pour chaque taille de grains déterminés à partir de la Figure 2- 16.

	$\bar{D}$ (mm)	$\sigma$ (mm)	$D_{50}$ (mm)
D1/D1.2	1,14	0,08	1,14
D1.5	1,54	0,03	1,54
D2	1,92	0,08	1,94
D3	3,04	0,05	3,05
D5	5,25	0,09	5,23

La Figure 2- 16 montre une distribution similaire pour les grains D1 et D1.2. D’après le Tableau 2- 6, la moyenne se trouve proche de 1,14 mm. Les grains D2, D3 et D5 ont une distribution de taille plutôt large et centrée autour de 1,92 mm, 3.04 mm et 5,25 mm respectivement. La distribution de taille des grains D1.5 présente une belle gaussienne autour de 1,54 mm. On retiendra les tailles 1,1 mm pour les lots D1 et D1.2, et 1,5 mm, 2 mm, 3 mm et 5 mm pour les lots D1.5, D2, D3 et D5 respectivement.

Ensuite, il s’agit de déterminer le volume poreux qu’occupera la mousse dans l’empilement. La porosité  $p$  de l’empilement est susceptible de varier légèrement du fait des effets de paroi avec

la colonne et de défauts présents dans un lot de grains. Plus précisément, l'empilement des grains en paroi est différent de celui en volume<sup>107</sup>, et la proportion de pores exposés à la paroi varie avec le rapport des diamètres grains/colonne.

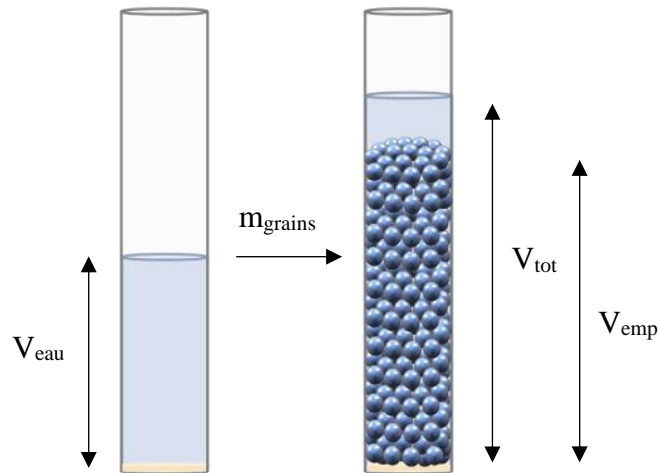


Figure 2- 17. Mesure des différentes valeurs caractéristiques d'un empilement de grains.

On verse une masse de grains  $m_{grains}$  dans une colonne partiellement remplie d'eau avec un volume  $V_{eau}$  (Figure 2- 17). On distingue deux volumes caractéristiques de l'empilement :  $V_{grains}$  correspondant au volume de tous les grains additionnés et  $V_{emp}$  correspondant au volume total occupé par l'empilement dans la colonne. Le volume total de l'eau et des grains est noté  $V_{tot}$ . La masse volumique est obtenue avec le rapport :  $C_v = m_{grains}/(V_{tot} - V_{eau})$ . Par la suite, le volume de grains introduit dans la colonne sera connu par le rapport  $m_{grains}/C_v$ . Après le remplissage de la colonne, la hauteur de l'empilement est mesurée et son volume  $V_{emp}$  est déterminé à partir de la section de la colonne. La porosité est alors calculée par la relation  $p = 1 - m_{grains}/C_v V_{emp}$ . En fonction de la hauteur de la colonne ( $H = 160\text{mm}$  ou  $64\text{mm}$ ), les valeurs de porosité calculées sont différentes. Les données caractéristiques des grains utilisés sont répertoriées dans le Tableau 2- 7.

Tableau 2- 7. Récapitulatif des valeurs de  $C_v$  et de porosités des empilements de différentes tailles de grains.

	D5	D3	D2	D1.5	D1
$C_v$ (g/cm <sup>3</sup> )	2,55	2,54	2,52	2,65	2,57
Porosité $p$ (H= 64mm)	/	0,39	0,38	0,41	0,38
Porosité $p$ (H= 160mm)	0,43	0,42	0,41	/	/

## 6.2. Remplissage de mousse

Avant de remplir la colonne avec les grains, une grille est ajoutée au fond de la colonne de façon à ce qu'ils soient retenus dans la colonne tout en laissant passer la mousse sans casser les bulles. La colonne de grains est ensuite connectée à la colonne de production de mousse. Comme illustré dans la Figure 2- 18, la mousse peut ainsi s'écouler et garnir l'espace poreux de la colonne granulaire. Il est nécessaire de faire circuler de la mousse quelques minutes avant de pouvoir observer la stabilité décrite ci-dessous. En pratique, on surveille la mousse en sortie de colonne jusqu'à retrouver une mousse monodisperse ayant les mêmes caractéristiques (taille et fraction liquide) que celle introduite en entrée. On impose en sortie de colonne de production une fraction liquide supérieure à 3% à la mousse de sorte que celle-ci s'écoule dans le poreux sans modifier les tailles de bulles.

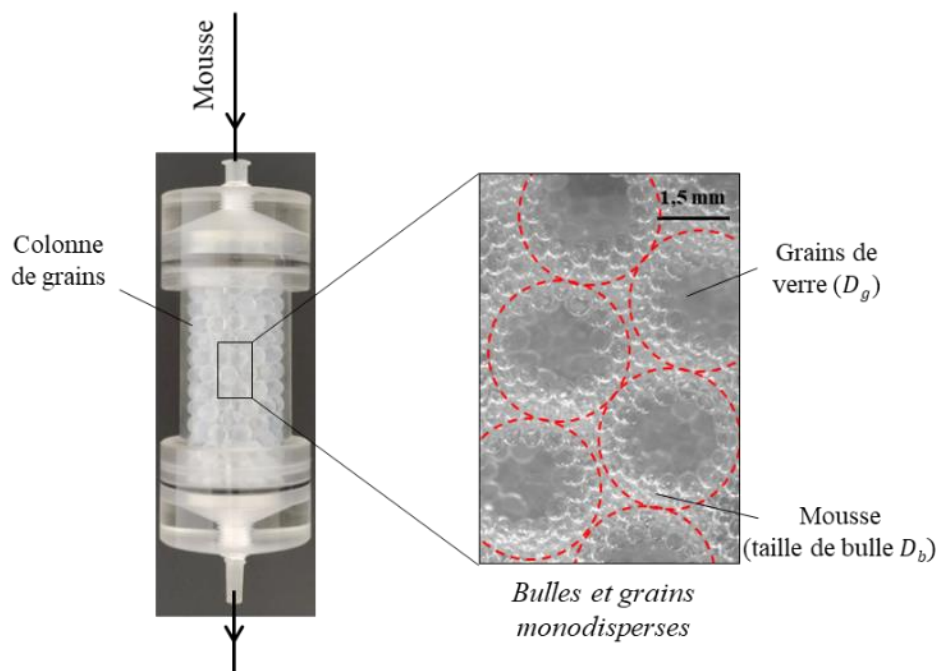


Figure 2- 18. Colonne de grains remplie de mousse monodisperse. Les grains sont représentés par les cercles rouges pointillés.

Dans la mesure où une mousse monodisperse est observée en sortie de colonne après une phase non stationnaire, il est important de connaître la fraction en liquide qui séjourne dans la colonne avec la mousse au moment où l'écoulement de mousse est stoppé.

Cette fraction liquide est mesurée par la pesée de la colonne de grains remplie de mousse. Cette méthode consiste à mesurer la masse de liquide contenu dans le volume poreux en soustrayant

à la masse totale de la colonne remplie de grains et de mousse, les masses des grains et du montage sec. La marge d'erreur sur la mesure de fraction liquide s'élève à 7%.

### 6.3. Mesure de perméabilité au liquide de la mousse aux temps courts

Deux méthodes de mesure de perméabilité au liquide du système ont été mises en œuvre : (1) La première est la méthode adaptée des mesures sur des mousses de volume (non confinées) : elle consiste en une expérience dite de « drainage forcé » avec une détection du passage du front de liquide à différentes positions (cf. paragraphe 5.2 du chapitre 1). (2) La deuxième méthode est plus classique dans le domaine des milieux poreux solides (Darcy) : elle consiste à suivre au cours du temps la hauteur de liquide dans un tube vertical placé en entrée de la colonne granulaire/mousse. Cette méthode est adaptée dans la situation où les bulles ne sont pas emportées par l'écoulement. On remarque que la première méthode met en jeu le mouvement des bulles dans la porosité au-dessus du front de drainage, du fait de la conservation du volume. Elle est donc utilisée plutôt pour les plus grosses tailles de grains, ou  $D_b/D_g \leq 0,2$ . La seconde nécessite la capture des bulles dans la porosité de l'empilement. Elle est utilisée plutôt pour les plus petites tailles de grains, ou  $D_b/D_g \geq 0,2$ .

#### 6.3.1. Drainage forcé

Cette méthode consiste à laisser drainer la mousse produite, puis à introduire du liquide en haut de la colonne de mousse à un débit fixé tout en mesurant la vitesse à laquelle cet excédent de liquide s'écoule dans la mousse sous la forme d'un front séparant la mousse initiale, de fraction volumique liquide  $\varepsilon_0$ , de la mousse imbibée à la fraction  $\varepsilon$ . Pour cette méthode, on a utilisé une colonne granulaire de hauteur  $H = 160$  mm.

Une fois la mousse mise en place dans la porosité, on laisse la mousse drainer dans la colonne pendant une quinzaine de minutes, qui correspond au maximum en-dessous de laquelle on n'observe pas de murissement, c'est-à-dire d'évolution de la taille des bulles. Cette étape permet de faire diminuer la fraction liquide dans la mousse afin de mieux observer le front de liquide par la suite. Il est alors nécessaire de connaître la fraction liquide de la mousse après cette phase d'attente et avant de déverser la solution. Cette fraction, notée  $\varepsilon_0$ , a été mesurée pour les grains de 3 et 5,2mm en utilisant la méthode de pesée de la colonne avec et sans mousse expliquée dans le paragraphe 6.2. Cette méthode est employée car la marge d'erreur est faible

pour une colonne de hauteur  $H = 160$  mm. Les valeurs sont présentées dans le Tableau 2- 8. On fait l'hypothèse que ces valeurs sont inchangées tant que les conditions de production de la mousse sont les mêmes.

Taille de grains	5,2 mm	3 mm
Fraction liquide $\varepsilon_0$	2,7 % $\pm$ 0,2 %	2,5 % $\pm$ 0,2 %

Tableau 2- 8. Fraction liquide initiale dans la mousse de Glucopon correspondant aux tailles de grains utilisées.

Après cette première phase, la solution est déversée en haut de la colonne avec un débit dit d'imbibition  $q$ , le bas de la colonne étant totalement fermé. Le front de drainage est observé avec une caméra, par transmission de lumière, ce que montre la Figure 2- 19. On obtient des allures de passage de front similaires à celles observées avec la mousse seule, même si la présence des grains diminue l'amplitude du signal d'intensité mesurée.

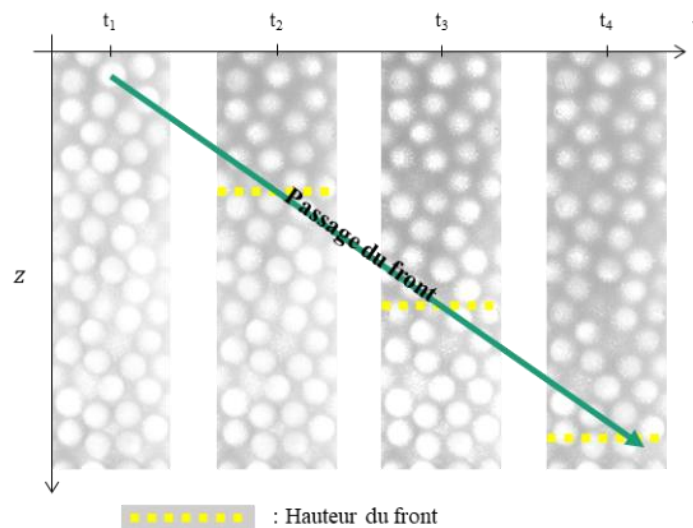


Figure 2- 19. Images de la colonne de mousse de Glucopon dans l'empilement de grains de 5,2mm observée par transmission de lumière lors du passage du front de drainage.

Deux méthodes de traitement ont été testées : (1) la construction d'une image spatio-temporelle, (2) la détection du passage du front à différentes positions (hauteurs) dans la colonne.

En présence de grains, on a observé que le niveau de gris varie très peu au passage du front, difficile à voir à l'œil nu. Pour avoir une meilleure précision, il est donc plus judicieux de choisir



la deuxième méthode permettant d'accéder au niveau de gris moyen, soit de détecter le passage du front à différentes positions  $h_z$  dans la colonne (Figure 2- 20).

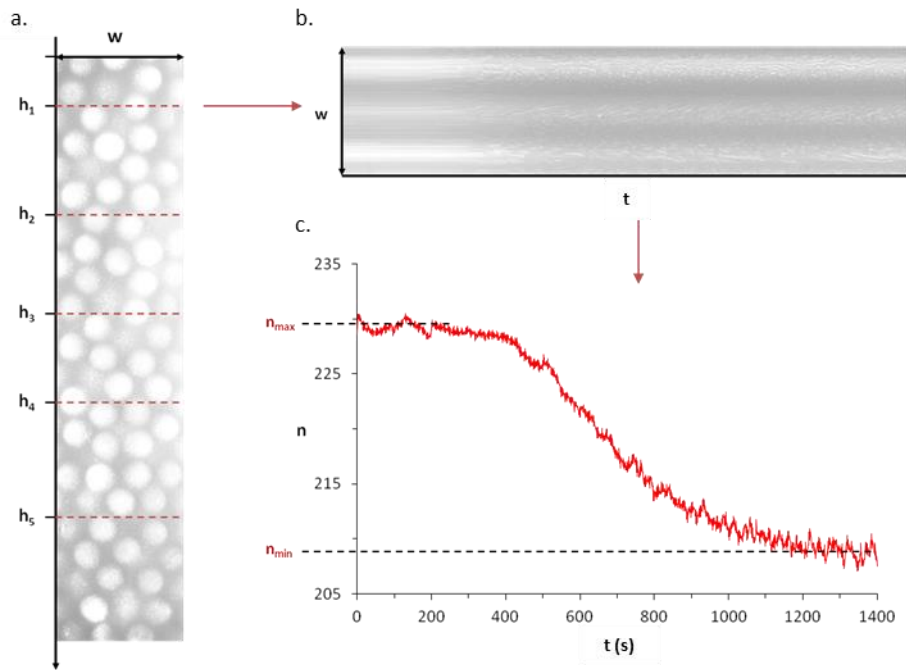


Figure 2- 20. Méthode de suivi du passage du front de drainage forcé dans la mousse : (a) colonne de grains remplis de mousse, (b) évolution des profils horizontaux de niveaux de gris  $n$  à une position  $z = h_1$  dans la colonne, (c) évolution du niveau de gris moyen en  $z = h_1$  en fonction du temps  $t$

Pour chaque hauteur  $h_z$  une image spatio-temporelle est obtenue, de largeur  $w$  correspondant à celle de l'image de la colonne, en fonction du temps. On trace ensuite en fonction de  $t$  le niveau de gris  $n$  moyenné sur  $w$ . Ces courbes font apparaître clairement une transition qui correspond au passage du front. On introduit un niveau de gris  $n$  normalisé  $n^* = (n - n_{min}) / (n_{max} - n_{min})$  dont les valeurs sont comprises entre 0 et 1 pour les différentes hauteurs  $h_z$ . Pour déterminer la vitesse du front, on trace  $n^*$  en fonction du temps (Figure 2- 21a).

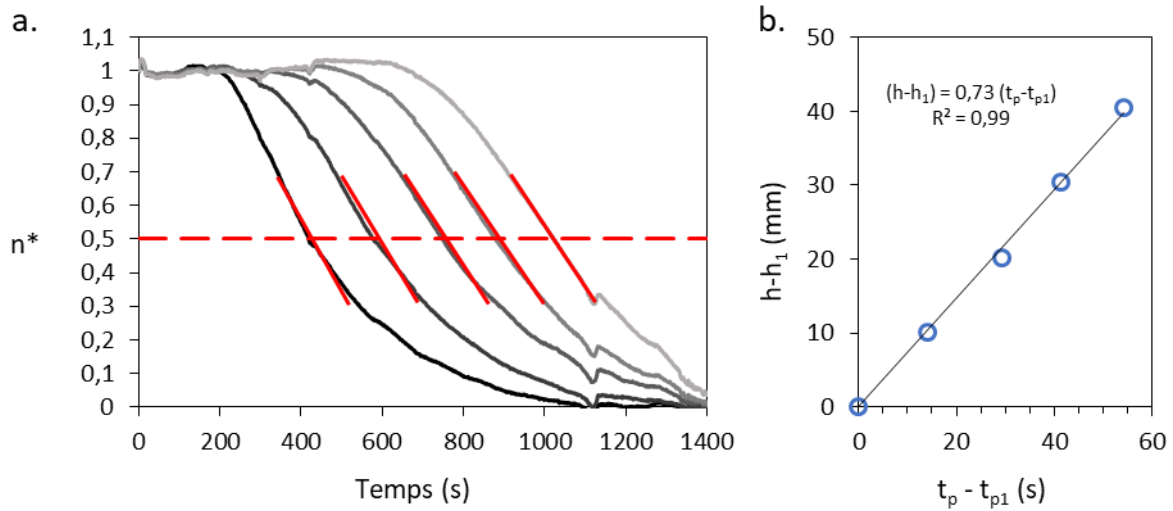


Figure 2- 21. Mesure de la vitesse du front de drainage forcé dans la mousse : a. niveau de gris normalisé en fonction temps pour différentes hauteurs  $h_z$  ; b. Hauteur de liquide dans le tube en fonction du temps, la pente correspond la vitesse de front  $v_f$ .

Le passage du front pour chaque  $h_z$  est repéré par la valeur  $n^* = 0,5$ , ce qui permet de déterminer les temps de passage  $t_{pz}$  associés. On trace ensuite  $h_z - h_{(z=1)}$  en fonction de  $t_{pz} - t_{p(z=1)}$ , dont la pente fournit directement la vitesse  $v_f$  du front (voir Figure 2- 21.b).

A partir des données de vitesse de front, il est possible de déduire la perméabilité  $k_f$  de la mousse avec l'équation suivante exprimé dans le chapitre 1 :

$$\frac{q_i}{S_p} = \frac{k_f}{\mu} \rho g \quad \text{Equation 2- 4}$$

Où  $\mu = 10^{-3} \text{ Pa.s}$  et  $\rho = 10^3 \text{ kg/m}^3$  sont respectivement la viscosité et la masse volumique de la solution moussante et  $S_p$  en  $\text{m}^2$  représente la proportion qu'occupe la porosité dans chaque section de la colonne de grains, soit  $S_p = S/p$ .

De manière à comparer nos résultats avec ceux de la littérature, la perméabilité est adimensionnée par le carré de la taille des bulles :

$$\tilde{k}_{f0} = \frac{k_f}{D_b^2} = \frac{\mu q_i}{\rho g S_p D_b^2} \quad \text{Equation 2- 5}$$

On détermine par conservation du volume de liquide la fraction liquide  $\varepsilon$  de la mousse située derrière le front ( $\varepsilon_0$  étant celle avant le passage du front) :  $v_f(\varepsilon - \varepsilon_0) = q_i/S_p$ . Ainsi, la mesure de  $v_f$  fournit la fraction liquide :

$$\varepsilon = \varepsilon_0 + \frac{q_i}{S_p v_f} \quad \text{Equation 2- 6}$$

On peut ainsi associer une valeur de perméabilité au liquide de la mousse du milieu poreux adimensionnée  $\tilde{k}_f$  avec une fraction liquide  $\varepsilon$  et construire une courbe de perméabilité  $\tilde{k}_f = f(\varepsilon)$  en faisant varier le paramètre  $q_i$ . La perméabilité de la mousse hors milieu poreux est notée  $k_{f0}$ .

Dans le cas des tailles de grains les plus petites ou des plus grosses tailles de bulles, ces dernières sont immobilisées dans les pores (les bulles trop grosses pour passer d'un pore à un autre). Le suivi du front est alors impossible car le drainage nécessite une mobilité des bulles du bas vers le haut. Une autre méthode a été développée, inspirée des méthodes de mesure de perméabilité pour des sols poreux : essai à charge variable.

### 6.3.2. Essai à charge variable

Pour les empilements étudiés avec cette méthode, le drainage libre ne se produit pas ou sinon très peu. De ce fait, la fraction liquide initiale est assimilée à la fraction liquide de la mousse utilisée pour le remplissage de l'empilement (mesurée en sortie de colonne de production et en sortie de colonne granulaire). Pour cette méthode, la hauteur de la colonne de grains a été réduite ( $H = 64$  mm) de manière à diminuer la durée de l'expérience.

Cette méthode consiste donc à suivre le niveau de liquide qui s'écoule dans le milieu. Pour ce faire, on place un tube au-dessus de la colonne, comme schématisé sur la Figure 2- 22, on introduit dans le tube un volume  $V_t$  de liquide (solution du tensioactif correspondant) à l'aide d'un pousse-seringue. La pression imposée par la hauteur  $z$  de liquide dans le tube permet l'écoulement du liquide dans la mousse, au travers de l'empilement granulaire, sans changement de fraction liquide. La cinétique de cet écoulement est suivie en mesurant  $z$  en fonction du temps. La hauteur initiale est notée  $z_0$ .

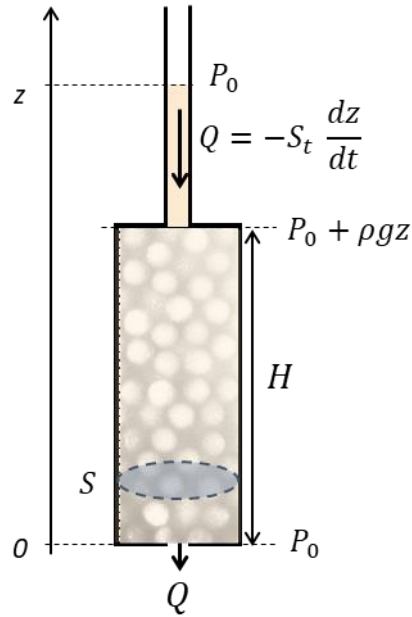


Figure 2- 22. Schéma du montage utilisé pour la mesure de perméabilité avec la méthode d'essai à charge variable.

Dans cette configuration, le débit de liquide  $Q$  entrant dans l'empilement dépend de la Section  $S_t$  du tube et de la variation de hauteur  $z$  en fonction du temps :

$$Q = -S_t \frac{dz}{dt} \quad \text{Equation 2- 7}$$

La loi de Darcy permet de relier le débit  $Q$  du liquide à la perméabilité  $k_D$  du milieu, c'est-à-dire celle de l'ensemble grains + bulles, dans l'hypothèse où seul le liquide s'écoule.

$$\frac{Q}{S} = \frac{k_D}{\mu} \frac{\Delta P}{H} \quad \text{Equation 2- 8}$$

avec la section  $S$  de la colonne granulaire et la viscosité  $\mu$  du liquide. Dans la configuration de la Figure 2- 22,  $\Delta P = \rho g(z - z_0)$  car  $P = P_0$  (pression atmosphérique) en sortie de colonne.

À partir des équations Equation 2- 7 et Equation 2- 8, on obtient l'équation suivante :

$$-\frac{S_t}{S} \frac{dz}{dt} = \frac{k_D}{\mu} \frac{\rho g(z - z_0)}{H} \quad \text{Equation 2- 9}$$

dont la résolution fournit l'évolution temporelle de l'altitude  $z$  en fonction de la perméabilité  $k_D$  :

$$\frac{z}{z_0} = \exp\left(-\frac{S}{S_t} \frac{k_D \rho g}{\mu H} t\right) \quad \text{Equation 2- 10}$$

Le tracé de l'Equation 2- 10 avec les points expérimentaux comme sur la Figure 2- 23 permet d'ajuster  $k_D$  afin d'avoir la meilleure correspondance entre la théorie et l'expérience.

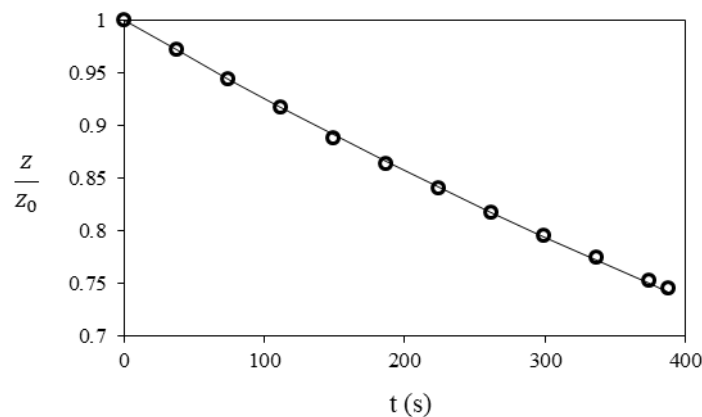


Figure 2- 23. Rapport des hauteurs  $z/z_0$  en fonction du temps. Les ronds correspondent aux valeurs expérimentales, la courbe correspond à l'Equation 2- 10.

Afin de pouvoir comparer les deux méthodes de mesure de perméabilité, on peut déduire la perméabilité de la mousse  $k_f$  en divisant la perméabilité  $k_D$  par la porosité  $p$  du milieu granulaire.

$$k_f = \frac{k_D}{p} \quad \text{Equation 2- 11}$$

#### 6.4. Mesure de perméabilité au liquide de la mousse aux temps longs

Pour suivre l'évolution de la perméabilité de la mousse confinée au cours du temps, nous avons répété la mesure de perméabilité avec cette deuxième méthode d'essai à charge variable à intervalle de temps régulier. La hauteur du liquide  $z$  dans le tube placé en amont de la colonne va alors osciller comme illustré sur la Figure 2- 24. Pour chaque cycle, le tube est initialement rempli jusqu'au niveau  $z_{max}$ . Le niveau de liquide décroît ensuite dans le tube jusqu'à atteindre

le niveau  $z_{min}$ , ce qui déclenche le début d'un nouveau cycle. Nous répétons ces mesures sur une durée d'environ 1h30. La variation de hauteur du liquide est déterminée à chaque instant en filmant le niveau du liquide dans le tube.

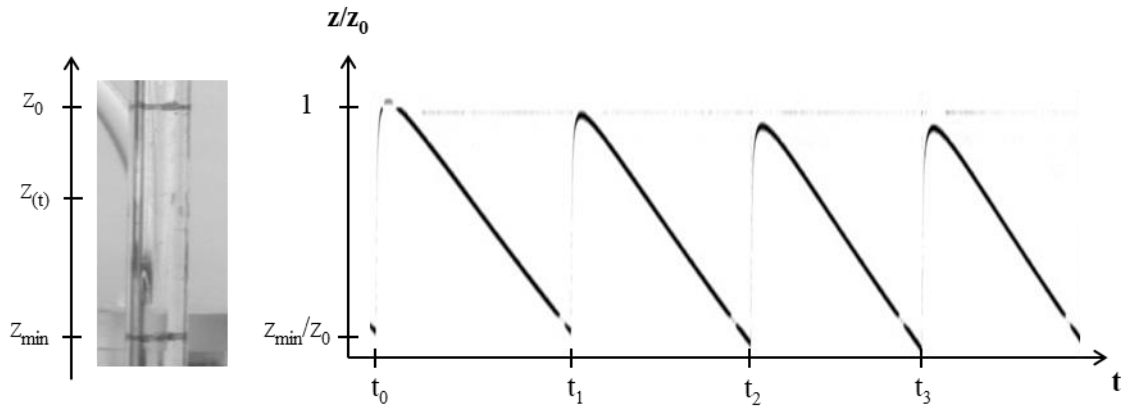


Figure 2- 24: Image spatio-temporelle montrant les « oscillations » imposées dans le tube surmontant la colonne granulaire pour suivre l'écoulement de liquide au cours du temps.

Les tracés de  $z(t)$  pour chaque cycle  $i$  permettent de déterminer la perméabilité  $k_f(t_i)$  associée de la même manière que dans le paragraphe précédent.

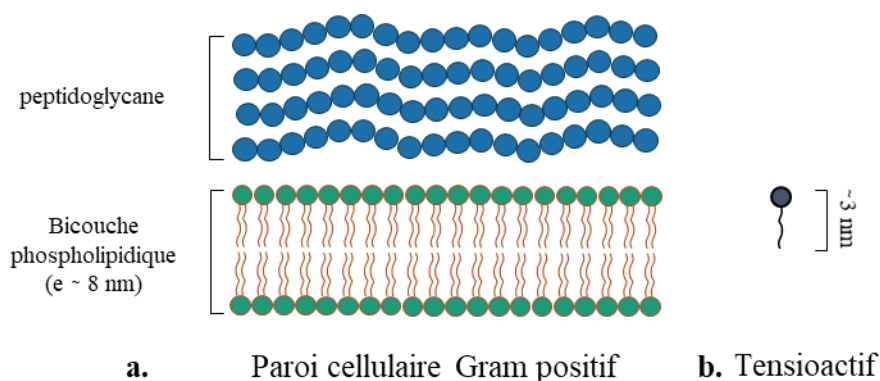
Notez que par cette méthode, la mousse est constamment réapprovisionnée en liquide, ce qui empêche son assèchement dû au drainage. Le phénomène de coalescence (rupture des films liquide), un des phénomènes de vieillissement de la mousse, peut être ainsi évité. Par contre, le phénomène de murissement, impliquant des transferts de gaz à travers les films principalement, n'est pas affecté par l'ajout de liquide et peut se poursuivre indépendamment.



## **Chapitre 3 : Etude de la compatibilité entre bactéries et tensioactifs**



Les tensioactifs sont souvent utilisés comme détergents dans le but de tuer les bactéries ou d'éviter leur prolifération. En effet, la similarité structurale des molécules tensioactives et des lipides (phospholipides) composant la membrane cellulaire d'une bactérie (voir Figure 3-1) favorise la rupture de la membrane au contact de tensioactifs et ainsi la lyse de la cellule bactérienne.



*Figure 3- 1. a. Structure des parois cellulaires des souches bactériennes Gram positif dont la membrane cellulaire est principalement composée d'une bicouche phospholipidique dont l'épaisseur est d'environ de 8 nm ; b. Structure moléculaire d'une molécule de tensioactif. Un tensioactif a une longueur d'environ 3 nm en moyenne.*

La première problématique est donc d'identifier un ou plusieurs tensioactifs capables de ne pas induire la lyse cellulaire des bactéries calcifiantes. De plus, un tensioactif compatible avec le développement bactérien peut devenir une source de carbone supplémentaire pour les bactéries. Or la dégradation des tensioactifs par les bactéries pourrait induire une modification de leurs propriétés moussantes, ainsi qu'un changement de comportement des bactéries par rapport à celui attendu.

Après avoir présélectionné des souches et des tensioactifs, nous allons discuter dans ce chapitre de l'activité et de la croissance bactérienne au cours du temps en présence ou non de tensioactifs, afin de répondre à la problématique évoquée plus haut. Puis une méthode de dosage par chromatographie liquide haute performance est développée pour suivre la dégradation des tensioactifs en présence des bactéries. Enfin la bio-calcification par les souches bactériennes en présence des tensioactifs identifiés comme biocompatibles sera testée.

## 1. Test de l'activité de l'uréase des souches uréolytiques calcifiantes

Parmi les souches uréolytiques connues, nous avons identifié les souches *S. pasteurii*, *B. sphaericus* et *B. subtilis*. Afin de tester leur activité uréolytique, ces souches sont mises en culture dans un bouillon à l'urée 39 g/l (extraits de levure (0.1g/l), monopotassium de phosphate (9.1g/l), disodium phosphate (9.5g/l), urée (20g/l) à un pH  $6.8 \pm 0.1$  (Urea Broth chez Liofilchem).

La production d'ammonium lors de l'hydrolyse de l'urée par l'action de l'uréase implique une augmentation du pH, alors une quantité d'indicateur colorimétrique de pH : rouge de phénol (0,01 g/l), a été ajoutée. Cet indicateur donne une couleur initialement orange au milieu nutritif, dont le pH est très proche de la valeur basse de la zone de virage (entre 6,6 et 8,4) : on s'attend donc à observer le virage rose suite à l'augmentation de pH attendue.

Les souches sont mises en culture pendant deux jours à 30°C dans ce bouillon avant d'observer la couleur des différentes solutions. Les photos des solutions après deux jours sont présentées sur la Figure 3- 2.

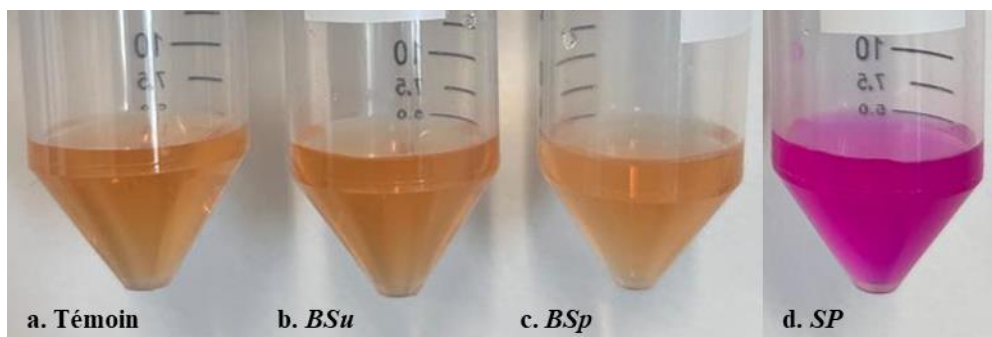


Figure 3- 2. Test de l'activité de l'uréase pour les différentes souches au bout de 2 jours dans leur bouillon nutritif : a. Témoin (sans souche bactérienne) ; b. *B. subtilis* ; c. *B. sphaericus* ; d. *S. pasteurii*. Le test est positif lorsque la couleur a viré de l'orange au rose.

Dans la Figure 3- 2, le témoin indique la couleur initiale de la solution. Les cultures contenant les souches *B. subtilis* et *B. sphaericus* sont restées de la même couleur que le témoin, c'est-à-dire orange. La culture contenant la souche *S. pasteurii* est devenue rose. On peut aussi deviner, dans le cas des souches *B. sphaericus* et *S. pasteurii*, que la solution est devenue turbide signifiant une croissance bactérienne.

Dans ces conditions, la souche *B. subtilis* ne s'est pas développé et n'a pas hydrolysé l'urée. La souche *B. sphaericus* s'est développé, mais n'a pas non plus hydrolysé l'urée dans ces conditions contrairement à la souche *S. pasteurii* qui s'est développé et a hydrolysé l'urée. Cette dernière est donc sélectionnée pour la suite du projet aux côtés de la souche A2-3, isolée lors de la thèse de H. Martinez<sup>4</sup>.

## 2. Respiration bactérienne en présence de tensioactifs

Afin d'étudier l'effet des tensioactifs sur l'activité bactérienne (respiration) au cours du temps, la consommation en oxygène a été suivie en l'absence et en présence des différents tensioactifs d'après le protocole détaillé dans le paragraphe 1.4.1 du chapitre 2. Un rappel de la préparation des échantillons est présenté dans Tableau 3- 1. Le carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) ne peut précipiter que si le milieu a un pH basique ( $\text{pH} > 7$ ). Le pH a donc été suivi également. Les tensioactifs utilisés, décrits dans le paragraphe 4.1 du chapitre 2, sont la saponine, le GlucoPON et les alkyls poly glucoside : C8G, C10G, C8M, C10M et C12M. Leur concentration est fixée à une fois leur concentration micellaire critique (1CMC). Les cultures bactériennes utilisées pour les expériences sont âgées de 48h. La concentration initiale de la suspension mère est en moyenne de  $2.10^8$  UFC/ml pour les deux souches (A2-3 et *S. pasteurii*) et le pH initial a pour valeur environ 8.

Tableau 3- 1. Volumes des éléments eau ultrapure, Bouillon Nutritif (BN), tensioactif (TA) et inoculum composant le mélange pour les mesures de Demande Biologique en oxygène (DBO)

	Volumes pour le Témoin (ml)	Volumes en présence de tensioactif (ml)
H <sub>2</sub> O ultrapure	19,664	18,529
BN 8g/l (pH=8)	2,514	2,514
TA ( $C_m=20\text{CMC}$ )	/	1,135
Inoculum	0,522	0,522
volume total	22,7 ml	

Pour les deux souches (Figure 3- 3 et Figure 3- 4), les expériences témoin donnent des courbes très similaires : la consommation en oxygène augmente rapidement et se stabilise à environ 500 mg/L au bout de 2 jours.

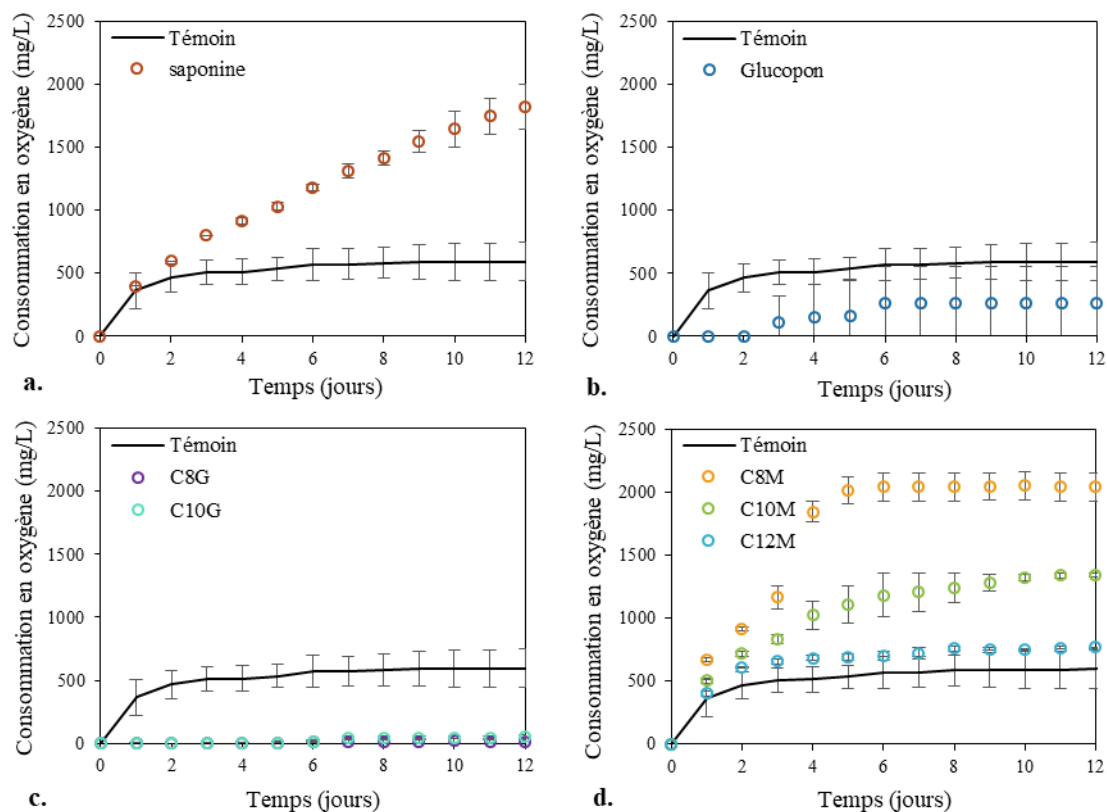


Figure 3- 3. Consommation de l'oxygène au cours du temps par la souche A2-3 en présence a. de saponine (ronds rouges) ; b. de glucocon (ronds bleus) ; c. de C8G (ronds violets) et de C10G (ronds turquoise) ; d. de C8M (ronds oranges), C10M (ronds bleus) et C12M (ronds verts). La concentration des tensioactifs est de 1CMC. La ligne continue noire représente la moyenne de 15 expériences sans tensioactifs.

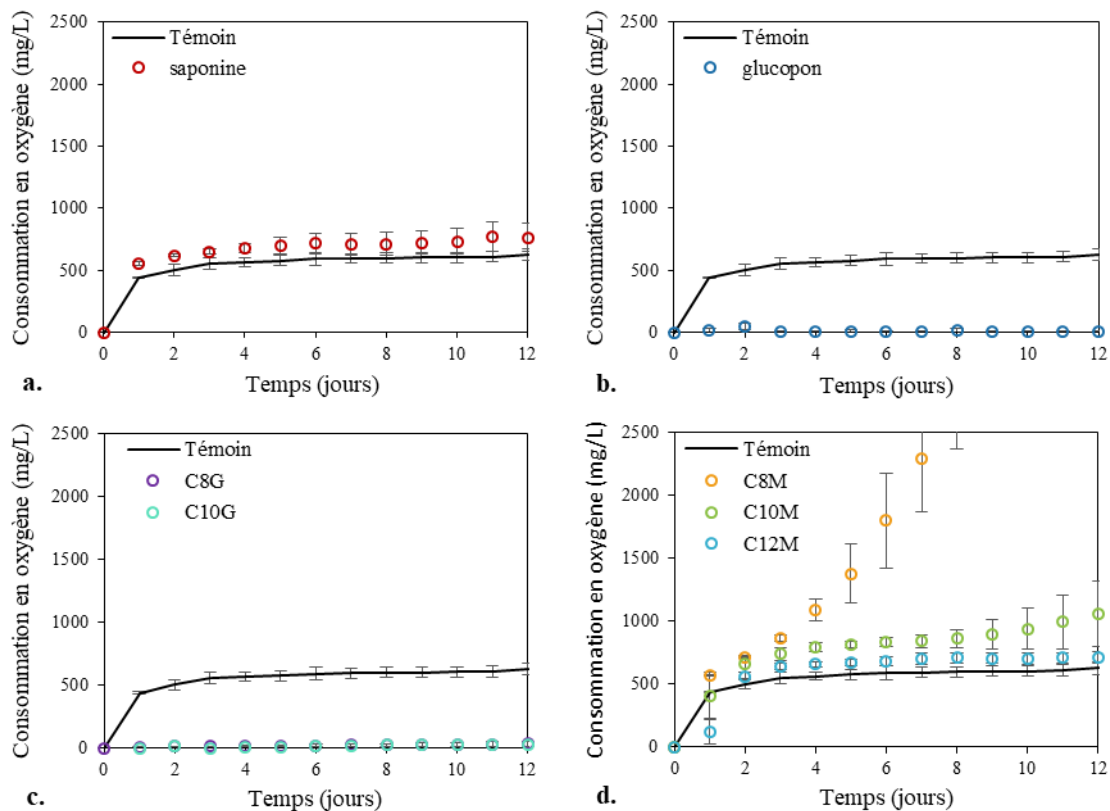


Figure 3- 4. Consommation de l'oxygène au cours du temps par la souche *S. pasteurii* en présence a. de saponine (ronds rouges) ; b. de glucoPON (ronds bleus) ; c. de C8G (ronds violets) et de C10G (ronds turquoises) ; d. de C8M (ronds oranges), C10M (ronds bleus) et C12M (ronds verts). La concentration des tensioactifs est de 1CMC. La ligne continue noire représente la moyenne de 12 expériences sans tensioactifs.

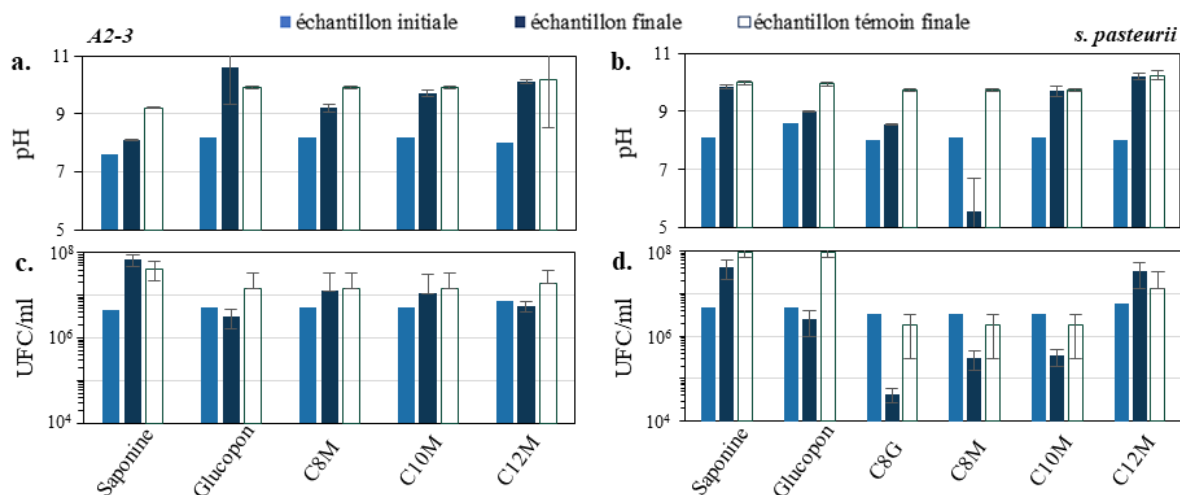


Figure 3- 5. Valeurs de pH et de concentration en bactéries (UFC/ml) des échantillons en début et en fin d'expérience en présence des différents tensioactifs avec a.c. A2-3 et b.d. *S. pasteurii*. L'écart type des échantillons est calculé à partir de 3 échantillons.

Sur la Figure 3- 3.a, on peut remarquer que la souche A2-3 en présence de saponine donne lieu à une consommation en oxygène bien plus importante que pour l'expérience témoin (sans tensioactif) ainsi qu'une augmentation rapide dès le début de l'expérience, et qui se poursuit avec un léger ralentissement en fin d'expérience. En revanche, la souche *S. pasteurii* en présence de saponine (Figure 3- 4.a) suit la courbe du témoin et lui est légèrement supérieure : un plateau situé à environ 600 mg/l est observé à partir de 2 jours.

D'après la Figure 3- 3.b, l'expérience en présence de GlucoPON avec A2-3 montre une consommation en oxygène plus faible que celle du témoin. On peut remarquer une inhibition de l'activité bactérienne jusqu'à 3 jours, puis une légère augmentation jusqu'à atteindre un plateau situé à 200 mg/l au bout de 6 jours. Dans le cas de la souche *S. pasteurii*, aucune activité bactérienne n'est détectée au cours des 12 jours d'expérience.

D'après les Figure 3- 3.c et Figure 3- 4.c, les deux souches présentent des comportements similaires en présence de C8G et C10G. Les glucosides semblent inhiber la respiration des bactéries. On note une très faible augmentation au bout de 7 jours avec A2-3 (Figure 3- 3.c) mais celle-ci n'est pas significative.

Pour les deux souches, la présence des tensioactifs C8G, C10G et GlucoPON (Figure 3- 3.b,c et Figure 3- 4.b,c) semble inhiber la respiration des bactéries. Pour rappel, le GlucoPON est un mélange des APGs : C8G, C10G, C8M et C10M. La présence de C8G et de C10G dans la formulation du GlucoPON explique l'inhibition de la respiration bactérienne en présence de ce dernier (Figure 3- 3.b et Figure 3- 4.b).

De plus, pour les deux souches, les tensioactifs (en plus de la saponine) menant à une respiration bactérienne supérieure ou égale au témoin sont les trois maltosides (C8M, C10M et C12M). D'après les Figure 3- 3.d et Figure 3- 4.d, les maltosides donnent lieu à une augmentation de la consommation en oxygène assez rapide dès le début de l'expérience, suivie d'une consommation plus importante que pour l'expérience témoin. On peut noter que l'augmentation est d'autant plus importante que la chaîne carbonée est petite. En effet, pour le C12M un plateau est observé vers 600 mg/L au bout de 2-3 jours (pour les deux souches).

En présence de C10M, la valeur atteinte pour la souche A2-3 (Figure 3- 3.d) est environ 1200 mg/L au bout de 6 jours, et 800 mg/l au bout de 2/3 jours pour *S. pasteurii* (Figure 3- 4.d). En présence de C8M, l'augmentation est rapide jusqu'à un plateau situé à 2000 mg/l au bout de 5 jours pour A2-3. Pour *S. pasteurii*, la courbe n'atteint pas de plateau mesurable dans les 12 jours et dépasse la valeur de 4000 mg/l au bout de 9 jours. L'activité bactérienne semble dépendre de la longueur de la chaîne carbonée.

De plus, en présence d'APG maltosides, aucun effet bactéricide ou inhibiteur n'est constaté, contrairement aux expériences en présence des APG glucosides. Il apparaît que le nombre de motifs glucose dans la structure moléculaire des APGs est déterminant pour sa compatibilité avec les bactéries : la respiration bactérienne est quasi nulle avec un seul motif de glucose et importante avec deux motifs de glucose. La structure des APGs a donc un effet sur le comportement des bactéries.

L'effet de la longueur de la chaîne carbonée doit être nuancé car les expériences ont été menées à des concentrations de tensioactif égales aux CMC respectives, et donc différentes selon les tensioactifs. Ainsi, les concentrations utilisées étaient respectivement 0,1 g/l, 0,9 g/l, et 9 g/l pour C12M, C10M et C8M. Et d'après les valeurs de DCO dans le chapitre 2 paragraphe 1.4.1, pour les expériences avec le tensioactif C8M, la quantité massique introduite est au moins 2 fois plus importante que pour les expériences avec C10M, et presque 4 fois plus importante que pour les expériences avec C12M.

Ainsi, si les tensioactifs ne sont pas bactéricides ou inhibiteurs, leur présence ajoute une source de carbone supplémentaire disponible pour les bactéries. Les bactéries croissent tant qu'il y a une source de nutriments disponible, cela implique donc une respiration bactérienne plus importante en présence de ces tensioactifs. Dans ce cas-là, les bactéries utilisent ces tensioactifs comme nutriment, elles les consomment. On peut alors se demander comment elles les consomment. Une question intéressante, et qui pourrait s'avérer utile dans certains contextes applicatifs, serait de savoir comment sont dégradés les tensioactifs et si les sous-produits

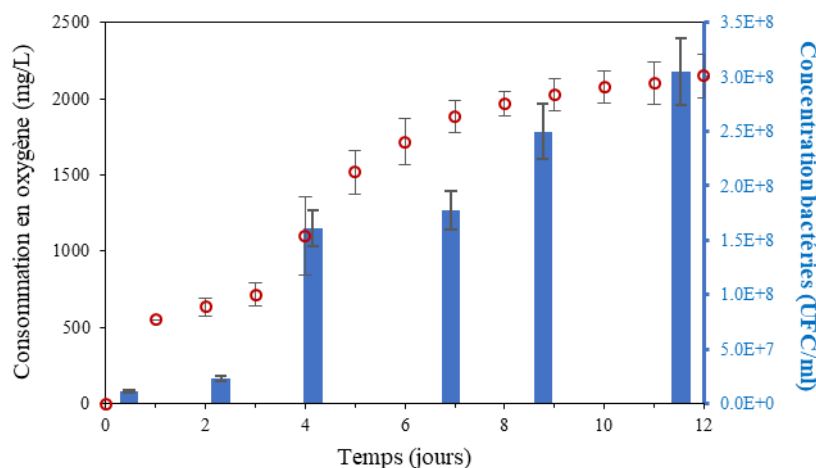
possèdent des propriétés moussantes. La nature des sous-produits des tensioactifs sera partiellement élucidée par chromatographie dans la partie 4 de ce chapitre.

Les mesures des pH, présentées dans la Figure 3- 5, montrent que la majorité des solutions en présence de tensioactifs restent basiques ( $\text{pH} > 7$ ). De ce fait, puisque le pH reste basique, il sera à priori possible de précipiter des  $\text{CaCO}_3$ . L'expérience en présence de C8M avec la souche *S. pasteurii*, qui fait apparaître un pH de 5,6, est une exception qui pourrait être un problème pour la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . Toutefois, si on ajoute de l'urée dans le milieu, non présent dans ces expériences et indispensable pour la précipitation par *S. pasteurii*, cette souche est capable par son métabolisme d'augmenter le pH par l'hydrolyse de l'urée<sup>1</sup>. L'obtention d'un pH final de 5,6 n'est donc pas rédhibitoire.

La Figure 3- 5 montre également la concentration en bactéries (CFU/ml) en début et en fin d'expérience comparée au témoin. La valeur initiale pour le témoin est la même qu'en présence de tensioactifs, étant donné que l'on part du même inoculum. Pour les deux souches (Figure 3- 5.c et 5.d) en présence de saponine, les valeurs de concentration en bactéries augmentent de la même façon que les témoins entre le début et la fin des expériences de DBO. Il en est de même pour les expériences avec A2-3 en présence de C8M et de C10M. En présence de C12M et de Glucopon, le nombre de bactéries A2-3 n'évolue pas significativement. Tandis qu'en présence de C8G pour *S. pasteurii*, la concentration en bactérie diminue d'un facteur environ 100. Dans le cas du Glucopon, on se trouve au-dessus de la concentration minimale inhibitrice (CMI) mais en dessous de la concentration minimale létale (CML). En effet, l'expérience de DBO (Figure 3- 3.b et Figure 3- 4.b) montre peu, voir pas d'activité bactérienne en présence de glucocon, ce qui indique que les bactéries sont inactives et le dénombrement bactérien après l'expérience montre que les bactéries sont capables de se développer lorsqu'elles retrouvent des conditions plus favorables, c'est-à-dire sans glucocon (Figure 3- 5.c et d). Dans le cas de C8G, on se trouve au-dessus de la CML : les bactéries ne sont plus capables de se développer lorsqu'elles se retrouvent sans C8G (Figure 3- 5.d). Ces résultats sont cohérents avec les courbes obtenues par respirométrie (DBO). En revanche, la concentration en bactéries *S. pasteurii* diminue beaucoup en présence de C8M et de C10M alors qu'elle augmente en présence de C12M. Ces derniers résultats sont étonnants et ne correspondent pas aux conclusions apportées par les expériences de DBO.



Pour être sûre des résultats précédents et pour comprendre ce qu'il se passe tout le long des expériences de DBO, nous avons cherché à faire un suivi de la concentration en bactérie en parallèle des expériences de DBO. Une première expérience est effectuée avec la souche A2-3 en présence de saponine en faisant des prélèvements tous les 2/3 jours afin de déterminer le nombre de bactéries par dénombrement sur gélose. La comparaison entre la concentration en bactéries et la consommation en oxygène est présentée dans la Figure 3- 6.



*Figure 3- 6. Comparaison du suivi de l'activité bactérienne de la souche A2-3 (ronds rouges) en présence de saponine à ICMC et de l'évolution de la concentration en bactéries (barres bleues) au cours du temps.*

Les résultats montrent que la concentration en bactéries suit la même dynamique que la respiration bactérienne. En effet, le nombre de bactéries augmente en même temps que la consommation en oxygène. Le nombre de bactéries augmente doucement entre 0 et 2 jours, tout comme la consommation en oxygène. Puis on observe un saut dans la concentration en bactéries au bout de 4 jours, ce qui justifie l'accroissement de la respiration. On peut supposer que la concentration en bactéries atteint un plateau au-delà de 12 jours, alors que la respiration bactérienne ralentit. Il y a une bonne corrélation entre l'activité bactérienne et la croissance des bactéries. Il est donc possible d'étudier plus simplement l'effet des tensioactifs en traitant uniquement la croissance bactérienne. Mais le suivi de la concentration des bactéries en même temps que les expériences de DBO nécessitent une lourde préparation. D'autant plus que les appareils de respirométrie permettent de lancer uniquement 4 expériences différentes, dont un témoin, en même temps.

En considérant les valeurs finales du pH et l'activité bactérienne comparée au témoin (Tableau 3- 2), notre étude nous permet de sélectionner les tensioactifs C8M, C10M, saponine et C12M comme potentiellement compatibles avec les souches A2-3 et *S. pasteurii*.

Tableau 3- 2. Récapitulatif des résultats obtenus dans l'étude de l'activité bactérienne des souches A2-3 et *S. pasteurii* en présence des tensioactifs saponine, GlucoPON, C8G, C8M, C10G, C10M et C12M. Code des symboles : = : proche de la courbe témoin ; + : bien supérieure à la courbe témoin ; - : inférieure à la courbe témoin.

A2-3	Activité bactérienne	pH final	SP	Activité bactérienne	pH final
Témoin	=	<b>Basique</b>	Témoin	=	<b>Basique</b>
Saponine	+	<b>Basique</b>	Saponine	=	<b>Basique</b>
GlucoPON	-	<b>Basique</b>	GlucoPON	-	<b>Basique</b>
C8G	-	<b>Basique</b>	C8G	-	<b>Basique</b>
C10G	-	<b>Basique</b>	C10G	-	<b>Basique</b>
C8M	+	<b>Basique</b>	C8M	+	<b>Acide</b>
C10M	+	<b>Basique</b>	C10M	=	<b>Basique</b>
C12M	=	<b>Basique</b>	C12M	=	<b>Basique</b>

Par ailleurs, le surcroît d'activité bactérienne observé en présence de ces tensioactifs suggère qu'ils sont une des sources de nutriments pour les souches bactériennes. Ce sont les formulations basées sur ces tensioactifs que nous allons étudier par la suite. Les tensioactifs tels que les poly glucosides (un seul motif de glucose) ne sont pas compatibles pour un développement bactérien des souches A2-3 et *S. pasteurii*.

Cette étude a été effectuée pour des concentrations égales à 1CMC, qui représente la concentration minimale pour produire de la mousse stable dans le temps. L'idéal serait de pouvoir formuler des mousses bactériennes à partir de solutions plus concentrées en tensioactifs. Pour approfondir ce premier travail, nous allons étudier la croissance bactérienne en présence de tensioactifs pour des concentrations plus élevées. Pour simplifier, augmenter le nombre d'essais en simultané et obtenir des courbes plus complètes, nous avons choisi de suivre la croissance en présence des tensioactifs en travaillant sur microplaque et de suivre leur

croissance par densité optique pour la suite des travaux. En effet la densité optique d'une suspension bactérienne est proportionnelle à la concentration en bactéries.

### **3. Effet de la concentration en tensioactifs sur la croissance des bactéries**

Pour réaliser une étude systématique de l'impact de la concentration en tensioactifs, nous avons suivi la croissance bactérienne par la densité optique sur microplaque des suspensions de A2-3 et *S. pasteurii*. Nous avons fait le choix de tester tous les tensioactifs (C8G, C10G, C8M, C10M, C12M, GlucoPON et saponine) afin de valider les conclusions précédentes et les concentrations sont fixés à 1, 2 et 5CMC de manière à se rapprocher des conditions probables dans lesquelles les bactéries seront au sein de la mousse.

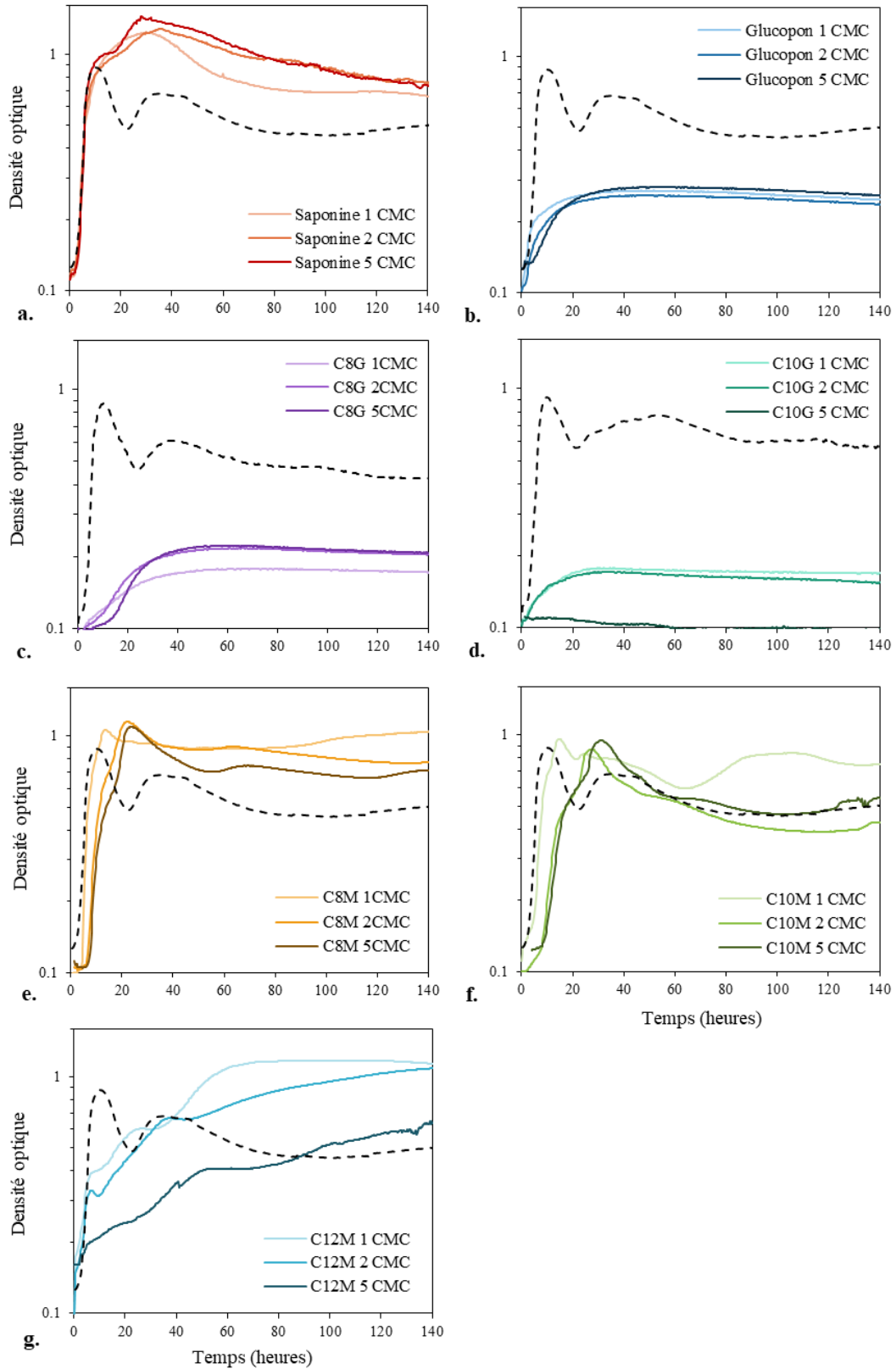


Figure 3- 7. Densité optique mesurée au cours du temps des suspensions de A2-3 en présence de tensioactifs a. Saponine ; b. Glucocon ; c. C8G ; d. C10G ; e. C8M ; f. C10M ; g. C12M aux concentrations 1, 2 et 5CMC par microplaques. Les courbes noires discontinues correspondent aux courbes témoin.

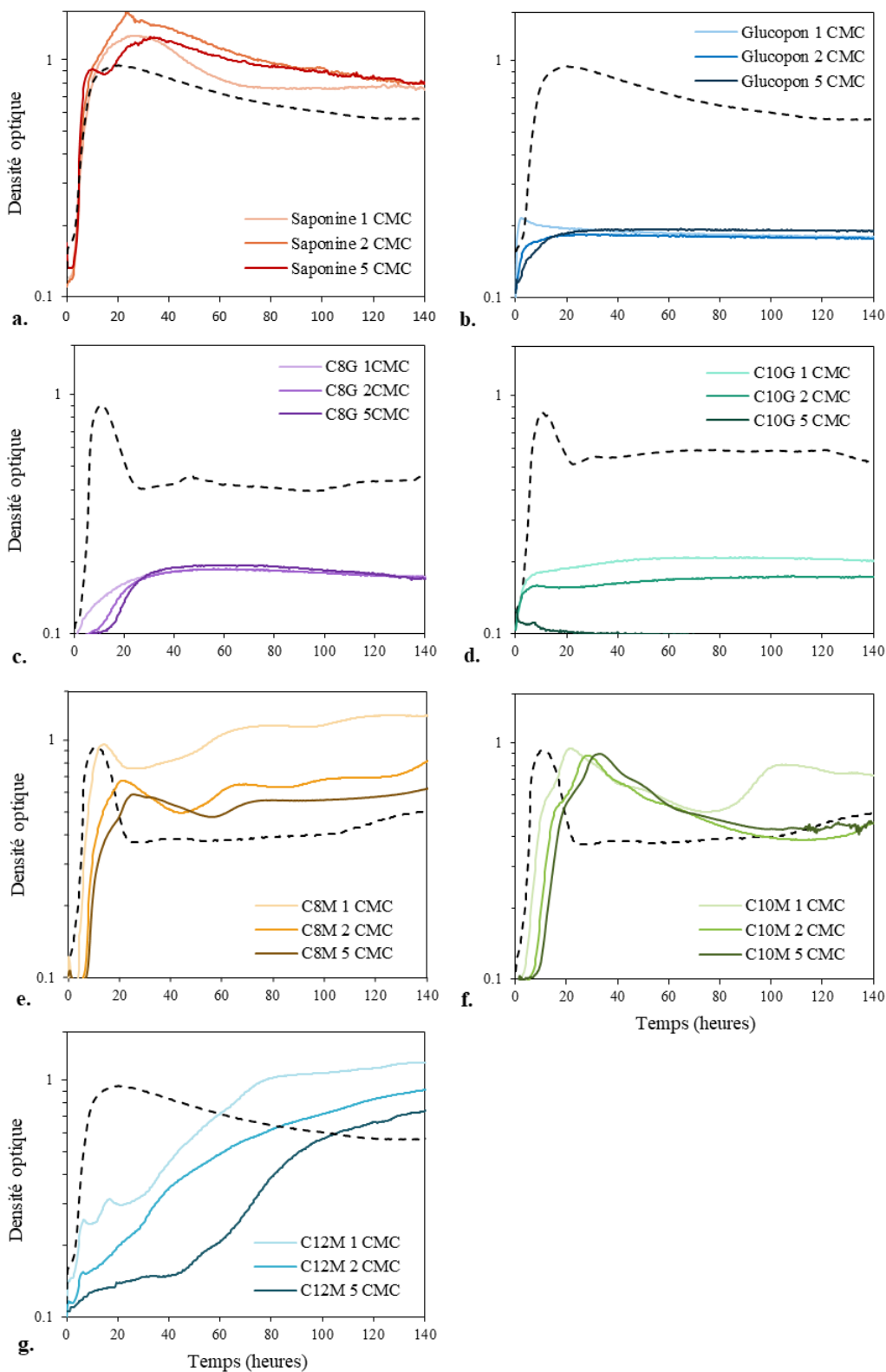


Figure 3- 8. Densité optique mesurée au cours du temps des suspensions de *S. pasteurii* en présence de tensioactifs a. Saponine ; b. Glucopon ; c. C8G ; d. C10G ; e. C8M ; f. C10M ; g. C12M aux concentrations 1, 2 et 5CMC par microplaques. Les courbes noires discontinues correspondent aux courbes témoin.

Pour aider à appréhender les résultats présentés sur les deux figures précédentes, les valeurs de temps de latence, de densité optique maximale ( $DO_{max}$ ) et de vitesse de croissance adimensionnée par la vitesse de croissance témoin  $V/V_{tem}$  ont été tracées dans la Figure 3- 9 pour chaque concentration en tensioactifs C8M, C10M et saponine. Les expériences en présence de C12M, C8G, C10G et GlucoPON ne sont pas représentées dans la Figure 3- 9, car les courbes ne présentent pas une allure classique de croissance bactérienne. Les valeurs à 0CMC correspondent aux valeurs moyennes de deux expériences témoin.

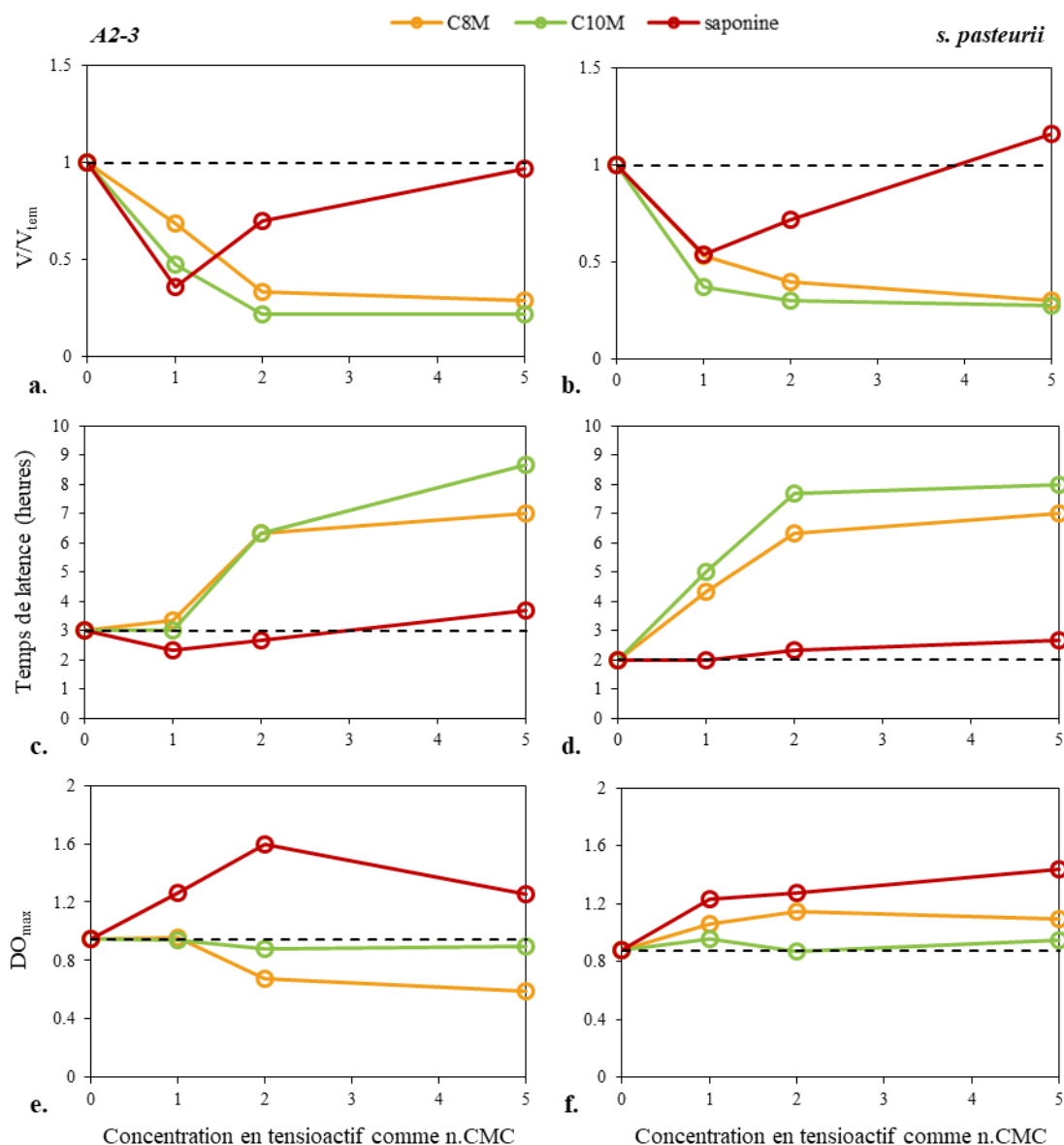


Figure 3- 9 : Valeurs des vitesses normalisées (a,b), des temps de latence (c,d) et des densité optique ( $DO$ ) maximale (e,f) en fonction de la concentration en tensioactifs extraites des courbes de croissance des souches *A2-3* (a,c,e) et *S. pasteurii* (b,d,f). Les courbes en pointillé représentent la moyenne des valeurs des courbes témoin.

D'après les figures Figure 3- 7 et Figure 3- 8, les souches *A2-3* et *S. pasteurii* ont des comportements globalement similaires en termes de vitesse de croissance et de temps de latence pour les mêmes tensioactifs. Les courbes de la Figure 3- 7.a indiquent que la croissance bactérienne de la souche *A2-3* ne dépend quasiment pas de la concentration en saponine, avec un temps de latence et une première phase de croissance identiques au témoin. L'écart au témoin est notable après une durée de l'ordre de la dizaine d'heures, où la valeur maximale de densité optique 1,3 contre 0,9 pour le témoin. Pour *S. pasteurii*, on constate que la concentration en saponine (Figure 3- 8.a) augmente la pente de la croissance exponentielle, le temps de latence étant inchangé. De plus, la valeur de la densité optique maximale augmente de 1 à 1,6 lorsque la concentration augmente entre 0 et 2CMC (Figure 3- 9). Les courbes à 5CMC n'ont pas la même forme que pour les autres concentrations. En effet, on peut observer une croissance en deux temps qui pourrait s'apparenter au phénomène de croissance diauxique<sup>21</sup>. Ce phénomène s'explique par l'utilisation successive de 2 sources de carbone ou plus (voir chapitre 1). Cela indiquerait que les bactéries utilisent la saponine comme nutriments en plus du BN. Néanmoins, la densité optique maximale atteinte est la même que pour 1CMC (environ 1,3) avec un retard de 10h.

En présence d'APG commercial ou des glucosides C8G et C10G (Figure 3- 7.b,c,d et Figure 3- 8.b,c,d), la croissance bactérienne des souches *A2-3* et *S. pasteurii* ne dépasse pas 0,2 en valeur de densité optique. On peut tout de même remarquer une faible influence de la concentration en tensioactifs sur la vitesse de croissance : plus elle est importante, plus la vitesse de croissance bactérienne est faible.

En présence de maltosides, les souches *A2-3* et *S. pasteurii* se comportent de façon similaire. Sur les figures Figure 3- 7.e,f,g et Figure 3- 8.e,f,g, on remarque à la fois une augmentation de la durée de la phase de latence et une diminution de la densité optique maximale lorsque la concentration en tensioactifs augmente. Ces effets sont très marqués pour C12M. Le comportement global induit par ce dernier se distingue d'ailleurs des autres tensioactifs : il y a une première phase que l'on pourrait qualifier de « classique », avec un temps de latence qui augmente et une densité optique maximale locale qui diminue avec la concentration, mais ensuite la densité optique ré-augmente très légèrement, d'autant moins que la concentration est importante. Cela ressemble à une croissance diauxique, néanmoins la vitesse de croissance reste très lente. En fin d'expérience (au bout de 140h), les valeurs de densité optique atteignent 1,12, 0,9 et 0,75, ce qui est comparable à la valeur mesurée pour le témoin : 0,95 au bout de 20h.

Pour les tensioactifs C8M et C10M (Figure 3- 7.e,f et Figure 3- 8.e,f), l'effet de l'augmentation de la concentration en tensioactifs est faible. Le temps de latence et la vitesse de croissance ne diminuent que légèrement avec l'augmentation de la concentration. En présence de C10M (Figure 3- 9), la densité optique est très peu impactée par l'augmentation de la concentration des tensioactifs, la valeur moyenne étant  $DO = 0,9$ . Néanmoins, les résultats de l'expérience avec *S. pasteurii* et C8M (Figure 3- 8.e et Figure 3- 9) montrent une diminution de la densité optique avec l'augmentation de la concentration. La même expérience réalisée avec A2-3 (Figure 3- 7.e et Figure 3- 9) montre, au contraire, une légère augmentation de la densité optique avec la concentration en C8M. On peut également remarquer que pour toutes les concentrations, il y a une croissance en deux temps. Les bactéries des souches A2-3 et *S. pasteurii* utiliseraient donc les tensioactifs en plus du BN.

L'effet de la concentration en tensioactif sur la croissance bactérienne est synthétisé sur la Figure 3- 9. Globalement, on remarque quatre types de comportements :

- Dans le cas de la saponine, l'augmentation de la concentration en tensioactif favorise la croissance bactérienne.
- Les glucosides et le GlucoPON ont un effet inhibiteur qui s'intensifie avec la concentration en tensioactifs.
- En présence des maltosides C8M et C10M, l'augmentation de la concentration en tensioactifs affecte principalement le temps de latence. La présence de ces tensioactifs inhibe la croissance bactérienne pendant une petite dizaine d'heures et ceci est d'autant plus marqué lorsque la concentration en tensioactifs est plus importante.
- Dans le cas du C12M, les courbes obtenues sont difficiles à interpréter car elles n'ont pas une allure typique de croissance bactérienne. Ce qu'il faut retenir, c'est que la vitesse globale de croissance est très lente. En effet, il faut plus de 4 jours pour atteindre des valeurs de DO s'approchant de 0,9. Les souches ont besoin de plus de temps pour s'adapter à la présence de C12M dans le milieu.

Au vu des résultats, les expériences de microplaques en présence de saponine et des maltosides C8M et C10M sont cohérents avec les résultats obtenus dans l'étude de l'activité bactérienne. La saponine, le tensioactif C8M et C10M sont bien compatibles avec les souches A2-3 et *S. pasteurii*. On peut ajouter que ces tensioactifs restent compatibles avec les souches



bactériennes même pour des concentrations en tensioactifs égales à plusieurs fois la CMC. Dans le cas de C8M et C10M, l'augmentation du temps de latence n'est pas critique (entre 3 et 10h). Par contre, les résultats montrent que la croissance est ralentie en présence de C12M. Il faudrait attendre plusieurs jours (plus de 3 jours) pour avoir une concentration en bactéries équivalente à  $DO = 1$ . Le tensioactif C12M est donc écarté pour la suite de l'étude.

Les résultats des expériences en présence de glucosides et de Glucocon sont cohérents avec les résultats de la partie 3. Ces tensioactifs inhibent la croissance bactérienne des deux souches. C8G, C10G et le Glucocon restent considérés comme non compatibles avec les souches A2-3 et *S. pasteurii*.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus par suivi de croissance affinent les résultats obtenus par respirométrie. L'augmentation de la concentration en tensioactifs freine globalement la croissance des bactéries des souches A2-3 et *S. pasteurii* excepté dans le cas de la saponine. Mais cet effet de la concentration est plus ou moins marqué en fonction du tensioactif utilisé. Alors que la présence de C8G, C10G et glucocon inhibe complètement la croissance bactérienne lorsque la concentration augmente, seul un ralentissement de la croissance est observé en présence de C8M et de C10M, ce qui les maintient dans le groupe des tensioactifs compatibles avec les deux souches, en plus de la saponine.

En prenant en compte les paramètres de temps de latence, de densité optique maximale et la stabilité d'une mousse, la concentration optimale en tensioactifs pourrait être 2CMC ou 5CMC. Pour des raisons pratiques, nous choisissons la concentration à 2CMC pour continuer les expériences de bio-calcification.

Maintenant que l'impact des tensioactifs sur les souches A2-3 et *S. pasteurii* est connu, on peut se demander comment les bactéries interagissent avec les tensioactifs dits compatibles. En effet, les tensioactifs apportent une source de nutriment supplémentaire, qui a l'air d'être utilisé par les bactéries (croissance diauxique). Si elles les utilisent, comment les dégradent-elles ? Et est-ce que la concentration en tensioactifs diminue au point de déstabiliser une mousse ? Nous allons nous intéresser à ces questions dans la partie suivante.

## **4. Etude de la consommation des tensioactifs par les bactéries.**

La chromatographie liquide haute performance est une technique d'analyse qui permet de séparer et quantifier les différents composés d'un mélange. Dans cette étude, les suspensions bactériennes contiennent les différents tensioactifs, mais également du Bouillon Nutritif (BN) dont la composition est aussi un mélange. Etant donné la complexité des solutions que l'on veut analyser, la chromatographie semble être un bon choix pour bien séparer les différents composés et les quantifier.

Etant donné la différence de structure moléculaire des Alkyl Poly glucosides (APG) et des saponines, deux protocoles de séparation sont nécessaires.

Les échantillons analysés correspondent aux échantillons de fin d'expérience de respirométrie (paragraphe 2), soit 14 jours après la mise en contact des bactéries avec les tensioactifs. Les triplicatas ont été regroupés. Chaque échantillon est conservé au frigo et filtré à 0,45 $\mu$ m avant analyse.

### 4.1. Saponine

Le protocole employé pour analyser les échantillons contenant la saponine correspond au protocole détaillé dans le paragraphe 4.3.1 du chapitre 2.

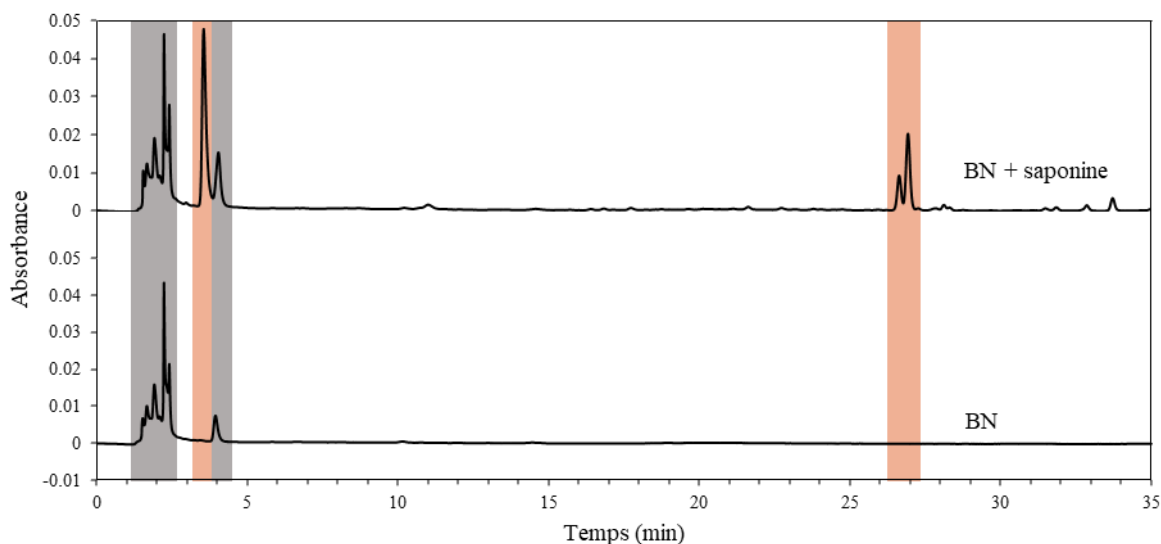


Figure 3- 10. Chromatogrammes du bouillon nutritif (BN) à 0,88g/l à pH8 (en bas) et de la Saponine à 4g/l dans du BN à 0,88g/l à pH8 (en haut) en CLHP ( $V_{inj}$  50 $\mu$ l). Les bandes grises montrent les pics associés au BN et les bandes rouges montrent les pics suffisamment intenses associés à la saponine.

D'après la Figure 3- 10, on peut déterminer plusieurs pics associés au BN et plusieurs pics associés à la saponine. En effet, on sait que le BN est composé de plusieurs protéines et autres constituants (cf. chapitre 2), cela explique les nombreux pics obtenus lors de l'analyse chromatographique.

La méthode permet néanmoins de différencier les pics associés à la saponine de ceux associés au BN. Les pics du BN apparaissent entre 1 min et 3 min et à environ 4 min. En présence de saponine, les pics apparaissent à 3,5 min, à 26,6 min et 26,9 min. Le pic à 3,5 min est intense mais proche du pic du BN, ils ne sont pas très bien séparés. Les pics à 26,6 min et 26,9 min sont moins intenses et proches l'un de l'autre. Il est possible de suivre l'aire de ces deux derniers pics en fonction de la saponine au cas où ils ne seraient pas bien séparés. D'autres pics plus faibles en intensité apparaissent lors de l'analyse mais sont trop petits pour être exploités.

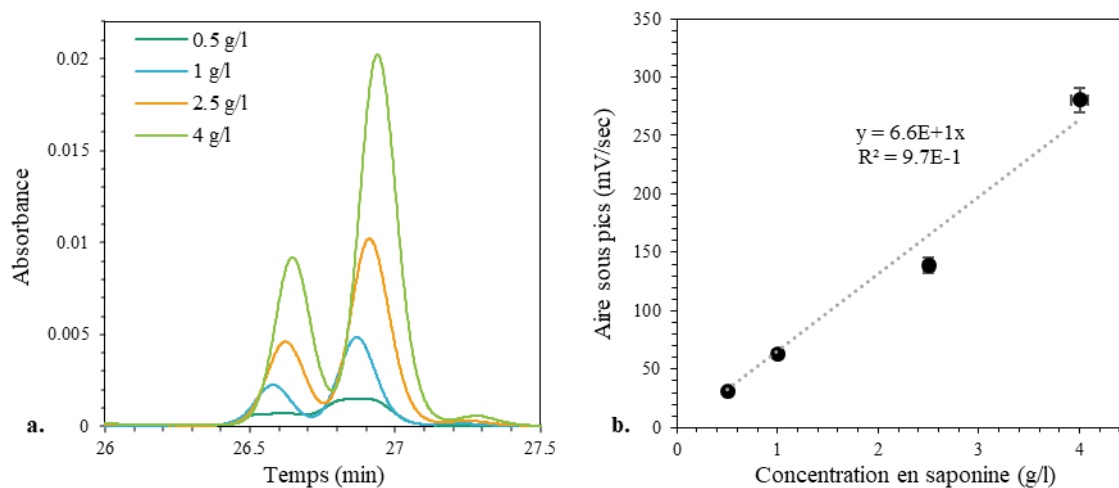


Figure 3- 11. a. Variation des pics caractéristiques de la saponine à 26,6 et 26,9 min en fonction de la concentration de la saponine b. Courbe d'étalonnage construite à partir de l'aire sous les pics à  $t_r = 26,6$  et  $26,9$  min en CLHP en fonction de la concentration en Saponine (chaque point correspond à la moyenne de 3 mesures).

Afin d'établir la courbe d'étalonnage de la saponine dans le bouillon nutritif, on mesure l'aire sous les deux pics à 26,6 et 26,9 min pour plusieurs concentrations en saponine. On peut alors construire la courbe d'étalonnage représentée dans la Figure 3- 11.b. Pour calculer la concentration de la saponine dans les échantillons, l'équation à utiliser est la suivante, où la concentration est exprimée en g/L et l'aire en mV/s :

$$A_{pics:26,6/26,9min} = 6,6 \cdot 10^1 \times [saponine]$$

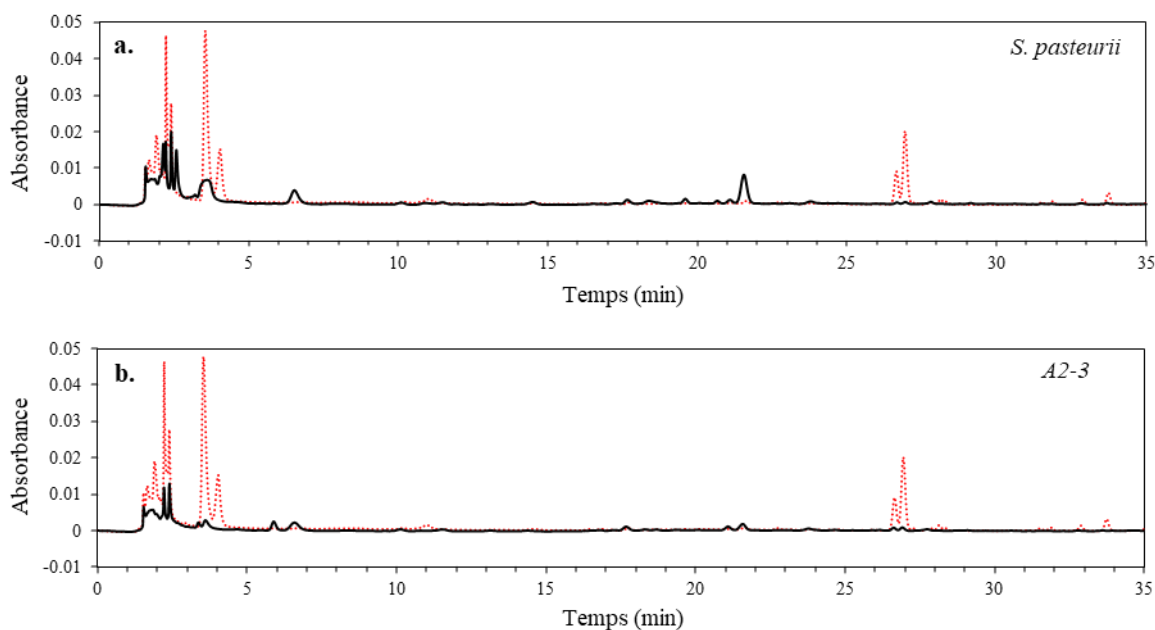


Figure 3- 12. Chromatogrammes des échantillons provenant des expériences de DBO. Contact des tensioactifs avec les bactéries pendant 14 jours. a. échantillon avec *S. pasteurii* ; b. échantillon avec A2-3. Les courbes rouges pointillées correspondent aux échantillons au temps initial.

Dans la Figure 3- 12, les chromatogrammes montrent que les pics du BN et de la saponine ont vu leur intensité diminuer significativement après 14 jours de contact avec les deux souches *S. pasteurii* et de A2-3. Cette première observation indique que les bactéries se sont nourries du BN et de la saponine. De plus, de nouveaux pics apparaissent après 14 jours. Cela suggère que les bactéries ont produit des déchets mais nous ne pouvons pas déterminer leur nature avec ces chromatogrammes comme seules analyses. La seule chose qui peut être avancée à ce stade est que les deux souches ne produisent pas exactement les mêmes déchets : les nouveaux pics ne sont pas les mêmes dans la Figure 3- 12.a et la Figure 3- 12.b.

Ces chromatogrammes montrent également que les pics des produits apparus après 14 jours n'interfèrent pas avec les pics de la saponine à 26,6 et 26,9 min. La concentration de la saponine peut alors être quantifiée à partir de l'aire sous ces pics (à 26,6 et 26,9 min) et à partir de l'équation donnée par la courbe d'étalonnage dans la Figure 3- 11.b.

Tableau 3- 3. Caractéristiques des pics observés sur les différents chromatogrammes de la Figure 3-12. Les concentrations sont calculées à partir des aires sous pics et des équations des courbes d'étalonnage vu dans la Figure 3- 11.b.

Echantillon	Temps de rétention $t_r$ (min)	Aire sous pics (mV*s)	Concentration finale (g/l)	Concentration initiale (g/l)
<i>S. pasteurii</i>	26.667 et 26.945	10.07	0.15	3
A2-3	26.616 et 26.911	17.08	0.26	3

Pour les expériences effectuées en présence de *S. pasteurii* et A2-3, la saponine a atteint respectivement une concentration de 0,15 g/l et 0,26 g/l (Tableau 3- 3), soit une diminution de 95% et 91% de la concentration par rapport à l'état initial. Ces concentrations finales représentent 0,05CMC et 0,09CMC (CMC = 3g/l pour la saponine). En présence de la souche *S. pasteurii*, la concentration en saponine a diminué presque 2 fois plus qu'en présence de la souche A2-3.

D'après ces résultats, les bactéries consomment la quasi-totalité de la saponine introduit initialement. Cela explique la forte croissance, observée dans le paragraphe 3, des bactéries en présence de ce tensioactif.

#### 4.2. APGs

Le protocole employé pour analyser les échantillons contenant des APGs correspond au protocole détaillé dans le paragraphe 4.3.2 du chapitre 2.

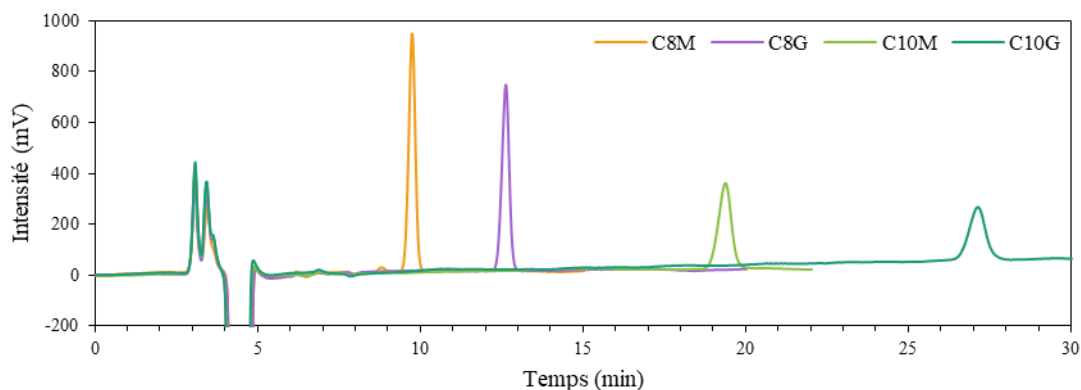


Figure 3- 13. Chromatogrammes des échantillons contenant du bouillon nutritif (BN) à pH8 à la concentration 0.88g/l et les tensioactifs C8M à 1.5g/l (orange), C8G à 1.25g/l (violet), C10M à 0.9g/l (vert) et C10G à 1g/l (turquoise). Chaque courbe est une moyenne de trois courbes. Les temps de rétention 9.8min, 12.7min, 19.4min et 27.1min sont attribués respectivement aux tensioactifs C8M, C8G, C10M et C10G. Les temps de rétention 3 et 3.4min sont attribués au BN pH8.

D'après les chromatogrammes présentés dans la Figure 3- 13, les différents APGs sont séparés de façon très efficace et les pics du BN, à 3 et 3,4 min, n'interfèrent pas. Il est donc possible d'attribuer facilement un temps de rétention à chaque APG. Les tensioactifs C8M, C8G, C10M et C10G ont pour temps de rétention 9,8 min, 12,7 min, 19,4 min et 27,1 min respectivement.

Une fois les composés identifiés et détectés, il est possible d'établir une courbe d'étalonnage pour chaque composé en relevant l'aire sous les pics pour différentes concentrations.

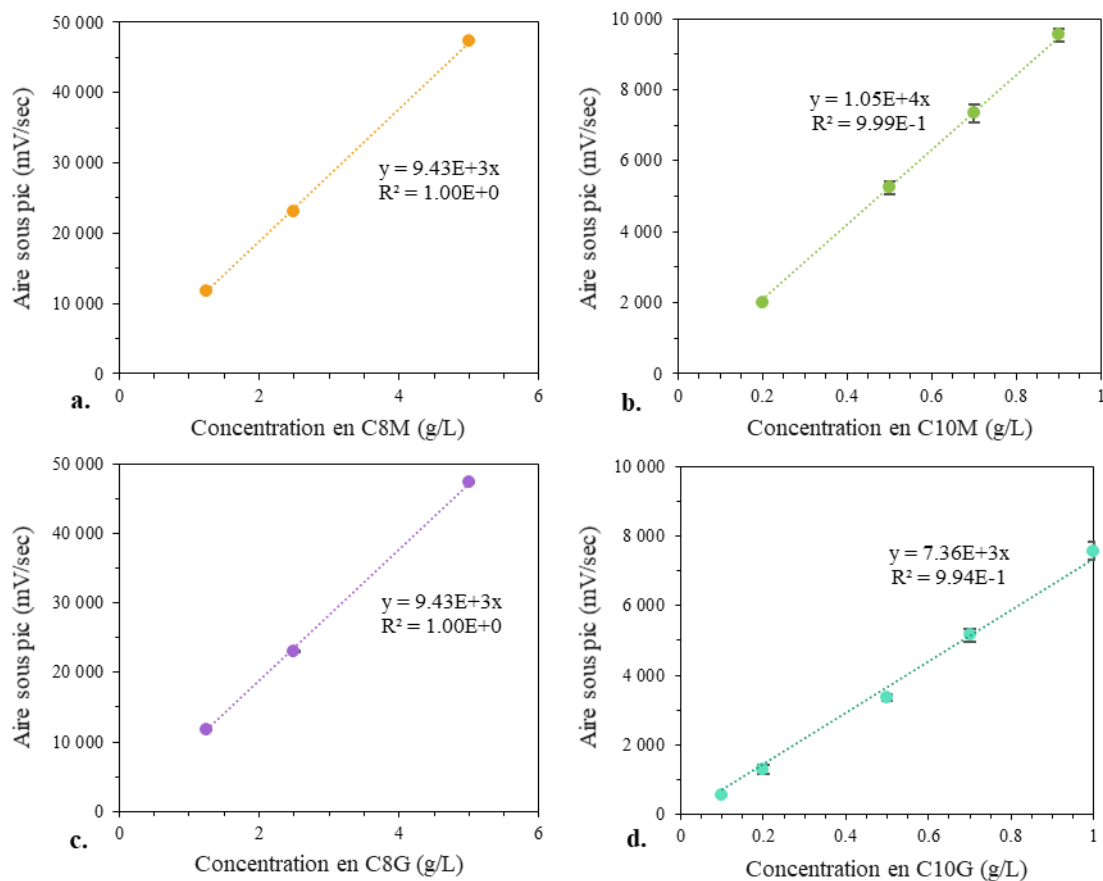


Figure 3- 14. Courbes d'étalonnage de chaque tensioactif : a. C8M, b C10M, c. C8G, d. C10G dans du BN pH8. Chaque point correspond à une moyenne de trois points. Les courbes en pointillés correspondent aux droites d'étalonnage dont l'équation et le  $R^2$  est indiqué sur les graphes correspondant avec  $y$  : aire sous pic (mV/sec) et  $x$  : concentration en tensioactif (g/l).

Les courbes d'étalonnage répertoriées dans la Figure 3- 14 seront utilisées dans le prochain paragraphe pour comparer les aires sous pic des différents échantillons et ainsi quantifier les tensioactifs.

Pour calculer la concentration des tensioactifs à partir des aires sous pic, les équations à utiliser sont les suivantes, où les concentrations sont exprimées en g/L et les aires en mV/s :

$$A_{pic:9.8min} = 9,43. 10^3 \times [C8M]$$

$$A_{pic:12,7min} = 9,43. 10^3 \times [C8G]$$

$$A_{pic:19,4min} = 1,05. 10^4 \times [C10M]$$

$$A_{pic:27,1min} = 7,36. 10^3 \times [C10G]$$



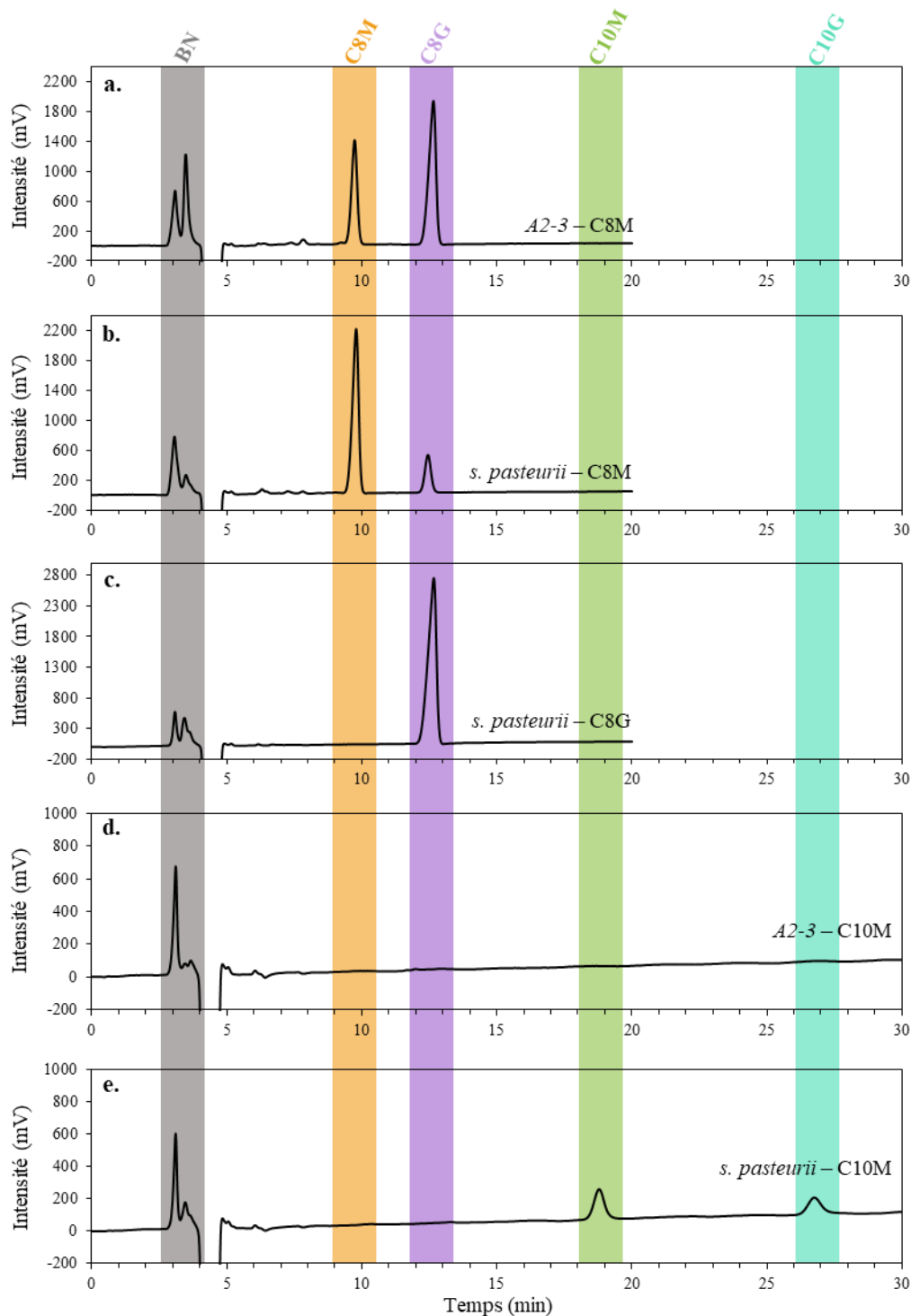


Figure 3- 15. Chromatogrammes des échantillons provenant des expériences de DBO. Contact des tensioactifs avec les bactéries pendant 14 jours. a. échantillon C8M avec A2-3 ; b. échantillon C8M avec *S. pasteurii* ; c. échantillon C8G avec *S. pasteurii* ; d. échantillon C10M avec A2-3 ; e. échantillon C10M avec *S. pasteurii*. Les bandes de couleurs grise, orange, violet, vert et turquoise correspondent aux temps de rétention associés au BN et aux tensioactifs C8M, C8G, C10M et C8G respectivement.

En comparant les chromatogrammes des échantillons (Figure 3- 15) avec ceux du BN et des tensioactifs de la Figure 3- 14, on peut s'apercevoir que les pics analysés dans les échantillons correspondent aux tensioactifs et au BN. Tous les échantillons analysés montrent la présence de BN à partir des pics aux temps de rétention à 3,1 et environ 3,4min.

En présence de C8M initialement (Figure 3- 15.a,b), on peut observer un pic pour un temps de rétention de 9,7 (souche A2-3) et 9,8min (souche *S. pasteurii*) correspondant au temps de rétention du tensioactif C8M. Un deuxième pic apparaît à 12,7 (souche A2-3) et 12,5 min (souche *S. pasteurii*), qui peut raisonnablement être associé au tensioactif C8G.

Le chromatogramme de l'échantillon *S. pasteurii*-C8G montre que la composition de l'échantillon n'a pas changé, le pic correspondant au C8G n'a pas bougé.

Dans le cas des expériences en présence de C10M, seul le chromatogramme de l'expérience avec la souche *S. pasteurii* a montré des pics pour des  $t_r$  à 18.8 et 26.8min. Ces temps de rétention ( $t_r$ ) devraient correspondre aux tensioactifs C10M et C10G respectivement.

À partir des équations données par les courbes d'étalonnage dans la Figure 3- 14 et de l'aire sous les pics associés, il est possible de calculer la concentration des tensioactifs au bout des 14 jours de contact avec les bactéries. Ces concentrations finales sont répertoriés dans le Tableau 3- 4. On retrouve également les quantités de matière totales des tensioactifs en début et en fin d'expérience.

Tableau 3- 4. Caractéristiques des pics observés sur les différents chromatogrammes de la Figure 3-15. Les concentrations sont calculées à partir des aires sous pic et des équations des courbes d'étalonnage vu dans la Figure 3- 14.

Echantillon	Temps de rétention $t_r$ (min)	Attribution des pics	Aire sous pic (mV.s)	Concentration initial (g/l)	Concentration calculé (g/l) à 14 jours	Quantité de matière initiale (mol/l)	Quantité de matière finale (mol/l)
A2-3_C8M	3,1	BN	7838				
	3,5	BN	10611				
	9,7	C8M	20644	9	2,12	$3,96 \cdot 10^{-4}$	$3,60 \cdot 10^{-4}$
	12,7	C8G	36282	0	3,85		
SP_C8M	3,1	BN	9894				
	3,5	BN	1489				
	9,8	C8M	35596	9	3,78	$3,96 \cdot 10^{-4}$	$2,25 \cdot 10^{-4}$
	12,5	C8G	8173	0	0,87		
SP_C8G	3,1	BN	4289				
	3,4	BN	2573				
	12,7	C8G	58554	6	6,21	$4,10 \cdot 10^{-4}$	$4,25 \cdot 10^{-4}$
SP_C10M	3,1	BN	4852				
	3,5	BN	878				
	18,8	C10M	5228	0,9	0,50	$3,73 \cdot 10^{-5}$	$5,20 \cdot 10^{-5}$
	26,8	C10G	3699	0	0,50		

Dans les cas des expériences en présence de C8M, la concentration du tensioactif atteint 2,12g/l et 3,78g/l avec respectivement A2-3 et *S. pasteurii*, soit une diminution de 76% et 58% de la concentration par rapport à la valeur initiale, tandis que l'apparition de C8G dans le milieu nous donne une concentration de 3,85g/l et 0,87g/l avec les souches A2-3 et *S. pasteurii* respectivement. Il semble que la variation de concentration dans les échantillons avec A2-3 est plus importante qu'avec *S. pasteurii*.

En présence de C10M avec *S. pasteurii*, la concentration finale est de 0,5g/l. Cela correspond à une diminution de 44% par rapport à la concentration initiale. La concentration en C10G au bout de 14 jours est de 0,5g/l également.

À partir des résultats de l'expérience de *S. pasteurii* en présence de C8G, on peut observer que la variation de concentration n'est pas significative. Les pics associés au BN varient très peu également. On peut estimer que les bactéries ont été rapidement inhibées par le C8G et n'ont pas eu le temps de consommer les nutriments du BN.

En présence des autres tensioactifs (C8M et C10M), on s'attendrait à ce que la hauteur de tous les pics du BN diminue à cause de la consommation de ces nutriments par les bactéries. Pourtant, les analyses des échantillons présentant du C10M montrent une augmentation du pic à 3,1min et une diminution du pic à 3,5min. L'augmentation du premier pic peut correspondre à la production de déchets liés à la dégradation des nutriments dont le temps de rétention correspond au deuxième pic à 3,5min. Plus encore, l'absence de pic de C10M ou de C10G dans l'échantillon A2-3\_C10M peut s'expliquer par la hauteur très importante du pic à 3,1 min. Les déchets provenant de la dégradation des tensioactifs ne seraient pas du tout retenus par la colonne. De ce fait, l'augmentation des pics du BN dans les échantillons en présence de C8M peut également provenir de la dégradation du maltoside. De plus, les quantités de matière finales ont des valeurs du même ordre de grandeur que les quantités de matière initiales (Tableau 3-4). La marge d'erreur sur les bilans de matière lié à la préparation des échantillons en début d'expérience est estimée à  $1 \times 10^{-5}$  mol/l. De plus, la quantité de matière provenant du BN n'a pas été pris en compte dans les calculs, on peut donc avoir une sous-estimation du bilan de matière finale dans le cas où on a une augmentation des pics pour  $t_r \sim 3$  min.

Les résultats montrent que la diminution de la quantité de maltosides implique l'apparition et l'augmentation de la quantité des versions glucosides. En effet, il semble que les bactéries dégradent les maltosides en consommant un motif de glucose, ce qui induit la formation des versions glucosides des APG. Au bout de 14 jours, les concentrations finales en glucosides correspondent à 0,6CMC, 0,15CMC et 0,7CMC pour les échantillons A2-3\_C8M, SP\_C8M et SP\_C10M respectivement, ce qui semble suffisamment peu concentré pour ne pas inhiber les bactéries, contrairement à ce que nous avons observé à 1CMC.

### 4.3. Conclusion

Dans cette partie, nous avons montré que la méthode de chromatographie liquide haute performance est adéquate pour détecter et quantifier les tensioactifs saponine, C8G, C8M, C10G et C10M.

Les échantillons provenant des expériences de 14 jours de mise en contact des tensioactifs avec les bactéries ont pu être analysés. Les molécules de saponine sont consommées entre 91 et 95%, tandis que les molécules de maltoside sont dégradées entre 40 et 76% par les bactéries. Cela explique bien les résultats obtenus, dans le paragraphe 2, pour les expériences de DBO :

l'activité bactérienne est plus importante en présence des tensioactifs saponine, C8M et C10M qu'en l'absence de ces tensioactifs car les bactéries ont une activité supplémentaire en consommant ces tensioactifs. Les bactéries sont à priori capable de couper un motif de glucose sur la partie maltose des tensioactifs. Cela implique la formation de la version glucoside des APG. Cependant la concentration en glucosides ne semble pas suffisante pour devenir nocive pour les bactéries.

De plus la durée d'expérience est très longue. Or la souche *S. pasteurii* est connue pour initier rapidement la calcification<sup>58</sup>. Si la précipitation est suffisamment rapide par rapport à la dégradation des maltosides, les bactéries et la précipitation ne seront pas impactés par l'apparition des glucosides. La cinétique de précipitation avec la souche A2-3 n'est pas encore connue.

## 5. Bio-calcification en milieu liquide

Les études précédentes ont permis de déterminer les tensioactifs en présence desquels les souches A2-3 et *S. pasteurii* sont capables de croître. Mais les analyses chromatographiques ont montré que les bactéries sont aussi capables de dégrader ces tensioactifs. Il faut alors s'assurer que la bio-calcification se produit en présence de ces tensioactifs et assez rapidement (en quelques heures) pour éviter les conditions de déstabilisation de la mousse en raison du temps trop long (drainage, coalescence, murissement) ou du manque de tensioactifs. Dans ce paragraphe nous allons étudier la cinétique de calcification en présence des tensioactifs C8M, C10M et saponine pour les deux souches, ainsi que l'effet de la concentration en calcium, et en urée dans le cas de *S. pasteurii*. La concentration optimale en bactérie sera aussi évaluée.

Toutes les expériences sont réalisées en milieu liquide (système qui se rapproche le plus d'une mousse) comme indiqué dans le chapitre 2 paragraphe 2.1.

### 5.1. Cinétique de calcification

Les résultats des mesures de cinétique de précipitation sont présentés dans la Figure 3- 16.

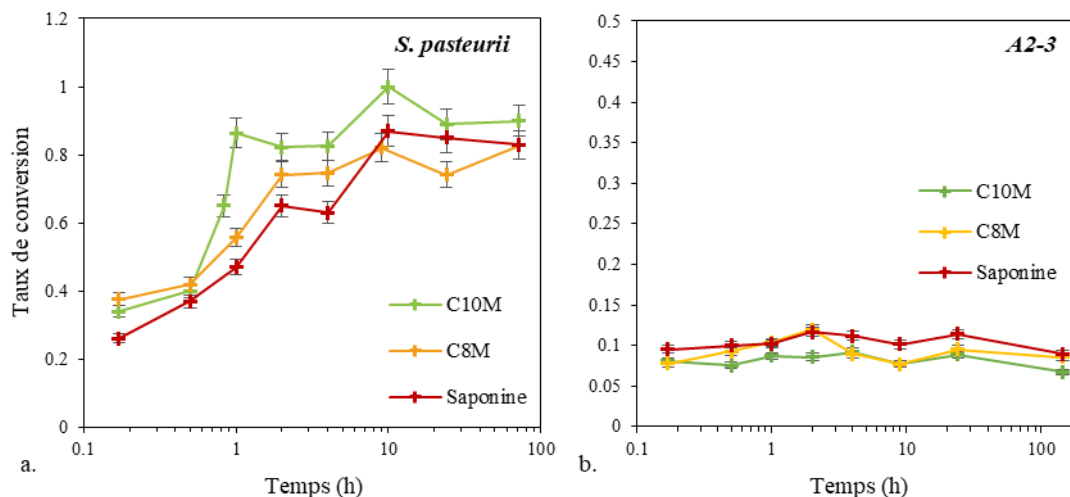


Figure 3- 16. Taux de conversion de l'actétate de calcium en carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) au cours du temps avec les souches a. *S. pasteurii* ( $DO_{\text{initiale}} \approx 2$ ) et b. A2-3 ( $DO_{\text{initiale}} \approx 1,4$ ) en présence de C10M (courbes vertes), de C8M (courbes oranges) et de saponine (courbes rouges). La concentration initiale en Acétate de Calcium est de 0,7 mol/l et la concentration en tensioactifs est fixée à 2CMC pour toutes les expériences. Chaque point représente 3 échantillons. La marge d'erreur est estimée à 5%.

D'après la Figure 3- 16.a, la précipitation en présence de *S. pasteurii* démarre très rapidement : au moins 50% de l'acétate de calcium (AcCa) est converti en  $\text{CaCO}_3$  en 1h, quel que soit le tensioactif. En présence de saponine, de C8M et de C10M, la précipitation s'achève respectivement au bout de 10h, 2h et 1h. La vitesse de calcification est calculée à 10,6 mM/min en présence de C10M, 2,46 mM/min en présence de C8M et 2,15 mM/min en présence de saponine. La présence du tensioactif C10M permet la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  la plus rapide.

D'après la Figure 3- 16.b, nous pouvons voir que dans le cas de la souche A2-3, les résultats sont très différents de ceux présentés pour *S. pasteurii* : le taux de conversion reste stable pendant au moins 140h autour d'une très faible valeur, 0,1. Plusieurs hypothèses peuvent être proposées pour tenter d'expliquer ce résultat : (i) soit il n'y a pas de précipitation et la masse mesurée correspond à un résidu d'AcCa, (ii) soit la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  se produit rapidement (en 10 min) mais très faiblement, (iii) soit la cinétique est excessivement lente. Pour tenter de trancher, une première expérience est réalisée en arrêtant immédiatement l'expérience dès son lancement. La masse de  $\text{CaCO}_3$  formé correspond alors à 5% de la masse de  $\text{CaCO}_3$  formable. Ce résultat est comparable aux résultats présentés dans la Figure 3- 16.b.

Une deuxième expérience avec la souche A2-3 est réalisée en laissant l'expérience se dérouler sur 14 jours en présence et en l'absence de saponine. À la fin des 14 jours, les analyses thermogravimétriques ont montré un taux de conversion de 49% sans saponine et de 39% avec saponine.

Ainsi, la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  est très lente avec la souche A2-3 dans ces conditions (milieu liquide). La souche *S. pasteurii* est la plus adaptée pour induire une précipitation en  $\text{CaCO}_3$  rapide et efficace. De plus, les expériences en présence du tensioactif C10M permettent d'avoir la cinétique la plus rapide.

La nature des tensioactifs a donc une légère influence sur la cinétique de bio-précipitation. Qu'en est-il des paramètres de concentration en AcCa et de bactéries ? La présence des tensioactifs pourrait modifier leur influence.

#### 5.2. Effet de la concentration en Calcium et en bactéries

Pour être sûr que la précipitation est achevée, les expériences suivantes sont réalisées pour une durée de 1 jour. Les résultats en fonction de la concentration initiale en AcCa et en bactéries sont résumés dans la Figure 3- 17.

Dans le cas de la souche *S. pasteurii* (Figure 3- 17), les rendements sont significativement importants. En présence de C10M (Figure 3- 17.a), il n'y a pas de dépendance de la concentration bactérienne de la souche *S. pasteurii* (DO) sur le taux de conversion, dont la valeur est d'environ 86%, lorsque la concentration en AcCa est faible ( $[\text{AcCa}] \leq 0,2 \text{ mol/l}$ ). Pour  $\text{DO} = 0,2$  et lorsque la concentration en AcCa augmente, le taux de conversion diminue fortement jusqu'à 30%. Pour une  $\text{DO} \geq 0,8$ , la diminution est moins significative et il y a peu d'influence de la concentration en bactéries. La valeur du taux de conversion passe de 86 à 77%.

En présence de saponine (Figure 3- 17.b), pour une densité optique donnée, le taux de conversion ne varie pas sur toute la gamme de concentration en AcCa. Pour une DO égale à 0,2, le taux de conversion est très faible par rapport aux autres expériences, en moyenne 40%. Pour une  $\text{DO} \geq 0,8$ , il n'y a plus d'effet de la concentration en bactéries et le taux de conversion est en moyenne à 83%.

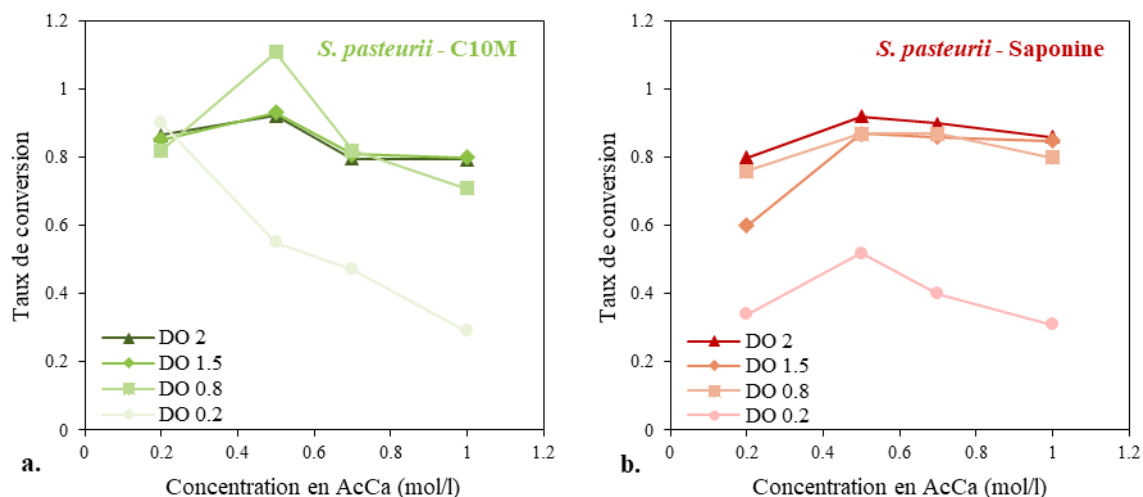


Figure 3- 17. Taux de conversion en fonction de la concentration en Acétate de Calcium (AcCa) introduite initialement pour des suspensions de *S. pasteurii* initiales aux densités optiques allant de 0,2 à 2 en présence des tensioactifs a. C10M et b. saponine.

Dans tous les cas en présence de tensioactifs, lorsque la concentration en AcCa et la densité optique augmentent, le rendement ne diminue pas excessivement. Il est donc plus judicieux de travailler à des concentrations en AcCa importantes ( $[AcCa] \geq 1$ ) pour avoir une quantité de  $CaCO_3$  précipitée maximisée. Néanmoins, on sait que la concentration en bactéries est un facteur limitant pour la calcification au même titre que la concentration en AcCa<sup>10</sup>. En effet, s'il n'y a pas assez de sites de nucléation (cellules bactériennes), la précipitation sera limitée. Pour illustrer cela, la Figure 3- 18 montre le taux de conversion en fonction du rapport  $DO_{initiale}/[AcCa]$ .



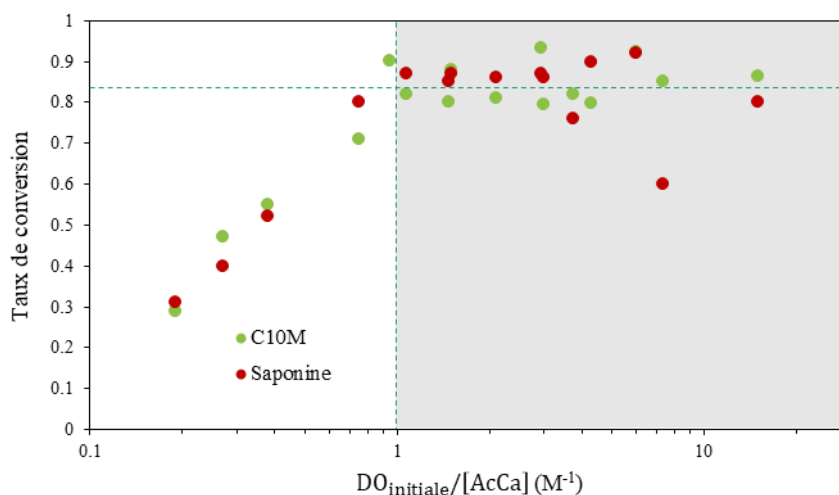


Figure 3- 18. Taux de conversion de l'acétate de calcium (AcCa) en carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) en fonction du rapport  $\text{DO}_{\text{initiale}}/[\text{AcCa}]$  ( $\text{M}^{-1} = \text{l/mol}$ ) avec la souche *S. pasteurii* en présence des tensioactifs C10M et saponine pour une durée d'expérience de 24h.

D'après la Figure 3- 18, pour un rapport  $\text{DO}_{\text{initiale}}/[\text{AcCa}]$  supérieur à  $1 \text{ M}^{-1}$  ( $=\text{l/mol}$ ), la quantité de bactéries n'est pas suffisante pour convertir tout l'AcCa en  $\text{CaCO}_3$  en 24h. Par ailleurs, cette conversion augmente avec la quantité de bactéries jusqu'à atteindre une valeur maximale à 84% de conversion à partir de  $\text{DO}_{\text{initiale}}/[\text{AcCa}] = 1 \text{ M}^{-1}$ . De façon générale, la précipitation se déroule suivant deux processus : la multiplication du nombre de cristaux de  $\text{CaCO}_3$  par la présence de nombreux sites de nucléation (les cellules bactériennes) et la croissance des cristaux déjà existants. Si le nombre de bactéries n'est pas suffisant par rapport à la quantité de  $\text{CaCO}_3$ , la précipitation va se dérouler majoritairement par la croissance des cristaux préexistants. Il s'avère que ces conditions de précipitation sont relativement lentes (cf. chapitre 1). On peut donc supposer que 24h ne suffisent pas pour convertir tout l'AcCa en  $\text{CaCO}_3$ . Pour ne pas avoir un excès de bactéries, le rapport  $\text{DO}_{\text{initiale}}/[\text{AcCa}]$  idéal pour la bio-précipitation en présence de saponine et de C10M doit être légèrement supérieur à  $1 \text{ M}^{-1}$ .

En présence de C8M (Figure 3- 19), les résultats sont entachés d'erreur en raison d'une faute lors des analyses ATG. Globalement, le rendement est surestimé par rapport à la réalité et la marge d'erreur est d'autant plus importante lorsque la concentration en AcCa est faible.

Les résultats en présence de C8M sont toujours bruités mais suivent globalement la même tendance que les résultats avec le C10M et la saponine.

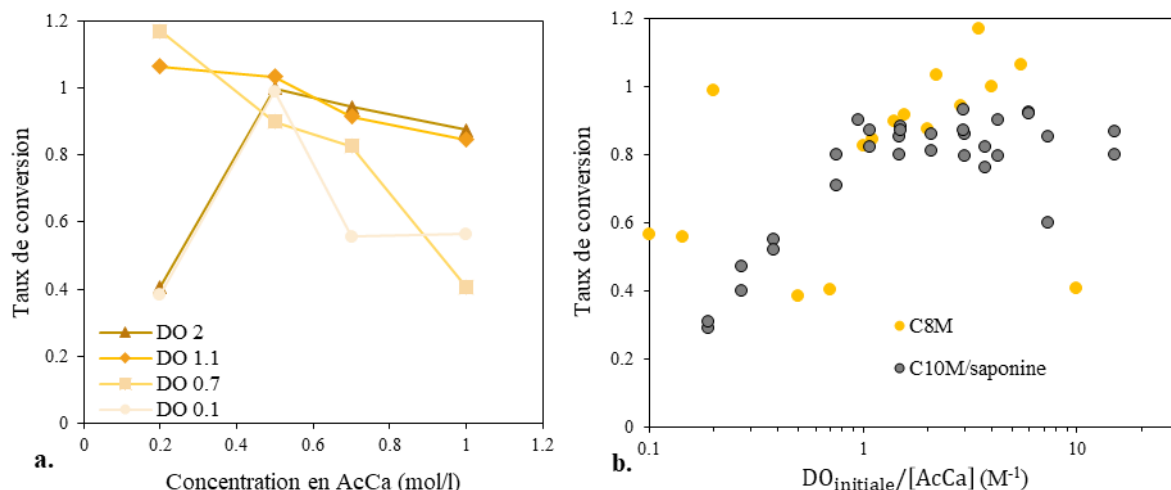


Figure 3- 19. a. Taux de conversion en fonction de la concentration en Acétate de Calcium (AcCa) introduite initialement pour des suspensions de *S. pasteurii* initiales aux densités optiques allant de 0,2 à 2 en présence de C8M ; b. Taux de conversion de l'AcCa en carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>) en fonction du rapport  $DO_{initiale}/[AcCa]$  avec la souche *S. pasteurii* en présence de C8M pour une durée d'expérience de 24h comparés aux données d'expériences effectuées en présence de C10M et saponine.

### 5.3. Caractérisation du carbonate de calcium

Après 24h d'expérience en présence des différents tensioactifs (saponine, C8M et C10M), les échantillons ont été analysés par diffraction des rayons X. Les diagrammes de diffraction obtenus ont été ensuite comparés aux diagrammes caractéristiques des différents types de cristaux (calcite<sup>108</sup>, vaterite<sup>109</sup> et aragonite<sup>110</sup>). Dans la Figure 3- 20, les résultats révèlent que le CaCO<sub>3</sub> a cristallisé sous la forme de vaterite et de calcite quel que soit la nature du tensioactif présent lors de la calcification.

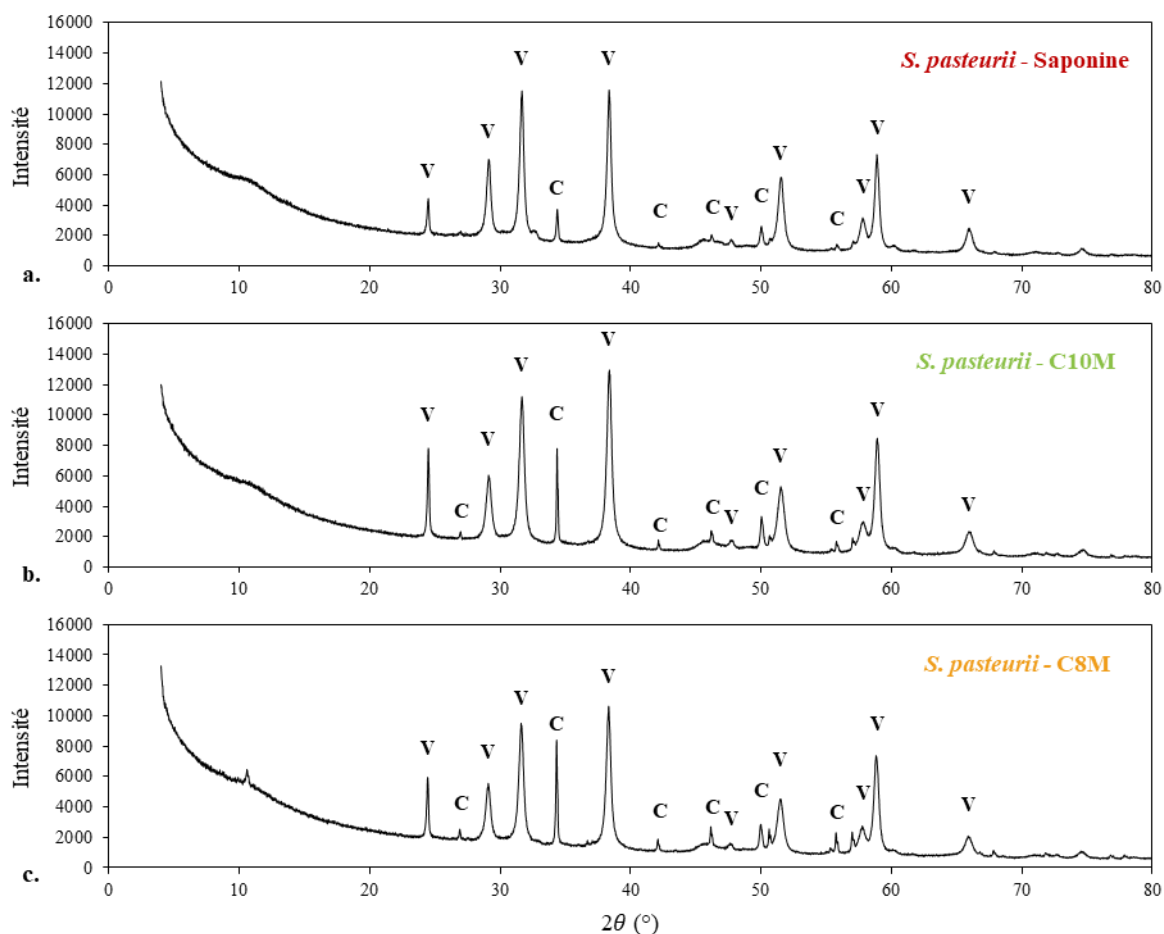


Figure 3- 20. Diagrammes de diffraction de rayon X (rayonnement Cobalt) des échantillons de bio-calcification en milieu liquide avec la souche *S. pasteurii* en présence de a. saponine, b. C10M et c. C8M. Les conditions d'expérience sont les suivantes :  $[AcCa] = [urée] = 0,7 \text{ mol/l}$ ,  $DO_{initiale} \approx 2$  et la durée de calcification a été de 1 jour.

L'observation de ces mêmes échantillons en présence de C8M et saponine (Figure 3- 21) au Microscope Electronique à Balayage (MEB) permet de définir la morphologie des précipités. L'échantillon en présence de C10M est extrait de l'expérience du paragraphe 2.2 du chapitre 5. Pour rappel, la concentration des tensioactifs est fixée à 2CMC, soit respectivement 2 g/l, 6 g/l et 20 g/l pour le C10M, la saponine et le C8M. On peut observer que le  $CaCO_3$  s'organise sous forme de sphères en présence des tensioactifs C10M et saponine. En revanche, en présence de C8M le  $CaCO_3$  s'organise en sphères et en aiguilles. La taille des particules sphériques de  $CaCO_3$  est de 10-30  $\mu\text{m}$ , 20-90  $\mu\text{m}$  et 50-80  $\mu\text{m}$  de diamètre en présence respectivement de C10M, saponine et C8M. La différence de concentration des tensioactifs entre le C8M et la saponine et le C10M peut expliquer ces différences de morphologie. En effet, le C8M est 10

fois plus concentré que le C10M par exemple. La concentration en tensioactifs aurait une influence sur la morphologie des précipités.

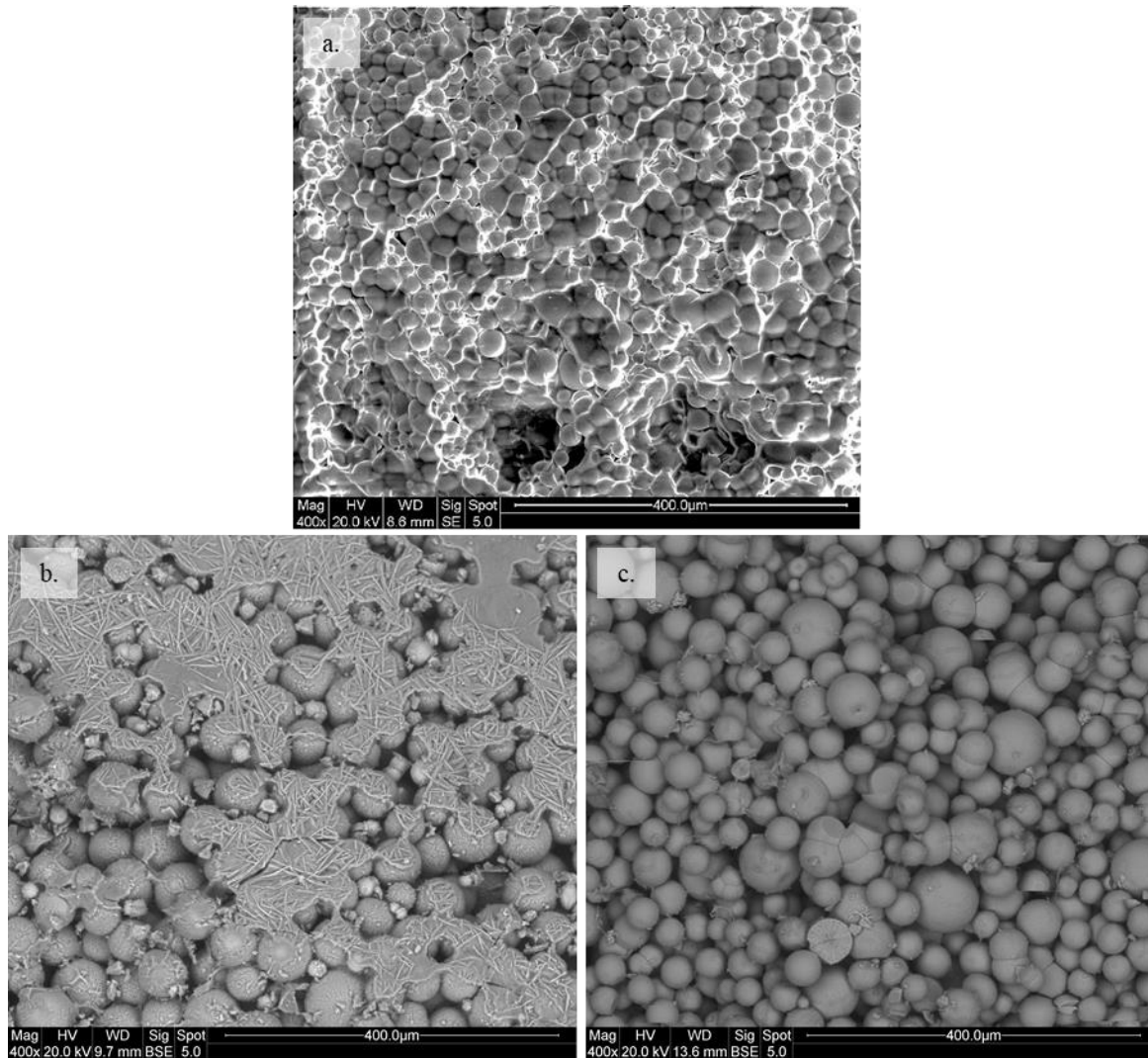


Figure 3- 21. Observation au Microscope Electronique à Balayage (MEB) d'une poudre bio-calciée en présence de a. C10M, b. C8M et c. saponine.

## 6. Conclusion du chapitre

Dans ce chapitre, nous avons étudié les souches A2-3 et *S. pasteurii* pour assurer la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . Ces souches ont été mises en contact avec différents tensioactifs en milieu liquide pour vérifier leur bio-compatibilité. Pour ce faire, nous avons d'abord réalisé des mesures de respirométrie des souches en présence des tensioactifs saponine, Glucopon, C8M, C10M,

C12M, C8G et C10G à la concentration 1CMC. Dans les mêmes conditions, les glucosides et le GlucoPON inhibent l'activité des bactéries. Alors que les tensioactifs C8M, C10M, C12M et saponine permettent d'obtenir une activité supérieure ou égale à l'expérience témoin. Sur la base de ces résultats et des mesures de pH en fin d'expérience, la saponine, le C8M, le C10M et le C12M ont été retenus.

Néanmoins, cette première étude a été effectuée uniquement pour les concentrations de 1CMC. L'objectif étant de former des mousses stables avec ces solutions, nous avons vérifié la compatibilité des tensioactifs avec les souches en augmentant leur concentration : 2CMC et 5CMC. Nous avons pu montrer qu'il est possible de corréler l'activité bactérienne avec la croissance bactérienne, ce qui a permis par la suite d'augmenter le nombre d'essais en simultanément en suivant la croissance des bactéries par densité optique sur microplaques.

Les résultats de cette étude ont montré qu'en présence de C12M, la croissance bactérienne est en fait très limitée. Mis à part ce tensioactif, les résultats en présence des autres tensioactifs confirment les résultats obtenus dans l'étude de l'activité bactérienne.

Finalement les tensioactifs C8M, C10M et saponine sont les plus compatibles avec les souches *A2-3* et *S. pasteurii*.

Par la suite, les solutions bactériennes utilisées pour l'étude de l'activité bactérienne ont été analysées par CLHP. De cette façon, nous avons découvert que les souches *A2-3* et *S. pasteurii* sont capables de consommer jusqu'à 95% de la saponine et de dégrader les molécules d'APG de type maltosides en coupant un morceau de la chaîne hydrophile.

Pour la bio-calcification, plusieurs paramètres ont pu être testés : la nature du tensioactif, la nature et la concentration de la souche bactérienne, et la concentration en AcCa. Tout d'abord, la souche *A2-3* ne permet pas d'avoir une calcification significative dans un délai de 6 jours. En revanche, la souche *S. pasteurii* induit la calcification en quelques heures seulement. Toujours pour *S. pasteurii*, la nature du tensioactif a une influence sur la vitesse de calcification, mais pas sur la cristallographie (vaterite et calcite). De plus, la morphologie du CaCO<sub>3</sub> précipité ne semble pas non plus dépendre de la nature du tensioactif mais de sa concentration : les précipités prennent la forme uniquement de sphère à faible concentration en tensioactif, les précipités prennent la forme de sphères et d'aiguilles à haute concentration en tensioactifs. C'est en présence du tensioactif C10M que la vitesse de calcification est la plus importante (calcification complète au bout de 1h). De plus, la formulation pour une précipitation optimale nécessite une concentration en calcium entre 1 mol/l et 2 mol/l (au-delà de cette gamme de

concentration, l'AcCa devient insoluble dans l'eau) et une densité optique supérieure à 0,8. Il est important de noter que la concentration en AcCa doit être suffisante pour le nombre de bactéries présentes (et inversement), c'est-à-dire que si on augmente la concentration en AcCa, il faut augmenter la concentration en bactéries (DO). Le rapport  $DO_{initiale}/[AcCa]$  optimal, permettant d'atteindre un taux de conversion de 84%, vaut environ  $1M^{-1}$ .

Maintenant que la formulation de la mousse bactérienne a été fixée, nous allons nous intéresser aux propriétés hydrauliques d'une mousse liquide occupant l'espace poreux d'un empilement de grains. En effet, on peut attendre de cette mousse qu'elle puisse apporter aux bactéries du milieu les éléments nécessaires à la précipitation de  $CaCO_3$ , dans un temps raisonnable.



## **Chapitre 4 : Propriétés hydrauliques des milieux poreux remplis de mousse liquide**



Dans la littérature, les méthodes classiques employées pour la bio-calcification d'un milieu granulaire se font en deux étapes<sup>58</sup> : une première étape d'apport en bactéries, puis, après quelques heures, une deuxième étape d'apport en source de calcium et de nutriments.

Pour appliquer ces méthodes avec des mousses, il est important de connaître les propriétés de transport de liquide au sein de la mousse confinée dans les milieux granulaires. Cependant, l'étude bibliographique n'a pas permis de mettre en évidence une relation entre le transport de liquide et la microstructure des mousses confinées. Le but du projet étant d'aller vers une bio-calcification d'un milieu granulaire pour des taux de saturation en liquide inférieurs à environ 20%, nous allons étudier les propriétés hydrauliques des mousses dans les milieux granulaires pour cette gamme de fraction liquide.

Dans le chapitre précédent, les tensioactifs C10M et la saponine ont été sélectionnés pour entrer dans la formulation de nos mousses bio-calcifiantes. Ces tensioactifs permettent le développement bactérien, ce qui n'est pas souhaitable pour mener une étude des propriétés hydrauliques des mousses confinées. Ceci implique donc un renouvellement régulier de nos solutions moussantes lors de ces campagnes de mesures. Dans le cas des APG, il est possible d'éviter ce renouvellement en utilisant le tensioactif commercial Glucopon, qui se trouve être inhibiteur d'une croissance bactérienne, d'après le chapitre précédent, pour des concentrations supérieures à la CMC.

Dans la première partie de ce chapitre, nous présentons les résultats relatifs aux mesures de perméabilité de mousses monodisperses « libres », c'est-à-dire non-confinées. Ces mesures nous serviront de référence pour la mousse confinée en milieu poreux. Dans la deuxième partie, nous étudions ces mêmes mousses mais confinées dans des empilements monodisperses de grains. Et en troisième partie, nous discutons de l'évolution temporelle de ces mousses confinées.

## 1. Perméabilités de référence des mousses utilisées

Comme nous l'avons présenté dans le chapitre 2, notre dispositif expérimental nous permet de former des mousses monodisperses de saponine et de Glucocon ayant des tailles de bulles et des fractions liquides contrôlées. Les perméabilités des mousses libres,  $k_{f0}$ , mesurées avec la méthode dite « de drainage forcée », sont présentées sur la Figure 4- 1.

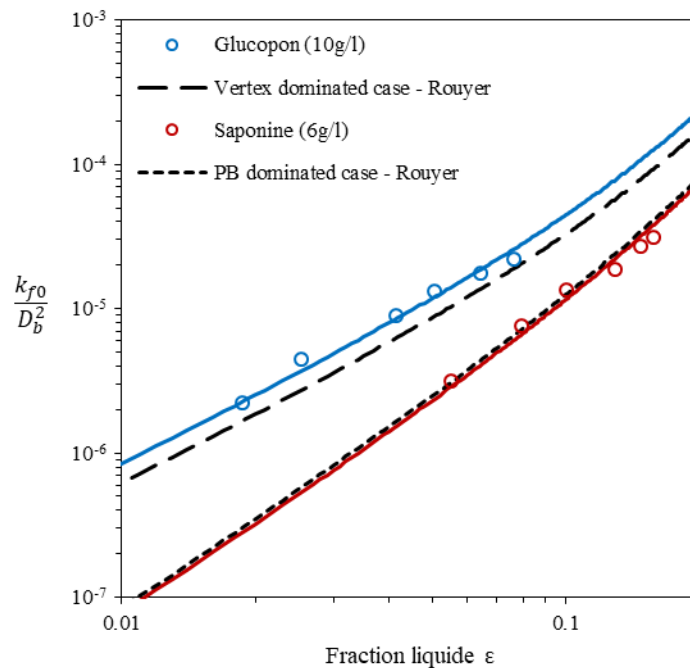


Figure 4- 1 : Perméabilité de la mousse (de Saponine et de Glucocon)  $k_{f0}$  adimensionnée par le carré de la taille des bulles en fonction de la fraction volumique en liquide ; les courbes discontinues correspondent aux courbes théoriques<sup>76</sup> de perméabilité pour des mousses aux interfaces rigides (Plateau Border dominated case) et aux interfaces mobiles (Vertex dominated case) ; les courbes continues correspondent aux courbes théoriques ajustées sur les points expérimentaux (Equation 4- 1 et 4- Equation 4- 2).

On observe que la perméabilité augmente en fonction de la fraction liquide et qu'elle dépend fortement du tensioactif : les mousses de Glucocon sont nettement plus perméables que les mousses de saponine, sur la gamme de fraction liquide étudiée. Il a été montré dans la littérature (cf. chapitre 1) que les tensioactifs influencent la mobilité des interfaces liquide/gaz, et par conséquent, la perméabilité au liquide des mousses. On distingue deux cas limites de mousses<sup>76</sup> : les mousses aux interfaces mobiles, dont la perméabilité est décrite par le modèle

des nœuds (ou vertex) ( $k_{f0} \sim \varepsilon^{3/2}$ ), et les mousses aux interfaces non mobiles (on trouve aussi parfois le terme « rigides ») décrites par le modèle des bords de Plateau ( $k_{f0} \sim \varepsilon^2$ ). Rouyer et al.<sup>83</sup>, ont fourni des expressions analytiques pour les perméabilités en fonction de la fraction liquide dans ces deux cas limites :

$$\tilde{k}_{f0}^{mobile}(\varepsilon) = \frac{k_{f0}^{mobile}}{D_b^2} = \frac{\varepsilon^{3/2}}{\alpha \cdot (1 - 2,7\varepsilon + 2,2\varepsilon^2)^2} \quad \text{Equation 4- 1}$$

$$\tilde{k}_{f0}^{rigide}(\varepsilon) = \frac{k_{f0}^{rigide}}{D_b^2} = \frac{\varepsilon^2}{\beta \cdot (1 - 2,15\varepsilon + 1,37\varepsilon^2)^2} \quad \text{Equation 4- 2}$$

Avec  $\alpha = 1700$  (mousse de TTAB) et  $\beta = 1248$ . Notez que les coefficients  $\alpha$  et  $\beta$  apparaissent comme des coefficients ajustables permettant de tenir compte du degré de mobilité ou de rigidité des interfaces (qui dépend du tensioactif).

Il apparaît sur la Figure 4- 1 que les mousses de saponine peuvent être décrites par le modèle de mousses aux interfaces rigides, alors que les mousses de Glucopon se rapprochent plus du modèle des mousses aux interfaces mobiles. Les coefficients  $\alpha = \alpha_0 = 1250$  et  $\beta = \beta_0 = 1350$  ont été ajustés à partir des courbes expérimentales du Glucopon et de la saponine respectivement. Les perméabilités que nous présentons ici pour les mousses de Glucopon et de saponine serviront de référence pour la suite de l'étude.

La mise en évidence de cette très grande différence de mobilité d'interface entre le Glucopon et la saponine est intéressante et permet de considérer ce nouveau paramètre dans notre étude, en plus de la taille des bulles et de la fraction liquide.

On peut noter que le rapport des perméabilités  $\tilde{k}_{f0}^{Gluc} / \tilde{k}_{f0}^{sap}$  est proche de 5 pour la plupart des fractions liquide, sauf pour  $\varepsilon_f < 0,02$ .

## 2. Perméabilité des échantillons poreux remplis de mousse

### 2.1. Résultats expérimentaux

La mousse monodisperse est introduite dans le milieu poreux en veillant à ne pas casser les bulles au cours de leur transport à travers le milieu granulaire (voir chapitre 2 paragraphe 6.2). Dans le cas des mousses de saponine, aux interfaces rigides, cette étape de remplissage s'est

avérée difficile pour des fractions liquides faibles et des milieux granulaires tel que  $D_g \leq 1,5\text{mm}$ . La perméabilité de la mousse ainsi confinée est ensuite obtenue au moyen de la méthode de drainage forcé ou de la méthode de Darcy. Comme les mesures obtenues avec les tailles de grains de 2mm et des mousses de GlucoPON en attestent (Figure 4- 2), ces deux méthodes se sont avérées parfaitement complémentaires (cf. paragraphe 2.3).

La Figure 4- 2 rassemble l'ensemble des mesures de perméabilité réalisées avec des tailles de bulles  $D_b$  fixées à 0,5 mm et des tailles de grain  $D_g$  comprises entre 1 mm et 5 mm. Il apparaît que la présence de grains diminue la perméabilité des mousses quel que soit le tensioactif et que cette diminution est d'autant plus grande que la taille des grains est petite. En effet, les courbes de perméabilités des mousses confinées de saponine et de GlucoPON (Figure 4- 2) montrent une diminution significative de  $\tilde{k}_f$  par rapport aux courbes de références  $\tilde{k}_{f0}$  lorsque  $D_g$  diminue de 5mm à 1mm. De plus, cette diminution est plus marquée pour les mousses de saponine que pour les mousses de GlucoPON. En effet, par exemple pour  $D_g = 1\text{mm}$ ,  $\tilde{k}_f^{sap}$  diminue d'un facteur d'environ 1000 alors que  $\tilde{k}_f^{gluc}$  diminue d'un facteur d'environ 100.

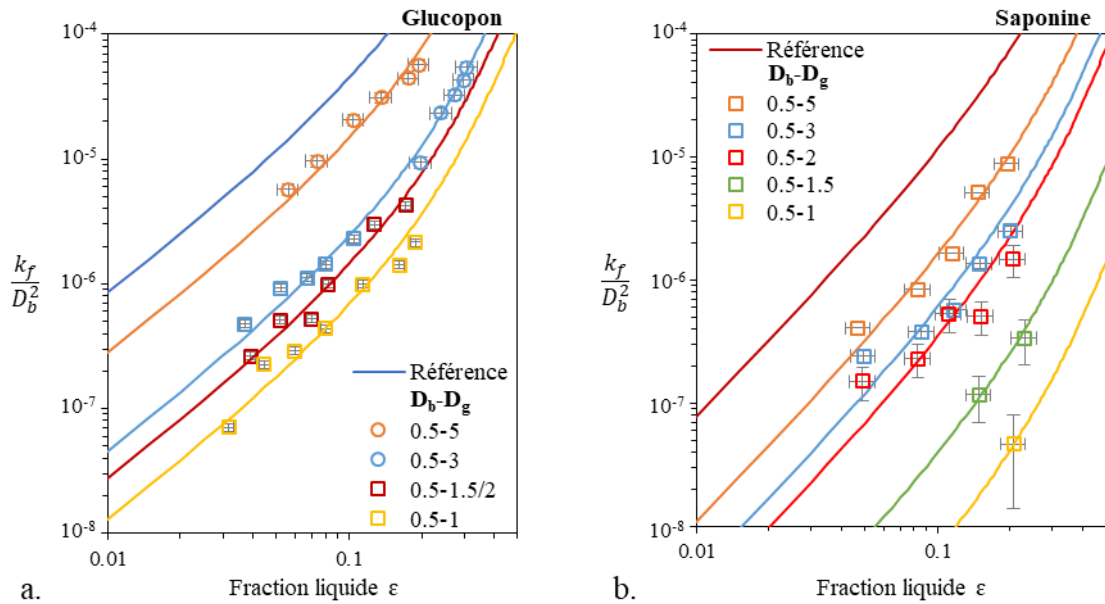


Figure 4- 2 : Perméabilité  $k_f$  adimensionnée par le carré de la taille des bulles (en mm) en fonction de la fraction liquide de la mousse contenue dans les empilements de grains de différents diamètres (en mm) ; les symboles ronds et carrés correspondent respectivement aux méthodes dites de « drainage forcé » et « de Darcy ». Le diamètre des bulles est  $D_b \sim 0.5$  mm. Les lignes continues sont obtenues à l'aide de l'Equation 4- 1 pour le Glucopon et de l'Equation 4- 2 pour la saponine, en ajustant les coefficients  $\alpha$  et  $\beta$ . Notez que les valeurs de perméabilité pour les tailles de grains de 1,5 et 2mm ont été rassemblées et moyennées. Certains résultats présentés ici sont issus de la moyenne de plusieurs expériences. Les barres d'erreur sont ajustées afin de tenir compte de ces moyennes.

De plus, on remarque que pour chaque taille de grains étudiée, l'évolution des perméabilités en fonction de la fraction liquide suit une allure similaire à celle observée avec les mousses libres. En effet, nous avons pu ajuster nos données avec les Equation 4- 1 et 4- Equation 4- 2 en modifiant uniquement les valeurs des coefficients  $\alpha$  et  $\beta$ . Par la suite, nous noterons  $\alpha_r$  et  $\beta_r$  les valeurs de ces coefficients obtenues pour les mousses confinées.

Jusqu'ici nous avons montré qu'à taille de bulle constante, la taille des grains contrôle la diminution de la perméabilité de la mousse confinée. De manière plus générale, on peut s'attendre à ce que ce soit plutôt le rapport des tailles  $r = D_b/D_g$  qui pilote l'évolution de la perméabilité. Nous avons réalisé une série de mesures visant à maintenir  $r$  constant avec différentes combinaisons de tailles  $D_b$  et  $D_g$ . Nous avons pu réaliser ces expériences avec des mousses de Glucopon et un rapport  $r = 0,39 \pm 0,04$  sur la Figure 4- 3.

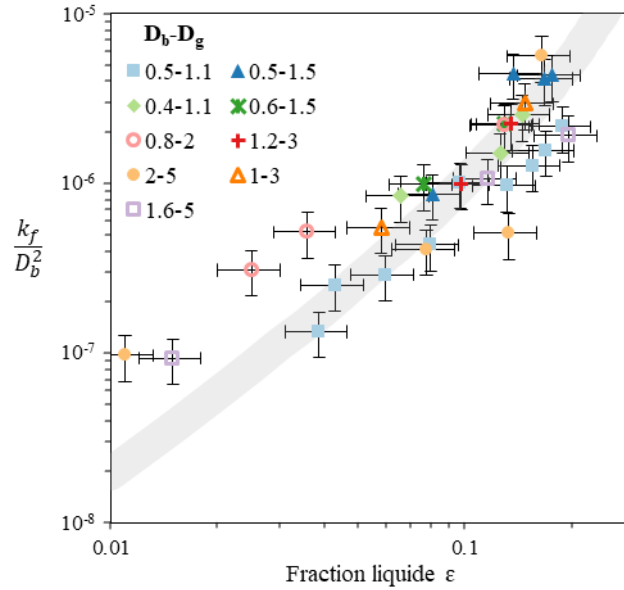


Figure 4- 3 : Perméabilité adimensionnée par le carré de la taille des bulles en fonction de la fraction liquide pour  $r=0,39 \pm 0,04$ .

L'ensemble des résultats suggère, qu'en première approximation, les effets de la fraction liquide  $\varepsilon$  et du rapport des tailles  $r$  peuvent être découplés. Ainsi, la perméabilité adimensionnée  $\tilde{k}_f$  peut être exprimée en fonction de la perméabilité de la mousse libre  $\tilde{k}_{f0}$  et d'une fonction du rapport des tailles  $r$  notée  $C(r)$  :

$$\tilde{k}_f(r, \varepsilon) = C(r) \times \tilde{k}_{f0}(\varepsilon) \quad \text{Equation 4- 3}$$

## 2.2. Effet des tensioactifs et de la microstructure de la mousse confinée

Nous avons déterminé les valeurs de  $C(r)$  à partir des valeurs des coefficients  $\alpha$  et  $\beta$  obtenues pour les mousses libres et pour les mousses confinées :  $C(r) = \alpha_0/\alpha_r$  ou  $\beta_0/\beta_r$ . La Figure 4- 4 présente l'évolution de  $C(r)$  pour chacun des tensioactifs. On y observe que l'évolution de la perméabilité avec le rapport  $r$  pour la mousse de saponine est globalement bien décrite par une loi de décroissance exponentielle. La diminution de  $C(r)$  en fonction de  $r$  rend compte de la réduction de la perméabilité de la mousse lorsque la taille des grains diminue devant la taille des bulles. De plus, pour les petites valeurs de  $r$  ( $r \leq 0,25$ ), la fonction  $C(r)$  est indépendante de la nature du tensioactif. Par contre, pour des rapports  $r$  plus grands, la diminution de la perméabilité induite par le rapport  $r$  est moins marquée avec les mousses aux interfaces mobiles (Glucopon) qu'avec les mousses aux interfaces rigides (saponine). Ainsi, la

mobilité des interfaces (fonction du tensioactif) agit donc à la fois sur la perméabilité de la mousse libre et sur la fonction  $C(r)$ .

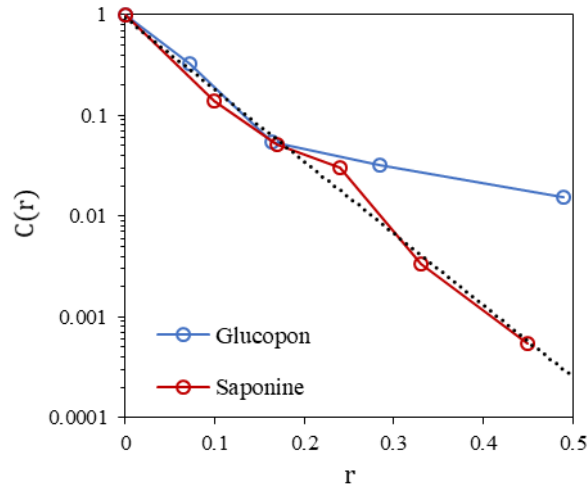


Figure 4- 4 : Coefficient  $C(r)$  en fonction du paramètre  $r$  ( $D_b/D_g$ ) pour les mousses de Glucopon (en bleu) et les mousses de saponine (en rouge).

Jusqu'ici, nous avons fait le choix de nous intéresser à l'effet du confinement sur la perméabilité de la mousse  $k_f$ . Nous allons maintenant nous intéresser à la perméabilité du milieu poreux  $k_D$  dont l'espace poreux est rempli de mousse. Comme présenté dans le chapitre 2, ces deux perméabilités sont reliées entre elles par la porosité  $p$  :  $k_D = pk_f$ . Habituellement (cf. chapitre 1), la perméabilité au liquide d'un milieu poreux contenant de l'air est exprimée en termes de perméabilité relative, c'est-à-dire :  $k_{rel} = k_D(\varepsilon)/k_D(\varepsilon = 1)$ , où  $k_D(\varepsilon = 1)$  est la perméabilité du milieu totalement saturé. Afin d'estimer les valeurs de  $k_D(\varepsilon = 1)$ , nous choisissons d'utiliser l'expression de Carman-Kozeny<sup>87,88</sup> :

$$k_D(\varepsilon = 1) = \frac{p^3 D_g^2}{180 (1 - p)^2} \quad \text{Equation 4- 4}$$

D'après les équations Equation 4- 3 et Equation 4- 4, la perméabilité relative s'écrit alors :

$$k_{rel} \equiv \frac{k_D(\varepsilon)}{k_D(\varepsilon = 1)} = 180 \left( \frac{1 - p}{p} \right)^2 r^2 C(r) \times \tilde{k}_{f0} \quad \text{Equation 4- 5}$$

Par conséquent,  $k_{rel}$  dépend de la fraction volumique de liquide  $\varepsilon$  par l'intermédiaire de  $\tilde{k}_{f0}$ , et du rapport des tailles  $r$ .

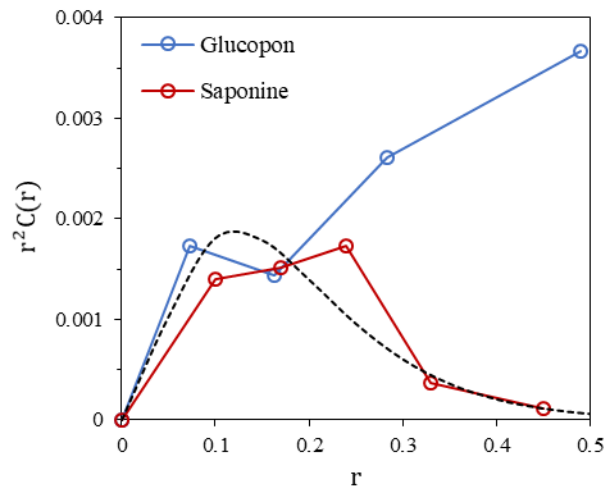


Figure 4- 5 : Fonction  $r^2C(r)$  en fonction de  $r$ .

Il est intéressant de représenter la fonction  $r^2C(r)$  qui représente les effets du confinement par les grains (voir Figure 4- 5). Pour la mousse de saponine, la fonction augmente entre  $r \approx 0$  et  $r \approx 0,1$ , puis diminue pour  $r \geq 0,25$ . Par conséquent, il existe une plage de valeurs  $r$  correspondant à une perméabilité relative maximale. En revanche, pour la mousse de GlucoPON, on observe une augmentation globale de la fonction  $r^2C(r)$ . L'effet du tensioactif est donc considérable puisqu'il induit soit une augmentation soit une diminution de la perméabilité relative lorsque la valeur de  $r$  est supérieure à 0,25, tous les autres paramètres étant égaux. L'utilisation d'une mousse de GlucoPON à la place de la saponine est plus favorable à l'écoulement du liquide dans ce système.

Pour tenir compte plus globalement de l'effet des tensioactifs (qui porte à la fois sur  $C(r)$  et sur  $\tilde{k}_{f0}$ ), nous nous intéressons au rapport des perméabilités obtenues pour chaque type de mousse

$$k_{rel}^{glu.} / k_{rel}^{sap.}$$



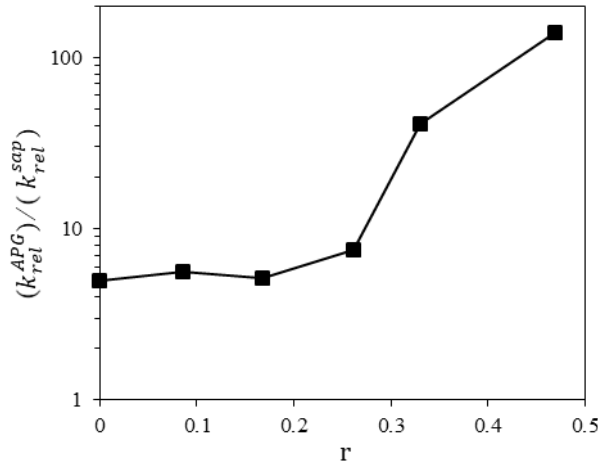


Figure 4- 6 : Rapport des perméabilités relatives des mousses de Glucocon et de saponine en fonction du paramètre de contrôle  $r$ . Notez que les résultats expérimentaux pour les deux tensioactifs ne correspondaient pas exactement aux mêmes valeurs de  $r$ , et que, par conséquent, nous avons effectué des interpolations linéaires pour les faire coïncider.

La Figure 4- 6 montre que l'utilisation d'un tensioactif aux interfaces mobiles (Glucocon) plutôt qu'un tensioactif aux interfaces rigides (saponine) permet d'augmenter significativement la perméabilité relative du système, et ce d'autant plus que le rapport des tailles de bulle/grain  $r$  est supérieur à 0,25. Deux régimes peuvent être clairement distingués :

- Pour  $r \leq 0,25$ , le rapport de perméabilité des mousses confinées est comparable au rapport correspondant aux mousses libres de référence, c'est-à-dire que :

$$\frac{k_{rel}^{APG}}{k_{rel}^{sap}} \approx \frac{\tilde{k}_{f0}^{APG}}{\tilde{k}_{f0}^{sap}} \approx 5$$

- Pour  $r > 0,25$ , le rapport de perméabilité des mousses confinées est d'un ordre de grandeur supérieur au rapport correspondant aux mousses libres de référence, c'est-à-dire :

$$\frac{k_{rel}^{APG}}{k_{rel}^{sap}} \gg \frac{\tilde{k}_{f0}^{APG}}{\tilde{k}_{f0}^{sap}}$$

La Figure 4- 6 révèle que pour  $r < 0,25$ , l'effet du tensioactif sur la perméabilité n'est pas quantitativement différent de celui produit sur une mousse libre, alors que pour un confinement plus marqué ( $r > 0,25$ ), cet effet prend une autre nature. Il paraît intéressant de mettre en parallèle l'évolution de la microstructure de la mousse en fonction de son confinement. En effet, la densité des bords de Plateau de mousse de volume (au sens de ceux de la mousse libre) doit

diminuer au profit des bords de Plateau de surface (des grains). Par ailleurs, lorsque le nombre de bulle par pore s'approche de 1, les bulles doivent se déformer pour s'ajuster à la forme des pores. Pour se donner quelques idées des ordres de grandeurs, nous allons nous intéresser à évaluer les rapports  $r$  associés à des structures de mousses confinées dans des empilements ordonnés. Nous considérons trois types de pores classiques : cubique, tétraédrique et octaédrique. Il est à noter que l'empilement ordonné, cubique à faces centrées (CFC), est une combinaison de pores tétraédriques et octaédriques. Les pores tétraédriques sont connectés aux pores octaédriques via des constriction. Un pore tétraédrique contient 4 constriction, et un pore octaédrique en contient 8 (Figure 4- 7). Les pores cubiques sont associés à l'empilement cubique simple, et possèdent 6 constriction par pore. Les compacités de nos empilements granulaires sont intermédiaires à celles de l'empilement CFC (le plus compact avec  $c \approx 0,74$ ) et cubique (le moins compacte avec  $c \approx 0,52$ ).

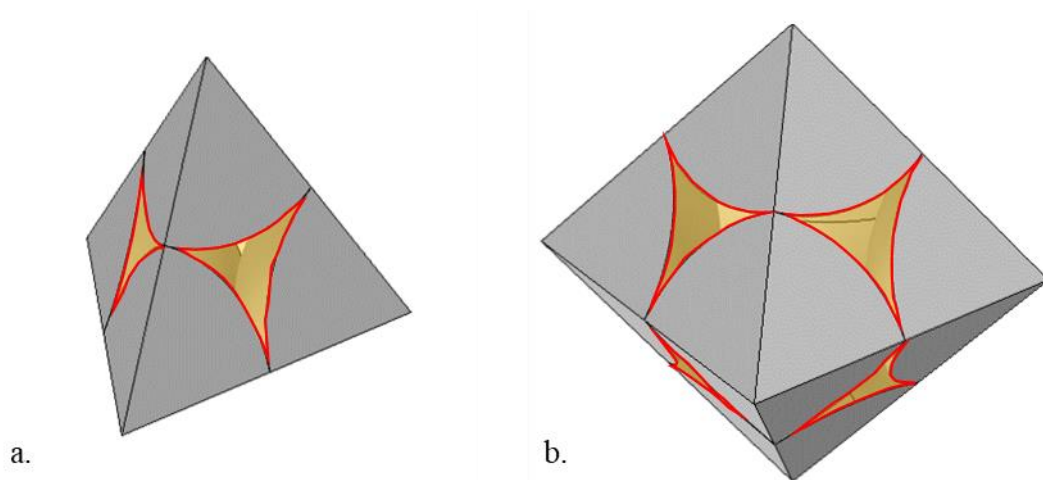


Figure 4- 7. Représentation 3D des empilements a : tétraédriques et b : octaédriques. Les grains sont représentés en gris, le volume de pore est représenté en jaune et les constriction sont marquées en rouge.

Pour chacun de ces types de pores, il est possible d'estimer des valeurs particulières de  $r$  (Tableau 4- 1) associées aux situations suivantes :

- Chaque pore contient strictement 1 bulle,  $r = r_v$  ;
- Chaque pore contient un nombre de bulles égale à son nombre de constriction (voir Figure 4- 7),  $r = r_w$  ;
- La taille des bulles est égale à la plus grande sphère pouvant passer dans les constriction entre pores sans être déformée,  $r = r_c$  ;

*Tableau 4- 1. Valeurs de  $r$  caractéristiques pour chaque type de pore. Voir l'annexe 1 pour le détail des calculs.*

	Cube	Octaèdre	CFC
$r_v$	0.96	0.62	0.56
$r_w$	0.53	0.31	0.3
$r_c$	0.41	0.16	0.16

D'après le Tableau 4- 1, la valeur  $r \approx 0,25$  pour laquelle nous observons expérimentalement une transition dans l'effet de la nature du tensioactif, est intermédiaire des valeurs de  $r_{c,oct}$  (ou  $r_{c,CFC}$ ) et  $r_{w,oct}$  ou ( $r_{w,CFC}$ ). Ces calculs menés sur des empilements ordonnés suggèrent que la transition s'opèrerait soit lorsque les constriction dans chaque pore sont remplies d'une bulle, ou soit lorsque les bulles ont une taille égale à la plus petite taille de la constriction. Quoi qu'il en soit, ces modèles simples permettent de mettre en évidence que la structure des mousses libres va progressivement disparaître à mesure que le rapport des tailles  $r$  augmente. Pour pousser plus loin ces analyses, une observation plus précise de la répartition du fluide au sein de l'espace poreux est nécessaire. À mesure que le rapport  $r$  augmente, on s'attend à ce que la proportion des bulles en contact des grains et celle des bulles entourées d'autres bulles (similaires à celles des mousses libres) évoluent. La Figure 4- 8 montre des images de mousses confinées dans des pores pour deux rapports de taille  $r$  différents. Pour des faibles rapports  $r$ , la majeure partie des bulles remplissant les pores sont entourées d'autres bulles (voir Figure 4- 8a). Au contraire, pour un rapport de taille plus élevé, les bords de Plateau de volume similaires à ceux de la mousse libre disparaissent, et le liquide se localise principalement à la surface des grains, soit sous forme de bords de Plateau pariétaux, soit sous forme de ponts de liquide entre les grains. Dans cette configuration, les bords de Plateau pariétaux assurent l'interconnexion des ponts liquides, et rendent le milieu poreux perméable.

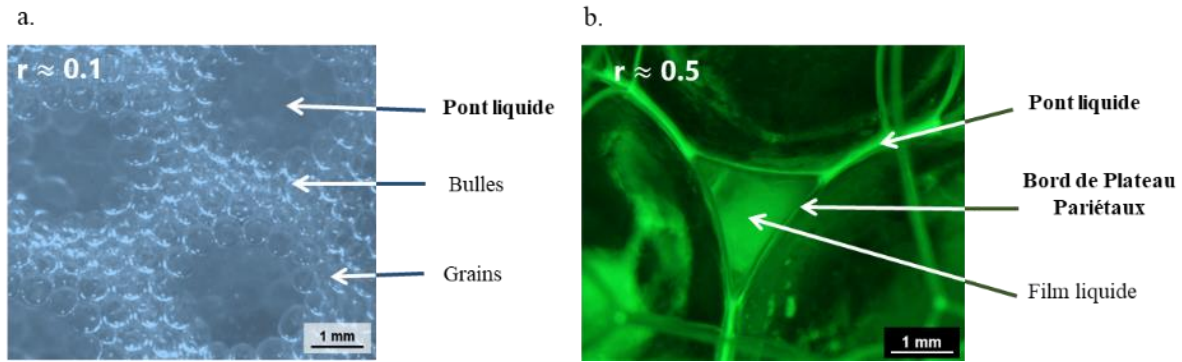


Figure 4- 8. Photos prises à la paroi de la colonne granulaire remplie de mousse de Glucopon pour a.  $r \approx 0,1$  ( $D_g = 3\text{mm}$ ) et b.  $r \approx 0,5$  ( $D_g = 8\text{mm}$ ) (de la fluoresceïne a été ajouté dans la solution moussante).

Ainsi, comme la microstructure de la mousse change de manière significative lorsque le rapport entre la taille des bulles et celle des grains augmente (entre  $r \approx 0.1$  et  $0,5$ ), on peut imaginer que le réseau de liquide, impliquant les bords de Plateau pariétaux et les ponts liquides, remplace progressivement le réseau de liquide propre aux mousses non confinées, impliquant une réduction de la perméabilité  $\tilde{k}_f$ . De plus, d’après nos données expérimentales, les écoulements du liquide dans ce nouveau réseau seraient nettement facilités pour les mousses présentant des interfaces mobiles.

### 2.3. Remarque sur les domaines de validité des deux méthodes expérimentales

Dans cette partie, nous allons mener une discussion succincte concernant les deux méthodes de mesure de la perméabilité. La Figure 4- 2 a montré que les deux méthodes de mesure de la perméabilité utilisées ont des domaines d’application [taille de grains  $D_g$ , fraction liquide  $\varepsilon_f$ ] bien complémentaires. Ceci s’explique notamment car leurs conditions de validité respectives s’excluent mutuellement (notamment par rapport à la mobilité des bulles). La méthode de drainage forcé nécessite (1) la formation d’une mousse homogène au-dessus du front de fraction liquide, et (2) un mouvement ascendant des bulles. La condition (1) devient difficile à garantir pour les mousses peu perméables (petits grains et/ou faible fraction liquide) car une accumulation de liquide peut se former en entrée de colonne rendant difficile de garantir l’homogénéité de la fraction liquide au-dessus du front, et par ailleurs, le front devient lui-même fortement diffus. La condition (2) peut devenir plus difficile à garantir pour des grains de petites dimensions et des faibles fractions liquides (la pression permettant aux bulles de franchir les

constrictions dépend de la pression capillaire). Ainsi, avec des bulles de taille 0,5mm, cette méthode a pu être utilisée pour les mousses ayant une perméabilité  $k_f$  telle que  $k_f/D_b^2 \geq 5.10^{-6}$ . Au contraire, la méthode de Darcy nécessite que les bulles soient piégées dans la porosité, car la mousse doit pouvoir être elle-même considérée comme un matériau poreux conservant sa structure figée.

### **3. Evolution de la perméabilité induite par le murissement de la mousse confinée**

On peut s'attendre à ce que la présence des grains au voisinage des bulles modifie ces transferts par rapport au cas d'une mousse dite « libre », et que la vitesse de murissement soit affectée par le degré de confinement (qui augmente à mesure que la mousse mûrit). Ainsi, le murissement de la mousse confinée dans le milieu granulaire pourrait s'arrêter lorsque la taille des bulles atteint la taille des pores<sup>92</sup> (cf. chapitre 1). Nous n'envisageons pas ici d'étudier dans tous ses détails le murissement de la mousse confinée, en revanche, nous souhaitons mettre en évidence que celui-ci conduit à modifier la perméabilité.

Dans la partie précédente, nous avons présenté des mesures de perméabilité réalisées dans un intervalle de temps réduit (inférieur à 10 minutes) après l'introduction de la mousse dans le milieu poreux. Dans cet intervalle de temps court la mousse n'a pas eu le temps de murir. Nous allons présenter dans la suite quelques résultats illustrant le murissement des mousses de GlucoPON confinées dans des empilements de grains de diamètre de 2mm et l'évolution associée de la perméabilité.

#### **3.1. Murissement des mousses liquides confinées**

Le murissement se manifeste par une augmentation de la taille des bulles au cours du temps (cf. chapitre 1). La Figure 4- 9 illustre ce phénomène en montrant plusieurs images d'une même expérience à différents instants. Les Figure 4- 9.a et b correspondent à l'état initial du système avec des bulles relativement monodisperses de diamètre environ égal à 0,5 mm.

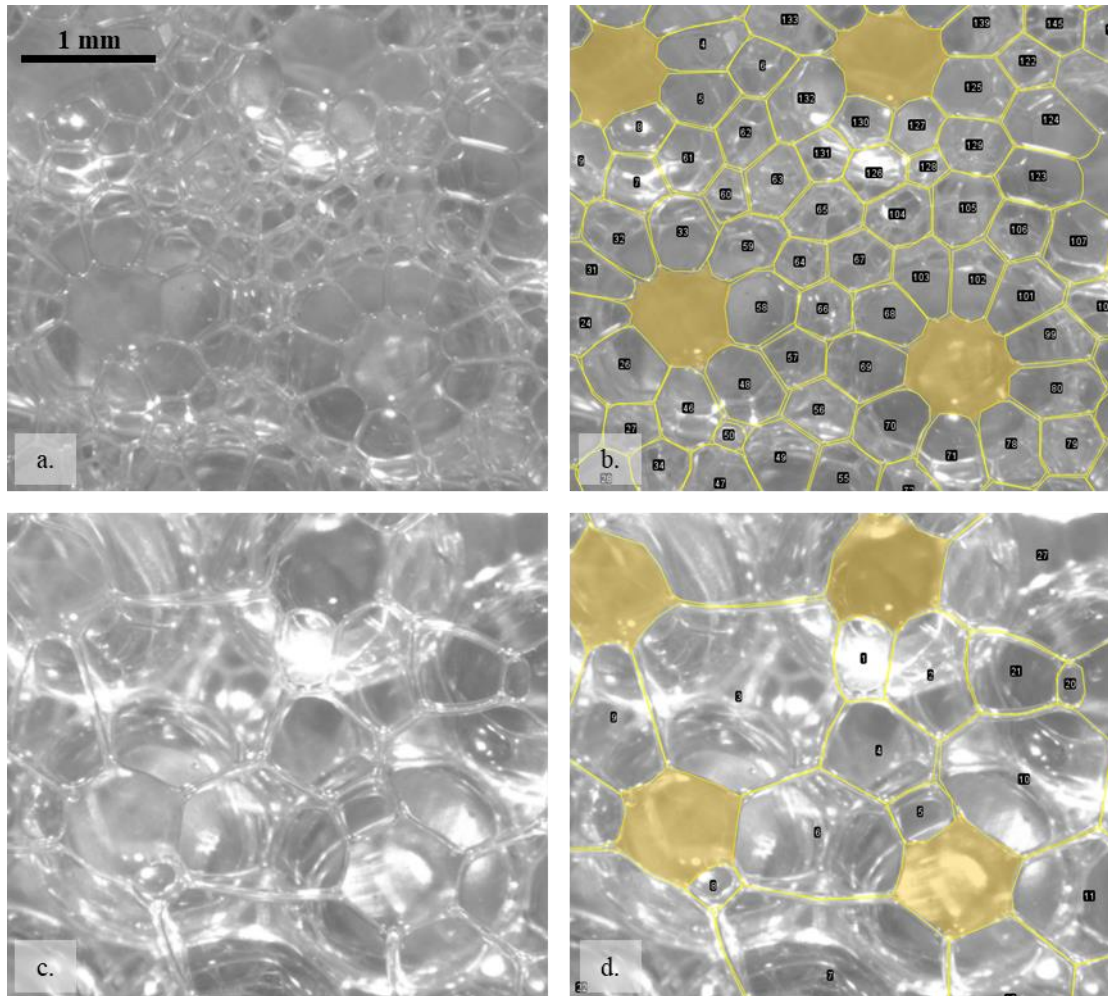


Figure 4- 9 : Photos de la paroi de la colonne de grains contenant la mousse de Glucopon à a,b :  $t = 1 \text{ min}$  et c,d :  $t = 85 \text{ min}$  lors de la mesure de perméabilité aux temps longs, pour  $\varepsilon = 8 \%$ . Les bulles sont délimitées par des polygones jaunes et les contacts des grains ( $D_g = 2\text{mm}$ ) avec la paroi sont coloriés en jaune. La taille de bulles initiale est de  $0,5\text{mm}$ . L'échelle de taille est la même pour chaque photo.

À mesure que le temps avance, on peut apercevoir le grossissement de certaines bulles et la diminution de taille, puis la disparition, d'autres bulles. Comme expliqué dans le chapitre 1, les plus grosses bulles vident le gaz des plus petites bulles, impliquant la réduction du nombre total de bulles. Ce processus mène à un accroissement de la taille moyenne de la population de bulles, comme le montre la Figure 4- 10, où est tracé le diamètre de bulle moyen en fonction du temps pour différentes fractions liquides.

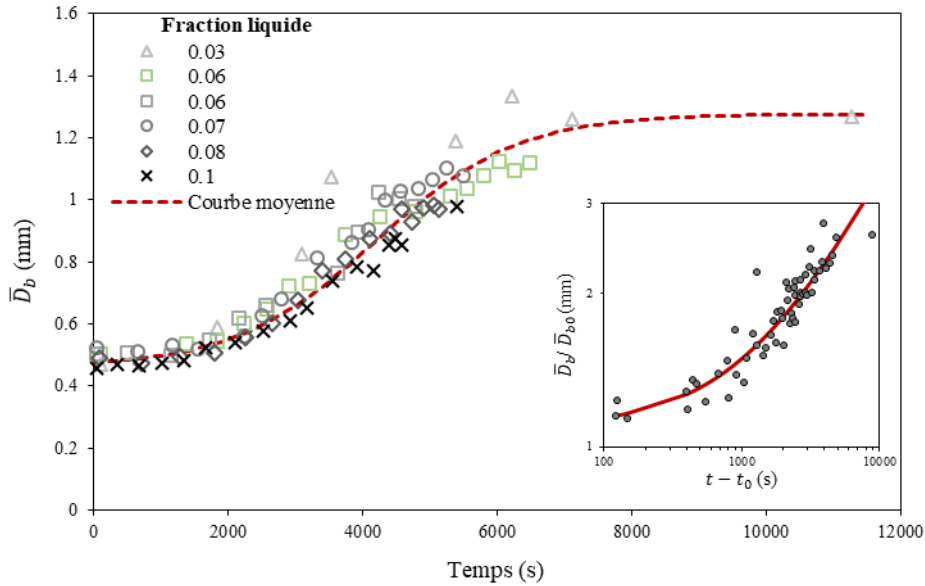


Figure 4- 10. Evolution du diamètre moyen des bulles de la mousse de Glucopon en fonction du temps pour différentes fractions liquides allant de 4 à 12% avec  $D_{b,0} \approx 0,5\text{mm}$  et  $D_g = 2\text{mm}$ . L'encart représente toutes les données de  $\bar{D}_b/\bar{D}_{b0}$  en fonction de  $t - t_0$  (avec  $t_0 \approx 2000\text{s}$ ) avec deux échelles logarithmiques. La courbe continue suit la loi de puissance  $\sim (t - t_0)^{1/2}$ . Le diamètre des bulles est déterminé à partir des observations à la paroi de la colonne.

D'après la Figure 4- 10, la taille des bulles n'évolue pas ou peu pendant les 25 premières minutes (1500 secondes) indépendamment de la fraction liquide de la mousse. Ensuite, le diamètre moyen augmente avec le temps selon la loi de puissance  $\bar{D}_b \propto (t - t_0)^{1/2}$ , avec  $t_0 \approx 2000\text{s}$ , de la même façon qu'une mousse non confinée (voir chapitre 1). Puis cet accroissement ralentit à partir d'environ 1h30 (5000 secondes) et s'arrête après environ 2h. À ce moment-là, le murissement est terminé, les bulles sont contraintes par le volume des pores. Les bulles de la mousse à la fraction liquide de 4% ont un diamètre final moyen de 1,27 mm, correspondant à une valeur de  $r = 0,64$ . Cette valeur est comparable aux valeurs  $r_v$ , indiquées dans le Tableau 4- 1 du paragraphe 2.2, relatif au rapport de tailles pour lequel chaque pore est rempli par une bulle.

En dehors du grossissement des bulles, le murissement des mousses confinées s'accompagne d'une évolution de la géométrie des ponts liquides (situés aux contacts entre les grains ou entre les grains et la paroi du tube) : le pont liquide est formé d'une couronne de 10 ou 12 bulles aux temps courts (Figure 4- 9), et s'appauvrit en nombre bulles aux temps longs (6 en moyenne autour des contacts). Par ailleurs, la taille des ponts liquide augmente au cours du temps.



Dans la mesure où ces ponts liquides sont amenés à jouer un rôle particulier, nous nous sommes focalisés sur l'évolution de leur taille. La Figure 4- 11 présente des résultats obtenus pour les différentes fractions liquides étudiées.

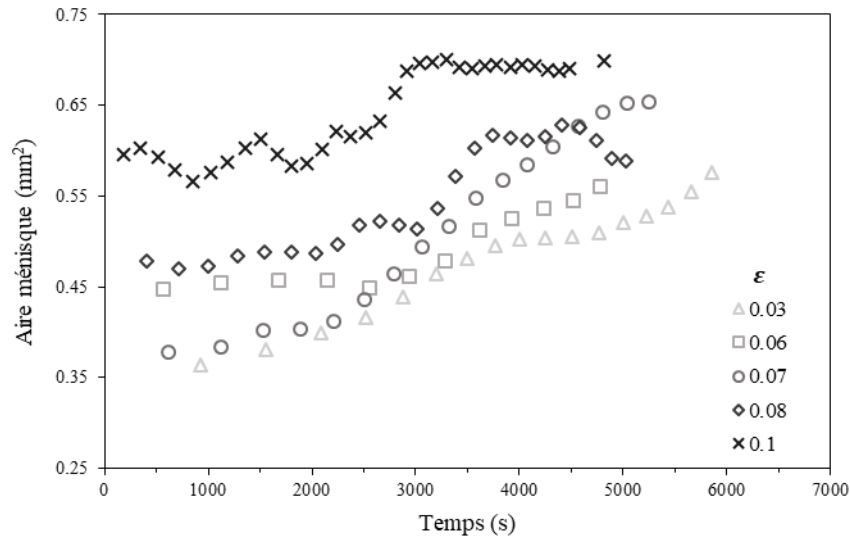


Figure 4- 11. Aire moyenne des ponts liquides en fonction du temps pour des fractions liquides initiales différentes. Barre d'erreur de 10%.

On observe que l'aire des ponts liquide augmente globalement en même temps que la taille des bulles, puis atteint un plateau au bout de plusieurs dizaines de minutes selon la fraction liquide dans la mousse.

Cette observation suggère, qu'à fraction liquide constante, la taille des ponts dépend du rapport des tailles  $r$ . Une étude plus systématique de modélisation de l'effet du rapport des tailles  $r$  sur la taille des ponts liquides de mousses monodisperses, mais aussi sur la répartition plus globale de liquide dans les différents éléments structuraux liquides, a été menée au sein de l'équipe et a fait l'objet d'une publication (Pitois et al, 2023<sup>111</sup>). Le volume de liquide au niveau des contacts entre grains (ponts liquide) augmente avec le rapport  $r$  au détriment du volume de liquide dans la mousse libre. L'utilisation de grande valeur de  $r$  est donc plus favorable dans le contexte de la bio-cimentation. L'étude révèle également que le volume de liquide des bords de Plateau pariétaux augmente aussi avec le rapport  $r$ , de manière plus importante que celui des ponts liquide<sup>111</sup>.



### 3.2. Mesure de la perméabilité au cours du temps

La perméabilité au liquide a été déterminée par la méthode expliquée dans le paragraphe 6.4 du chapitre 2. Nous présentons ci-dessous (Figure 4- 12) l'évolution de la perméabilité de la mousse  $k_f$  mesurée au cours du temps pour des mousses confinées de différentes fractions liquides.

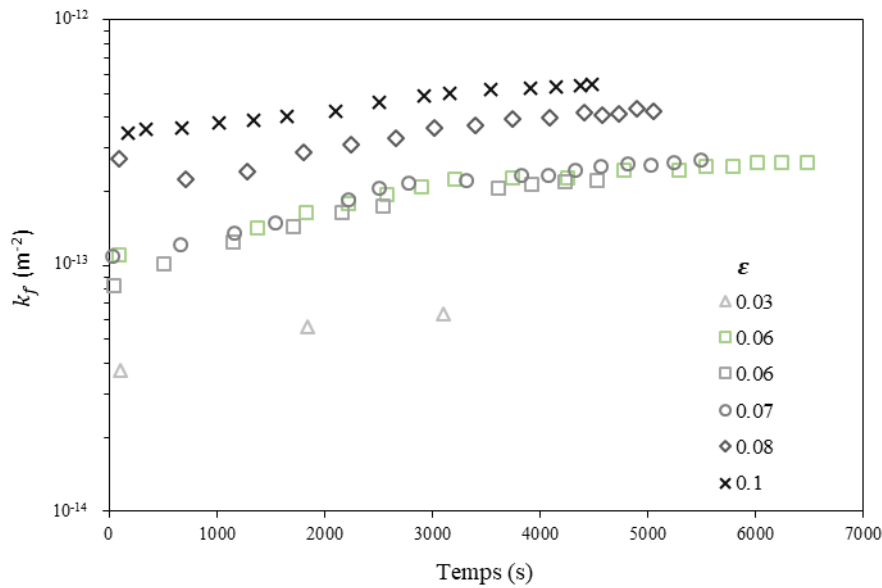


Figure 4- 12 : Perméabilités au liquide de la mousse  $k_f$  en fonction du temps pour différentes fractions liquide de la mousse confinée dans les empilements de tailles de grains 2mm et avec  $D_{b,0} \approx 0,5mm$ .

D'après la Figure 4- 12, la perméabilité des mousses confinées augmente au cours du temps. On retrouve par ailleurs le résultat décrit précédemment : plus une mousse est humide, plus elle est perméable.

L'augmentation de perméabilité se comprend si l'on considère l'augmentation de la taille des bulles :  $k_f(t) \propto \tilde{k}_{f0} D_b^2(t)$ . L'effet de  $C(r)$  est à considérer également, comme on peut s'en rendre compte de la manière suivante.

Lorsqu'on trace la perméabilité adimensionnée par carré de la taille des bulles ( $\tilde{k}_f = k_f / \bar{D}_b^2$ ) (Figure 4- 13.a), on peut s'apercevoir que l'évolution de ce  $\tilde{k}_f$  n'est pas constante au cours du temps, elle diminue à partir d'environ 2000 secondes ( $\sim 30min$ ).

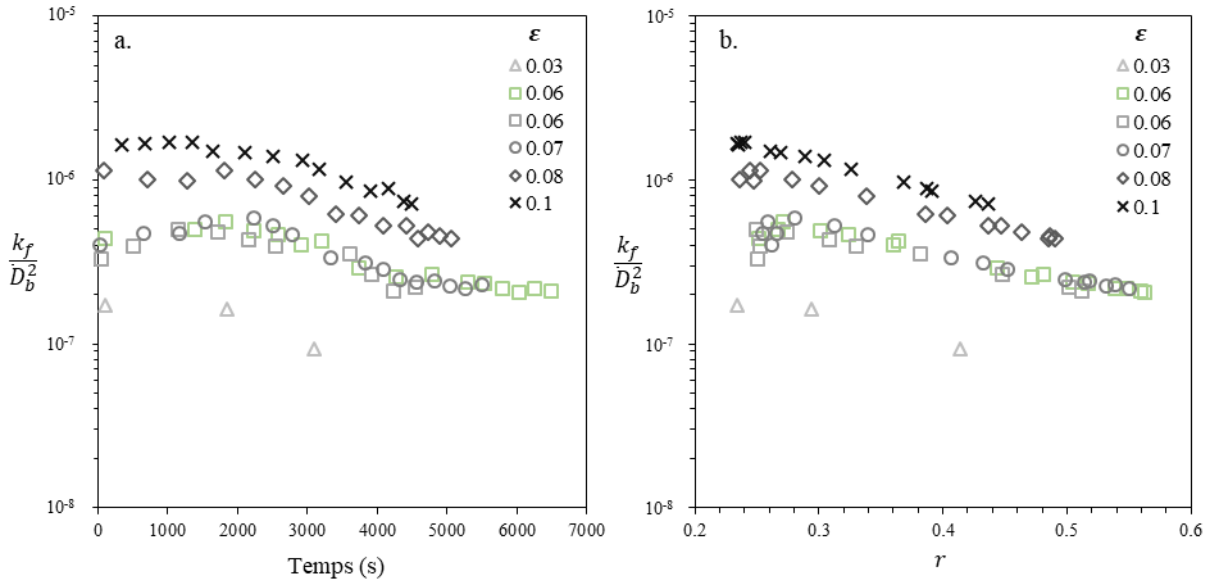


Figure 4- 13. Perméabilité  $k_f$  adimensionnée par le carré de la taille des bulles moyen  $\bar{D}_b$  en fonction a. du temps et b. du rapport  $r$  pour différentes fractions liquides initiales de la mousse avec  $D_{b,0} \approx 0,5\text{mm}$  et  $D_g = 2\text{mm}$ . Le diamètre de bulle moyen dépend du temps et est déterminé à la paroi de la colonne. Pour rappel :  $\tilde{k}_f = k_f/D_b^2$ .

Ainsi, l'effet de taille des bulles n'est pas le seul facteur de l'évolution de la perméabilité au cours du temps. En effet, puisque la taille des bulles augmente, le rapport de taille  $r$  ( $D_b/D_g$ ) augmente de la même façon. D'après le paragraphe 2, on sait aussi que ce rapport  $r$  est un paramètre crucial dans l'évolution de la perméabilité. Connaissant l'évolution de la taille des bulles au cours du temps et par conséquent celle de  $r$ , il est possible de tracer la perméabilité  $\tilde{k}_f$  en fonction de  $r$  (Figure 4- 13.b). On peut remarquer une relation du type exponentielle décroissante entre la perméabilité  $\tilde{k}_f$  et le rapport  $r$  :  $\tilde{k}_f \propto \exp(-cr)$ . Les positions relatives de ces différentes courbes reflètent l'effet de la fraction liquide, que l'on peut gommer en divisant le rapport  $\tilde{k}_f$  par  $\tilde{k}_{f0}$  (Figure 4- 14). Ce rapport correspond, dans le cas des mousses monodisperses, au coefficient  $C(r)$ . La Figure 4- 14 montre que les rapports  $\tilde{k}_f/\tilde{k}_{f0}$  obtenus au cours du murissement se comparent relativement bien au coefficient  $C(r)$  obtenu aux temps courts avec des mousses monodisperses (cf. paragraphe 2.2 pour la mousse de GlucoPON). Toutefois, les mesures effectuées au cours du murissement permettent d'étendre la gamme des valeurs de  $r$  étudiées dans le paragraphe précédent (de 0,5 à 0,55) car le murissement permet d'atteindre des tailles de bulles comparables à celles des pores, ce que n'a pas permis l'injection de mousse monodisperse.

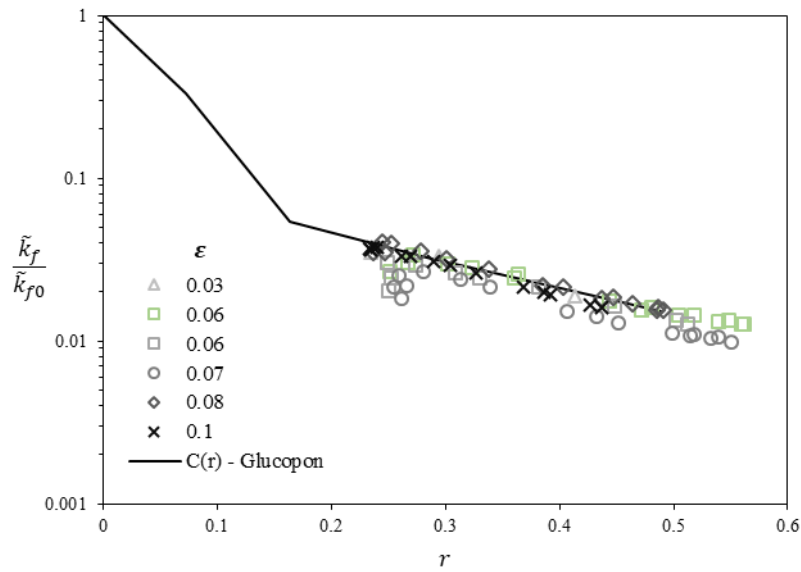


Figure 4- 14. Rapport des perméabilités de la mousse de Glucocon confinée  $k_f$  et de la mousse de référence  $k_{f0}$  en fonction de  $r$  pour différentes fractions liquides initiales pour  $D_g = 2mm$ . La courbe noire représente l'évolution du coefficient  $C(r)$  en fonction de  $r$  pour les mousses monodisperses de Glucocon présentée dans la Figure 4- 4.

## 4. Conclusion du chapitre

Nous avons mesuré les valeurs de perméabilité au liquide d'empilements de grains remplis de mousse de Glucocon et de saponine. Nous avons observé un effet important du tensioactif utilisé sur l'évolution de la perméabilité en fonction du rapport entre la taille des bulles et celle des grains ( $r = D_b / D_g$ ). Pour la saponine, la perméabilité diminue de façon très importante en fonction de  $r$ . L'évolution est similaire pour le Glucocon tant que  $r$  est inférieur à 0,25. Pour des rapports plus élevés, la diminution de la perméabilité quand  $r$  augmente est moins prononcée. Cette différence est également mise en évidence lorsque l'on trace le rapport de la perméabilité (Glucocon/saponine) :

- Pour  $r \leq 0,25$ , le rapport de perméabilité des mousses confinées est approximativement égal à 5, ce qui est comparable au rapport des mousses non confinées ;
- Pour  $r > 0,25$ , le rapport de perméabilité des mousses confinées augmente fortement et met en évidence l'effet de la mobilité des interfaces.

Il a été suggéré que le premier régime ( $r \leq 0,25$ ) est lié à la diminution de la densité des bords de Plateau de mousse de pores au profit des bords de Plateau pariétaux à la surface des grains dont le volume de liquide augmente avec l'augmentation de  $r$ . Lorsque le rapport bulle-grain augmente encore, la microstructure de la mousse change radicalement et un nouveau réseau liquide est activé, où des ponts liquides connectés par les bords de Plateau remplacent totalement le réseau liquide spécifique aux mousses libres.

L'étude du murissement de la mousse confinée de Glucopon a permis de confirmer le lien entre la perméabilité au liquide du système et  $r$ . De plus, l'évolution microstructurale de la mousse s'arrête au bout de quelques heures, lorsque chaque pore ne contient en moyenne plus qu'une bulle. Enfin, cette étude complémentaire a permis d'étudier des valeurs de  $r$  supérieures à celles qu'il était possible d'atteindre en injectant une mousse monodisperse de grosses bulles (susceptibles de casser).

Dans le contexte d'une utilisation de la mousse pour la bio-calcification d'un milieu granulaire, les tailles de bulles seront si possible choisies pour des grands rapports  $r$ , afin d'avoir peu de murissement et de bien concentrer la phase liquide dans les zones stratégiques pour la calcification (ponts liquide entre grains). Dans cette configuration, l'utilisation d'une mousse présentant des interfaces "mobiles" (Glucopon) à la place d'une mousse présentant des interfaces "non mobiles" (saponine) favorisera l'écoulement de liquide dans le milieu. Les APGs sont donc considérés comme étant plus favorables pour l'introduction de mousse dans les méthodes de bio-calcification.



# **Chapitre 5 : Bio-calcification en milieu granulaire**

Dans les chapitres précédents, nous avons cherché à déterminer, à l'aide de mesures globales, les paramètres de formulation favorisant la formation de carbonates de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) en milieu liquide. Dans ce chapitre, nous abordons une approche plus locale en cherchant à observer la formation des  $\text{CaCO}_3$  dans des volumes de liquides confinés. Nous présenterons des observations (effectuées à l'aide d'un microscope) de précipitations de  $\text{CaCO}_3$  dans une goutte placée entre deux plaques, puis dans un milieu granulaire 2D.

Compte tenu des résultats présentés dans les chapitres précédents, les observations ont été menées uniquement pour une formulation optimale (*S. pasteurii*, mousse de C10M,  $DO_{\text{initiale}}/[AcCa]$  environ égale à  $1\text{M}^{-1}$  ( $=\text{l/mol}$ ), et  $[AcCa]$  comprise entre 1 et 2 mol/l). Dans le cas des milieux granulaires 2D, un rapport de taille  $r$  élevé a été utilisé afin de concentrer les  $\text{CaCO}_3$  formés au plus près des contacts entre les grains.

### 1. Bio-calcification dans une goutte entre deux plaques

Pour cette première expérience de bio-calcification entre deux plaques, une suspension de *S. pasteurii* âgée de 48h est placée dans la solution calcifiante moussante (AcCa, urée, milieu nutritif et C10M) préparée comme expliqué dans le paragraphe 2 du chapitre 2. Une goutte de cette nouvelle suspension est ensuite placée entre deux plaques espacées de 500  $\mu\text{m}$ . L'aspect de la goutte (Figure 5- 1) est observé au cours du temps au microscope binoculaire Leica Z16 APO.

Entre l'ensemencement et le début de l'observation, le lapse de temps est d'environ 5 à 10 min.

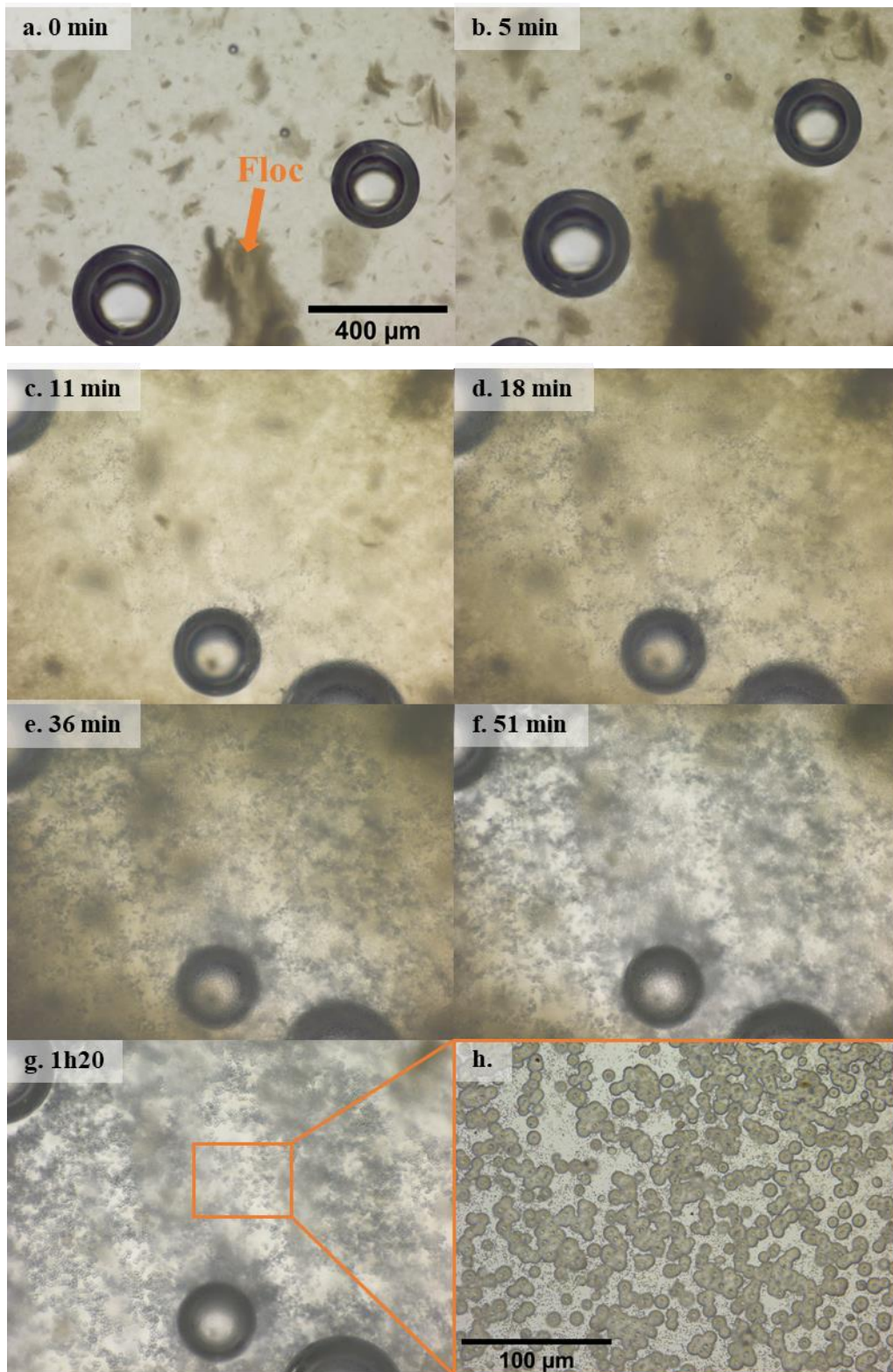


Figure 5- 1. Observations au microscope d'une goutte de solution moussante ( $[ClOM] = 2 \text{ CMC}$ ) et bio-calcifiante (*S. pasteurii*,  $DO=2$ ,  $[AcCa] = 1 \text{ mol/l}$ ) placée entre deux lames de verre à différents temps a : 0 min ; b : 5 min ; c : 11 min ; d : 18 min ; e : 36 min ; f : 51 min ; g : 1h20 ; h : zoom de g. Les photos a et b n'ont pas été prises dans la même zone que les autres photos.



Dans un premier temps, on peut observer quelques flocs bruns (Figure 5- 1.a), puis il semble y avoir une diffusion des bactéries dans le liquide : la couleur brune se propage (Figure 5- 1.b). Entre 5 et 10 minutes, on remarque l'apparition de petits précipités, du  $\text{CaCO}_3$  (Figure 5- 1.c). Ces précipités grossissent et se multiplient (Figure 5- 1.c-g) jusqu'à environ 1h alors que la couleur brune s'intensifie encore pendant les 30 premières minutes puis s'atténue entre 30 et 50 minutes. D'après la littérature (cf. chapitre 1), la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  se produit autour des cellules bactériennes. Cela suggère que, à la fin de la précipitation, les bactéries « disparaissent » car les cellules se retrouvent encapsulées par la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . Dans la Figure 5- 1.h, les précipités apparaissent de forme sphérique.

## 2. Bio-calcification dans un milieu granulaire 2D

### 2.1. Montage expérimentale

Pour les expériences en milieu granulaire, la suspension bactérienne est préparée de la même façon que dans le paragraphe précédent. Une fois le milieu de culture remplacée par la solution calcifiante, la suspension est mélangée avec la mousse puis injectée dans le milieu granulaire 2D présenté dans la Figure 5- 2 de manière à remplir la porosité. Le milieu granulaire est constitué d'une couche de billes (grains) de verre d'un diamètre de  $D_g = 3$  mm placé dans un canal parallélépipédique. Les cuvettes en entrée et sortie de la cellule permettent d'introduire la mousse de manière homogène dans l'espace granulaire. La mousse est produite à partir d'une solution du même tensioactif (C10M) présent dans la solution calcifiante (paragraphe 2 du chapitre 2) et d'air de façon à former des bulles de diamètre d'environ 2 mm. La fraction liquide de la mousse bio-calcifiante est contrôlée lors du mélange entre la mousse et la solution calcifiante + bactéries. Le principe est détaillé dans le paragraphe 5.2 du chapitre 2.

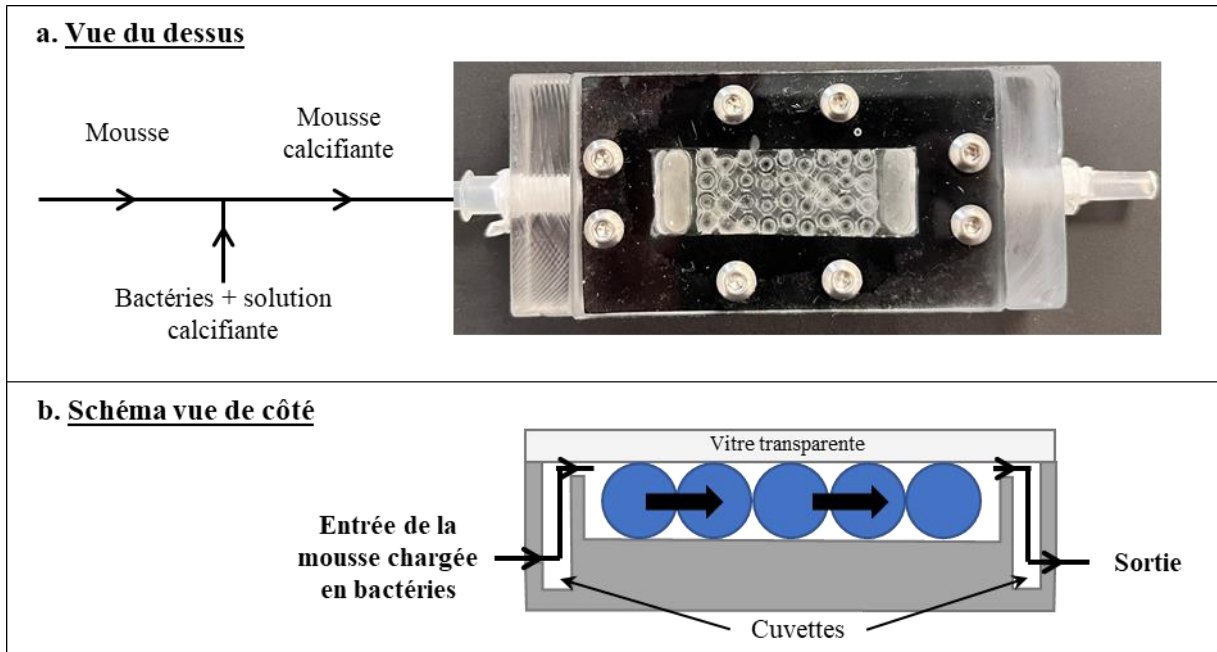


Figure 5- 2. Dispositif 2D de bio-calcification en milieu granulaire a. vu du dessus et b. schématisé vu de côté. Les grains utilisés font 3 mm de diamètre.

L'observation de la cellule par le dessus, comme vu dans la Figure 5- 2.a et la Figure 5- 3, permet de voir les ponts liquide entre grains/paroi et entre grains/grains (plan perpendiculaire), zones stratégiques pour la bio-cimentation.

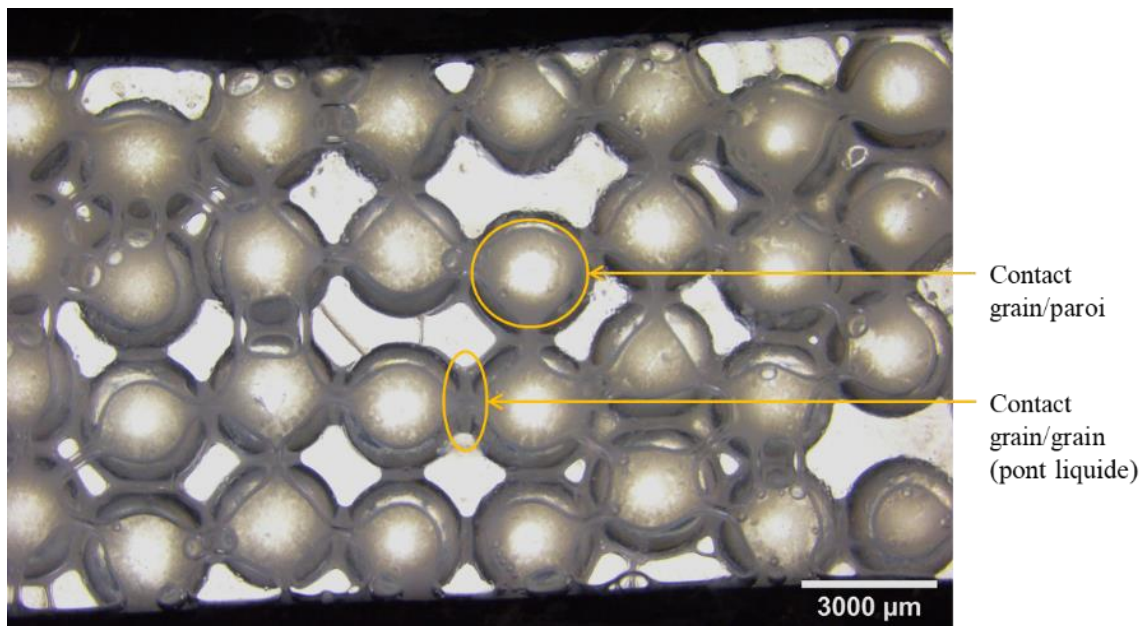


Figure 5- 3. Cellule 2D de grains ( $D_g = 3\text{mm}$ ) remplie de mousse bio-calcifiante à environ 10% de fraction liquide. Des exemples de contacts grain/grain et grain/paroi sont marqués d'ellipses orange.

## 2.2. Un traitement du milieu granulaire 2D

La première expérience de bio-cimentation dans le milieu granulaire avec la mousse est effectuée pour une fraction liquide d'environ 20%, une concentration en acétate de calcium (AcCa) de 1 mol/l et une suspension bactérienne initiale avec une  $DO = 2$ . La durée de l'expérience est de 2h. La Figure 5- 4 montre l'évolution de l'aspect du système au niveau d'un pont entre un grain ( $D_g = 3\text{mm}$ ) et la paroi. Le système évolue de la même façon que ce qui est montré dans le paragraphe 1 : les bactéries se propagent, puis la précipitation démarre et les bactéries disparaissent peu à peu tandis que les cristaux de  $\text{CaCO}_3$  sphériques grossissent. Le développement des bactéries commence avant le début de l'expérience, dès que les bactéries ont un nouveau milieu de culture (5 à 10 min entre l'ensemencement et le début de l'expérience).

La Figure 5- 5 montre l'aspect du milieu granulaire en fin d'expérience en faisant apparaître les contacts grains/paroi mais aussi grains/grains. Les contacts grains/paroi ressemblent à ce qui est observé au bout de 1h dans la Figure 5- 4.d. Par ailleurs, on remarque que les ponts liquide entre grains sont particulièrement sombres. La précipitation semble plus concentrée dans ces zones.

Malgré tout, aucune cohésion entre les grains n'a pu être observée à la fin de l'expérience. En effet, une fois la cellule rincée et les grains séchés à l'étuve ( $40^\circ\text{C}$ ) pendant deux jours, les grains traités sont observés au Microscope Electronique à Balayage (MEB) (Figure 5- 6). Sur ces images, on peut observer une monocouche de particules sphériques de  $\text{CaCO}_3$ . Les particules précipitées ont un diamètre d'environ  $15\ \mu\text{m}$ . En revanche, aucun pont solide n'est observé à ce stade. La quantité de  $\text{CaCO}_3$  précipité en un seul traitement ne semble pas suffisant pour former des ponts entre les grains. Il faut pouvoir précipiter beaucoup plus de  $\text{CaCO}_3$  soit en apportant une solution bien plus concentrée en  $\text{Ca}^{2+}$  pour les bactéries, soit en répétant le traitement plusieurs fois de sorte d'accumuler le  $\text{CaCO}_3$  au fil des traitements.

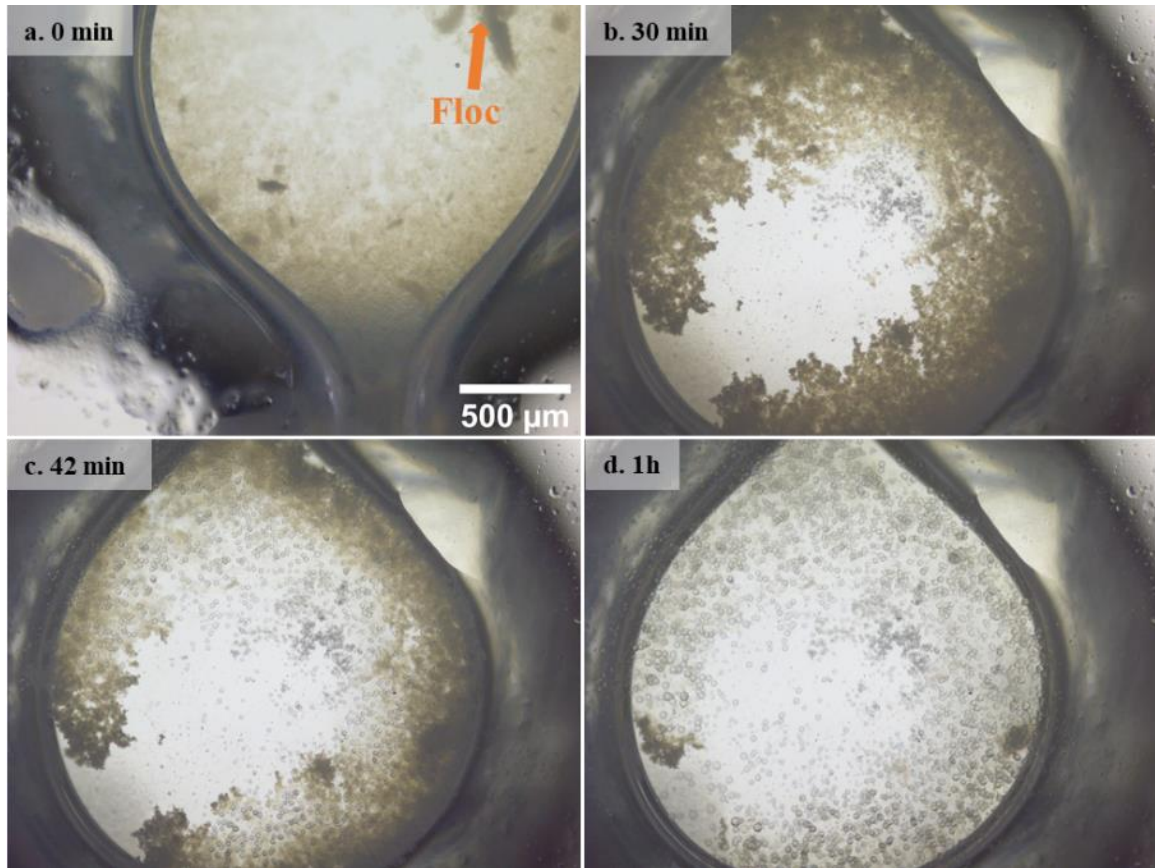


Figure 5- 4. Observations au microscope de la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  au cours du temps au niveau d'un contact entre un grain ( $D_g = 3\text{mm}$ ) et la paroi.

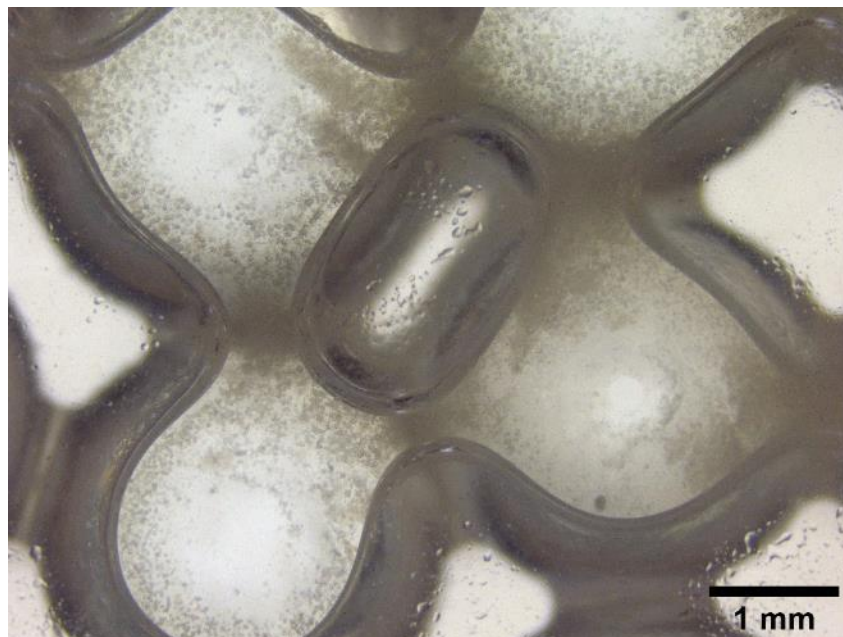


Figure 5- 5. Observation au microscope de la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  au niveau de plusieurs contacts entre un grain/paroi et entre grain/grain ( $D_g = 3\text{mm}$ ).



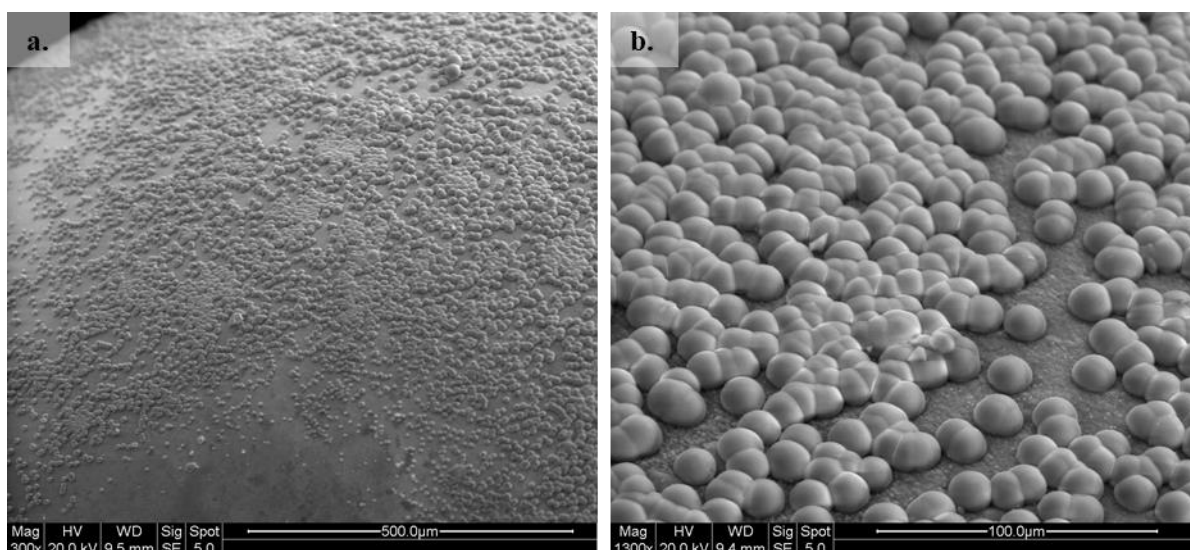


Figure 5- 6. Observations au MEB d'une surface de grains à deux échelles après un traitement avec la mousse bio-calcifiante.

### 2.3. Plusieurs traitements du milieu granulaire 2D

On cherche à précipiter un maximum de  $\text{CaCO}_3$  pour avoir la formation de ponts solides entre les grains. Pour faire cela, plusieurs paramètres sont modifiés : le traitement du milieu granulaire est effectué 4 fois et la fraction liquide de la mousse bio-calcifiante est diminuée à 10%. Afin de ne pas diminuer la densité de bactéries injecté dans le milieu granulaire la concentration en bactérie (initialement  $\text{DO} = 2$ ) est aussi multipliée par 10 avec une concentration en AcCa à 1 mol/l. Il est à noter que la limite de solubilité de l'AcCa dans l'eau ( $\sim 2,5$  mol/l) rend l'augmentation de la concentration en AcCa difficile lors de la préparation des solutions.

La cellule granulaire est prise en photo au microscope à chaque début et fin de traitement (Figure 5- 7). Chaque traitement dure environ 1h.

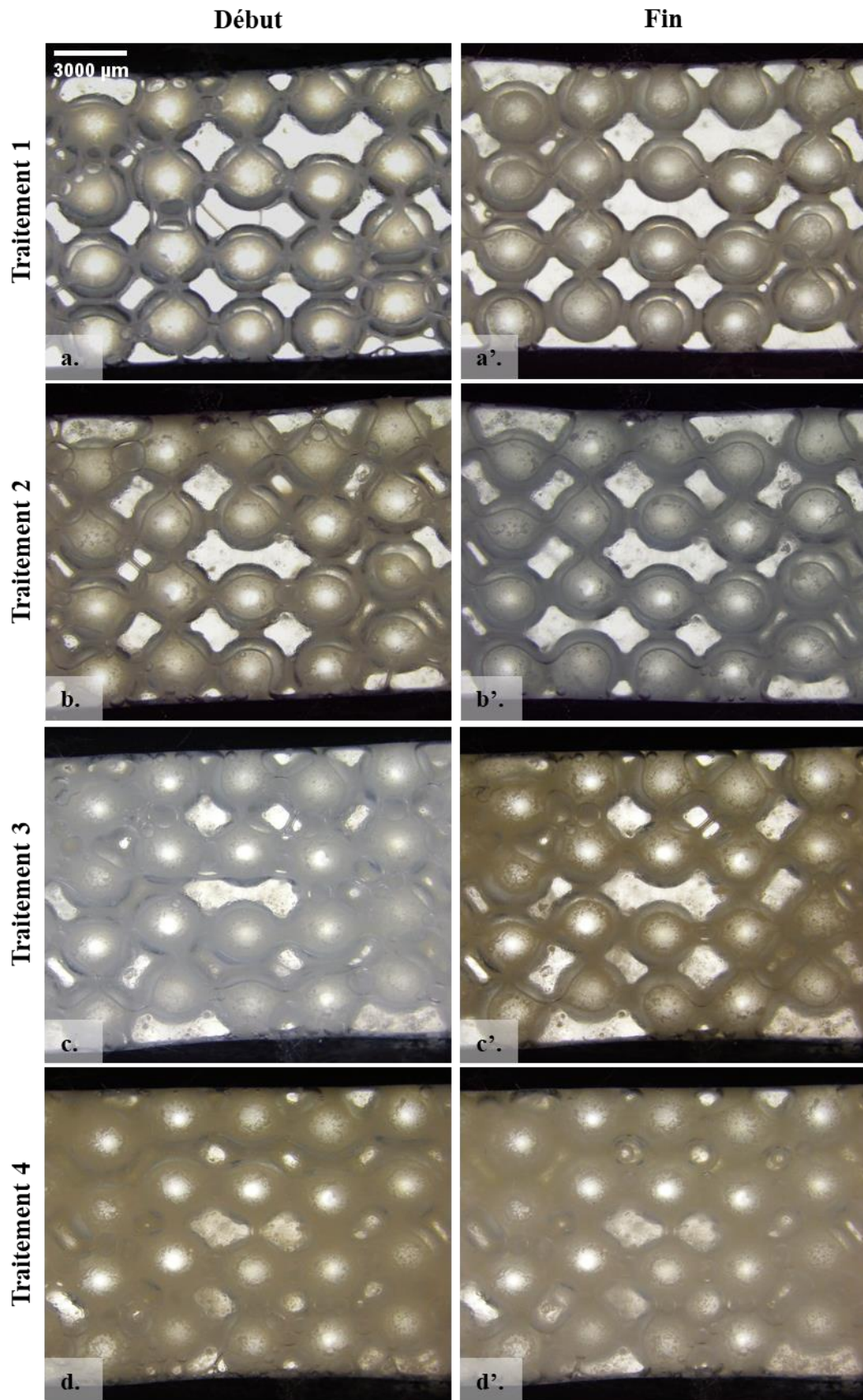
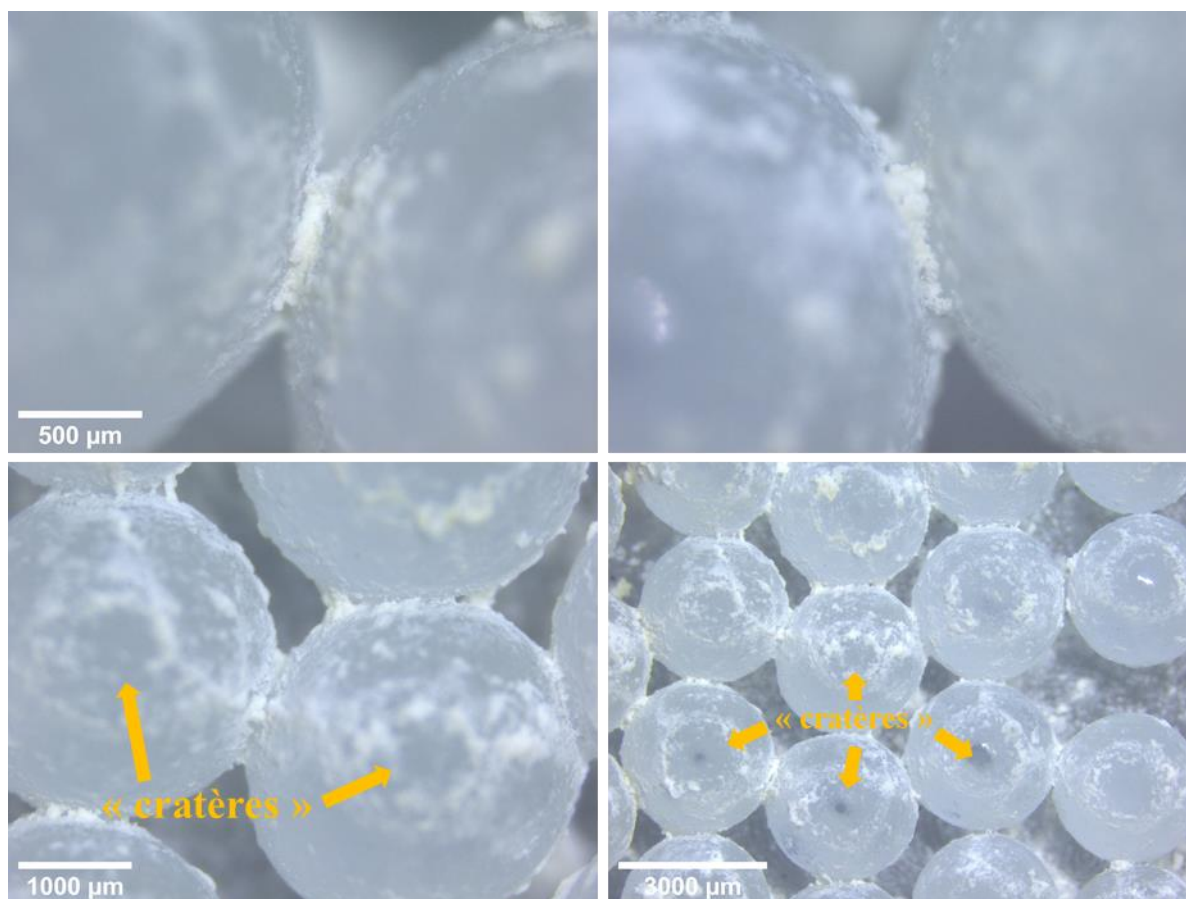


Figure 5- 7. Observations au microscope de la bio-précipitation au cours des 4 traitements du milieu granulaire.

Une fois les 4 traitements effectués, la cellule est rincée et séchée à 40°C pendant quelques jours. La Figure 5- 8 montre des images au microscope des grains dans la cellule après séchage. Les précipités solides blancs correspondent au CaCO<sub>3</sub>. On remarque sur les images (Figure 5- 8) des « cratères » de CaCO<sub>3</sub> au niveau des contacts grains/paroi pouvant être assimilés à des ponts solides. On peut observer que des ponts solides se sont également formés au niveau de quasiment tous les contacts entre grains/grains. Néanmoins, ces ponts ne sont pas suffisamment solides pour conférer une cohésion importante au milieu granulaire : le simple fait d’ôter la vitre transparente, pour accéder à l’intérieur de la cellule, implique de casser des contacts entre grains. Il est aussi impossible de prélever deux grains en contact de manière à garder le pont de CaCO<sub>3</sub> intact.



*Figure 5- 8. Observations au microscope de la cellule granulaire après les 4 traitements, rinçage et séchage. Certains « cratères » sont marqués par une flèche.*

La Figure 5- 9 révèlent les images au MEB de ces grains traités à plusieurs échelles. Dans les Figure 5- 9.a, b et c, les ponts solides sont bien visibles. La Figure 5- 9.d montre qu’après 4



traitements, on obtient plusieurs couches de particules plutôt sphériques et de diamètre d'environ 10  $\mu\text{m}$  sur la surface des grains de verre.

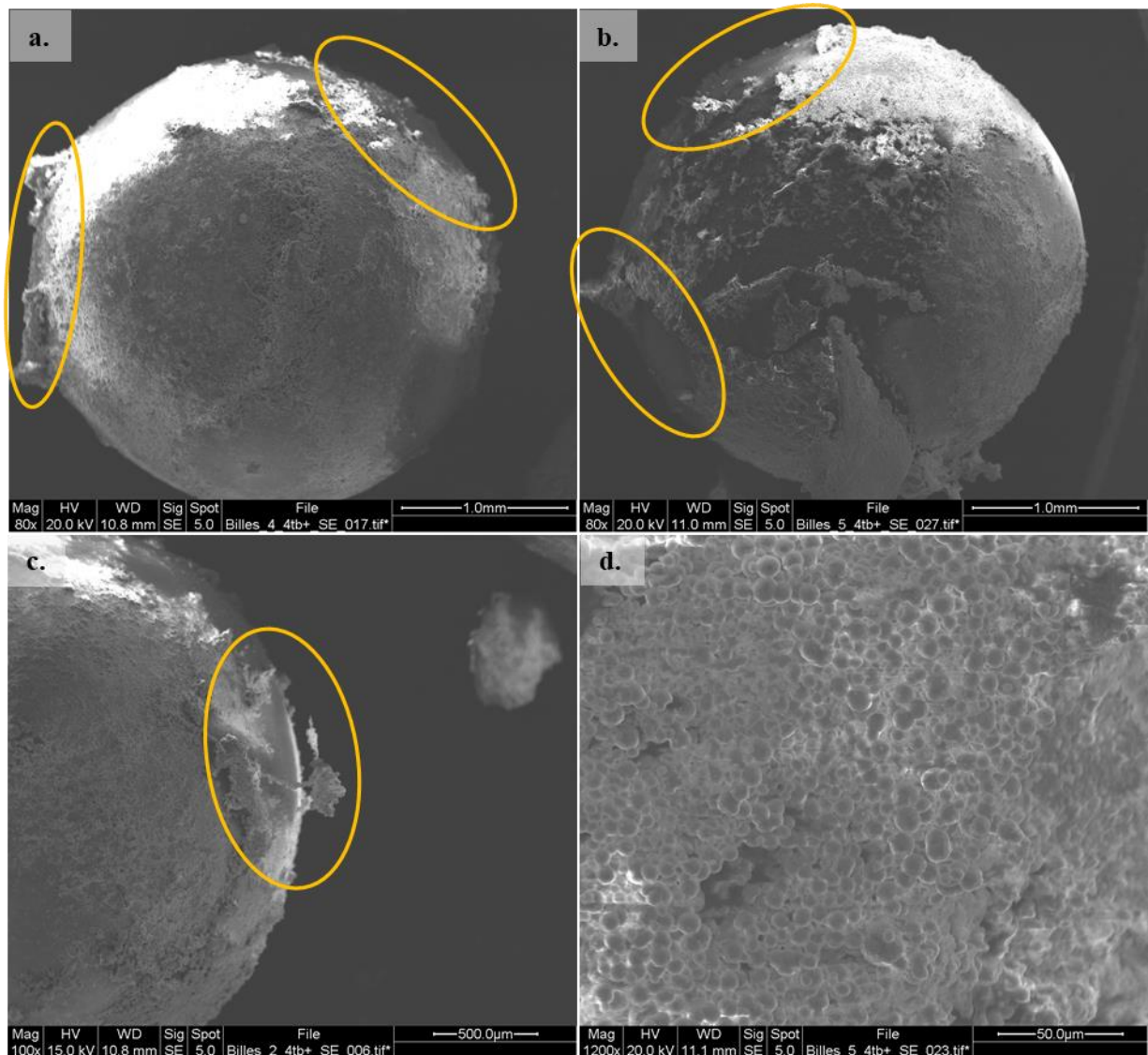


Figure 5- 9. a,b,c : Images MEB des billes de verre traitées 4 fois. Les ellipses orange marquent les « cratères », marques d'anciens contacts entre grains. d : Images MEB de la surface d'une bille de verre traitée 4 fois.



### 3. Conclusion du chapitre

Les observations de la bio-calcification au cours du temps entre deux lames et dans un empilement de grains 2D confirment que la précipitation avec la souche *S. pasteurii* est rapide et s'achève au bout d'environ 1h en présence de C10M dans ces conditions expérimentales.

Traiter les grains une fois avec la mousse bio-calcifiante permet d'obtenir une monocouche de particules de  $\text{CaCO}_3$  de forme sphérique. Avec quatre traitements, nous sommes capables de former des ponts solides entre les grains mais pas suffisamment étendus pour améliorer la cohésion entre les grains. À long terme, nous savons que les bactéries peuvent dégrader

Dans ce chapitre, nous nous sommes focalisés sur l'optimisation de la production en  $\text{CaCO}_3$  au niveau des contacts entre les grains afin de vérifier la faisabilité de la bio-cimentation à partir de mousse bio-calcifiante. Les observations suggèrent que la "méthode mousse" nous permet de former des ponts solides entre les grains et donc suggèrent une application potentielle de la méthode pour améliorer la résistance mécanique des sols ou simplement pour conférer une cohésion à des matériaux granulaires. Cependant, le procédé nécessite des améliorations avant d'obtenir de la cohésion entre les grains. Plusieurs voies peuvent être envisagées afin de modifier les mécanismes biologiques (activité de l'uréase par exemple), chimiques (favoriser la production de  $\text{CaCO}_3$ ), ou le procédé lui-même (méthode d'injection). Nous allons préciser ces éléments dans les paragraphes ci-dessous.

Commençons par nous intéresser à la composition de la solution moussante et bio-calcifiante. Une première idée pourrait consister à supprimer le milieu nutritif au moment de l'injection, si les bactéries utilisent les tensioactifs comme nutriments (dans le cas des maltosides), la présence de ces molécules pourrait suffire au développement et à la précipitation par les bactéries. Concernant les aspects chimiques, il semblerait utile d'étudier d'autres sources de calcium. En effet, l'AcCa est contraignant pour atteindre des concentrations élevées en calcium. Le chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) a été démontré dans la littérature<sup>14,33,34</sup> comme une source efficace en termes de quantité de  $\text{CaCO}_3$  produite et d'amélioration des propriétés mécaniques. Remplacer l'AcCa par du  $\text{CaCl}_2$  est une bonne solution pour augmenter la concentration en calcium. Néanmoins, l'utilisation de concentrations importantes en réactifs ne favorise pas forcément l'amélioration des propriétés mécaniques dans des échantillons de plus grandes dimensions. Une forte concentration en réactifs peut provoquer l'agglomération de précipités, rendant la propagation des réactifs dans tout l'échantillon difficile (cf. chapitre 1). Ainsi, les concentrations optimales

en réactifs doivent aussi tenir compte du procédé d'injection et de la taille des systèmes à traiter. La mise en œuvre de l'expérience est aussi discutable : le traitement pourrait être répété plus longuement ou une double injection pourrait être envisagée (bactéries puis réactifs). Avec une densité optique aussi élevée que dans le paragraphe 2.3, on risque d'être très limitant en calcium. On pourrait essayer une injection de bactéries avec la mousse puis plusieurs injections d'AcCa (par gravité).

La taille des grains de 3 mm nous a permis d'observer facilement la bio-calcification dans l'échantillon granulaire, mais nous savons que des tailles de grains plus petites et éventuellement plus dispersées sont plus favorables pour la bio-cimentation.



## **Conclusions et perspectives**

Cette thèse s'inscrit dans la perspective de développer un matériau poreux innovant à partir de mousses bio-calcifiantes. La mousse doit servir de support pour introduire les bactéries calcifiantes dans le matériau granulaire à traiter et les positionner au plus proche des points de contact entre les grains.

Avant de tester cette méthode de bio-cimentation, il a été nécessaire de déterminer les formulations de mousses (choix des bactéries, de tensioactifs et de source de calcium) permettant la production de carbonate de calcium. Par ailleurs, en rapport avec les problématiques liées au procédé MICP, un travail a été mené afin de comprendre les propriétés hydrauliques et l'évolution structurelles des mousses liquides confinées dans un milieu granulaire.

Dans un premier temps, nous avons pu sélectionner les souches *A2-3* et *Sporosarcina pasteurii* pour assurer la précipitation de carbonate de calcium. Plusieurs tensioactifs ont été testés sur ces deux souches afin de vérifier leur compatibilité par une étude de respirométrie et une étude de la croissance bactérienne. Les résultats ont permis de mettre en évidence trois tensioactifs potentiels pour développer les mousses bio-calcifiantes : la saponine et les Alkyl Poly Glucosides C8M et C10M. Une étude chromatographique prouve que les bactéries dégradent ces tensioactifs sur une durée de 14 jours, ce qui explique l'activité plus importante des bactéries en présence de ces molécules lors des mesures de respirométrie.

Des expériences de bio-calcifcation ont ensuite été réalisées en présence de ces trois tensioactifs avec les deux souches *A2-3* et *S. pasteurii*. Les échantillons effectués avec la souche *A2-3* ont produit peu de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) indépendamment du tensioactif utilisé. Par contre, la souche *S. pasteurii* a permis de précipiter rapidement (en  $\sim 1\text{h}$ ) une plus grande quantité de  $\text{CaCO}_3$  avec des taux de conversion de l'acétate de calcium (AcCa) proche de 90%. Les expériences en présence de C10M ont donné la cinétique de précipitation la plus rapide. Le rapport des concentrations [*bactéries*]/[Ca], plus précisément  $DO_{\text{initiale}}/[AcCa]$ , permettant d'optimiser la conversion de l'AcCa en  $\text{CaCO}_3$  (en un jour) vaut environ  $1\text{ M}^{-1}$  avec une concentration en AcCa entre 1 et 2 mol/l. L'observation des cristaux de  $\text{CaCO}_3$  au microscope optique à balayage (MEB) a permis d'identifier que les cristaux sont de forme sphérique en présence de C10M et saponine et de forme sphérique et d'aiguille en présence de C8M. Cette différence pourrait être dû à la différence de concentration des tensioactifs (le C8M est 10 fois plus concentré que le C10M). Les diffractogrammes révèlent que le  $\text{CaCO}_3$  précipite en vaterite et en calcite peu importe le tensioactif utilisé.

Dans un deuxième temps, une étude de la mousse liquide confinée dans un milieu granulaire a été réalisée en mettant en place une expérience modèle. La production d'une mousse monodisperse a pu être contrôlée en termes de taille de bulles, taille de grains et de fraction liquide. Deux types de mousse ont été étudiés : une mousse aux interfaces mobiles (mousse d'APG) et une mousse aux interfaces rigides (mousse de saponine). La perméabilité aux liquides de ces mousses confinées a pu être mesurée au temps court. Il a été montré que la perméabilité adimensionnée par le carré de la taille des bulles,  $\tilde{k}_f$ , dépendait principalement de trois paramètres : la mobilité interfaciale (deux tensioactifs : APG et saponine), le rapport de taille  $r$  des bulles et des grains et la fraction liquide  $\varepsilon$ . En traçant le rapport des perméabilités  $\tilde{k}_f^{APG}/\tilde{k}_f^{sap}$ , deux régimes se révèlent en fonction de  $r$  :

- Pour  $r \leq 0,25$ , le rapport de perméabilité est égal au rapport correspondant aux mousses en vrac
- Pour  $r > 0,25$ , le rapport de perméabilité augmente fortement et met en évidence l'effet de la mobilité des interfaces.

Aux temps longs et pour tous les échantillons de mousse d'APG confinée, la perméabilité non adimensionnée augmente en fonction du temps jusqu'à atteindre une valeur constante. Cette évolution est directement liée au murissement de la mousse qui correspond au grossissement de la taille moyenne des bulles (par transfert de gaz des petites bulles vers les grosses bulles). Ce phénomène présent dans les mousses non confinées est cependant fortement impacté par le confinement. Par exemple, la taille maximale des bulles d'une mousse confinée se limite à environ une taille de pores, alors qu'elle n'admet pas de limite autre que celle du système macroscopique pour une mousse non confinée. Par ailleurs, la perméabilité au cours du murissement peut également être décrit à partir de la perméabilité liquide intrinsèque de la mousse monodisperse et du coefficient de réduction  $C(r)$  de la perméabilité induite par le confinement. Ces données obtenues au cours du murissement ont permis d'étendre le domaine de validité de ce coefficient à une gamme plus large de rapports de taille  $r$  (de 0,05 à 0,6). De plus, par une observation des ponts liquides, il a été montré qu'à fraction volumique donnée, le volume de liquide au niveau des contacts entre grains (ponts liquide) augmente avec le rapport  $r$ . Il serait donc plus favorable de travailler à grande valeur de  $r$  dans le contexte de la bio-cimentation.

Finalement, quelques observations préliminaires de contacts entre grains ont permis de montrer la formation de ponts solides entre les grains suite à l'injection de mousses bio-calciifiantes (contenant bactéries, source de calcium, etc) dans un milieu granulaire 2D. Cependant, la

calcification ne s'est pas concentrée uniquement au niveau des contacts entre grains et les ponts solides formés n'ont pas présenté de résistance importante. Toutefois, ces expériences devront être répétées en faisant varier de manière plus significative les différents paramètres expérimentaux (taille de grains, procédé d'injection, concentration en calcium).

Il n'est pas encore possible de conclure quant à l'intérêt de la méthode « mousse » pour la bio-cimentation mais plusieurs voies d'amélioration peuvent être considérées. Il est possible d'augmenter la concentration en ions calcium en changeant de source de calcium. Par exemple le chlorure de calcium, ayant une plus grande solubilité que l'acétate de calcium, pourrait permettre d'augmenter la quantité de  $\text{CaCO}_3$  précipité en fin de traitement. Néanmoins, les études bibliographiques montrent qu'une forte concentration en calcium ne favorise pas nécessairement l'efficacité de la bio-cimentation, celle-ci dépendant aussi de l'ensemble du procédé de production des matériaux (injections multiples ou brassage). Ainsi, répéter le traitement plus longtemps à faible dosage en calcium pourrait être une meilleure solution dans certains cas. On peut également travailler sur la rugosité des particules pour que les bactéries s'adsorbent plus facilement à la surface.

D'un autre côté, on pourrait jouer encore sur le rapport  $r$  en allant vers des valeurs proches de 0, soit  $D_g \ll D_b$ . Dans cette situation, il s'agit de former des mousses de suspension de grains, où les grains se situent dans la phase liquide de la mousse. Ces mousses de suspension de grains ont été largement étudiées par Benjamin Haffner<sup>106</sup> lors de sa thèse en 2015. Il a mis en évidence un état bloqué (*Jammed State*) pour lequel les écoulements liquides sont très limités et la mousse stabilisée. Il s'agirait d'exploiter cet état particulier et de franchir une étape supplémentaire en bio-cimentant les grains entre eux grâce à l'utilisation de bactéries calcifiantes. Ainsi la structure poreuse de la mousse serait figée et permettrait d'obtenir un matériau type béton cellulaire.

## Références



- (1) Castanier, S.; Le Métayer-Levrel, G.; Perthuisot, J.-P. Ca-Carbonates Precipitation and Limestone Genesis — the Microbiogeologist Point of View. *Sedimentary Geology* **1999**, *126* (1), 9–23. [https://doi.org/10.1016/S0037-0738\(99\)00028-7](https://doi.org/10.1016/S0037-0738(99)00028-7).
- (2) Le Métayer-Levrel, G.; Castanier, S.; Oriol, G.; Loubière, J.-F.; Perthuisot, J.-P. Applications of Bacterial Carbonatogenesis to the Protection and Regeneration of Limestones in Buildings and Historic Patrimony. *Sedimentary Geology* **1999**, *126* (1), 25–34. [https://doi.org/10.1016/S0037-0738\(99\)00029-9](https://doi.org/10.1016/S0037-0738(99)00029-9).
- (3) De Muynck, W.; Cox, K.; De Belie, N.; Verstraete, W. Bacterial Carbonate Precipitation as an Alternative Surface Treatment for Concrete. *Construction and Building Materials* **2008**, *22* (5), 875–885. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2006.12.011>.
- (4) Martinez Hernandez, H. Amélioration de granulats de béton recyclé par bioprécipitation, Ecole Centrale de Nantes, 2022.
- (5) Bernardi, B.; DeJong, J. T.; Montoya, B. M.; Martinez, B. C. Bio-Bricks: Biologically Cemented Sandstone Bricks. *Construction and Building Materials* **2014**, *55*, 462–469. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2014.01.019>.
- (6) Cheng, L.; Kobayashi, T.; Shahin, M. A. Microbially Induced Calcite Precipitation for Production of “bio-Bricks” Treated at Partial Saturation Condition. *Construction and Building Materials* **2020**, *231* (117095). <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.117095>.
- (7) Lambert, S. E.; Randall, D. G. Manufacturing Bio-Bricks Using Microbial Induced Calcium Carbonate Precipitation and Human Urine. *Water Research* **2019**, *160*, 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.069>.
- (8) Prince Prakash Jeba Kumar, J.; Rajan Babu, B.; Nandhagopal, G.; Ragumaran, S.; Muthiah Ramakritinan, C.; Ravichandran, V. In Vitro Synthesis of Bio-Brick Using Locally Isolated Marine Ureolytic Bacteria, a Comparison with Natural Calcareous Rock. *Ecological Engineering* **2019**, *138*, 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.07.017>.
- (9) Li, Y.; Wen, K.; Li, L.; Huang, W.; Bu, C.; Amini, F. Experimental Investigation on Compression Resistance of Bio-Bricks. **2020**, *265* (120751). <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.120751>.
- (10) Girinsky, O. Pré-Industrialisation d’un Procédé de Consolidation de Sol Par Bio-Calcification in Situ., 2009.
- (11) DeJong, J. T.; Fritzges, M. B.; Nüsslein, K. Microbially Induced Cementation to Control Sand Response to Undrained Shear. *J. Geotech. Geoenviron. Eng.* **2006**, *132* (11), 1381–1392. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)1090-0241\(2006\)132:11\(1381\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)1090-0241(2006)132:11(1381)).
- (12) Harkes, M. P.; van Paassen, L. A.; Booster, J. L.; Whiffin, V. S.; van Loosdrecht, M. C. M. Fixation and Distribution of Bacterial Activity in Sand to Induce Carbonate Precipitation for Ground Reinforcement. *Ecological Engineering* **2010**, *36* (2), 112–117. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.01.004>.
- (13) Whiffin, V. S.; van Paassen, L. A.; Harkes, M. P. Microbial Carbonate Precipitation as a Soil Improvement Technique. *Geomicrobiology Journal* **2007**, *24* (5), 417–423. <https://doi.org/10.1080/01490450701436505>.
- (14) Abo-El-Enein, S. A.; Ali, A. H.; Talkhan, F. N.; Abdel-Gawwad, H. A. Utilization of Microbial Induced Calcite Precipitation for Sand Consolidation and Mortar Crack Remediation. *HBRC Journal* **2012**, *8* (3), 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.hbrcj.2013.02.001>.
- (15) Fujita, Y.; Taylor, J. L.; Gresham, T. L. T.; Delwiche, M. E.; Colwell, F. S.; McLing, T. L.; Petzke, L. M.; Smith, R. W. Stimulation Of Microbial Urea Hydrolysis In Groundwater To Enhance Calcite Precipitation. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42* (8), 3025–3032. <https://doi.org/10.1021/es702643g>.

- (16) Jonkers, H. M. Self-Healing Concrete: A Biological Approach. In *Self Healing Materials*; van der Zwaag, S., Ed.; Hull, R., Jr, R. M. O., Parisi, J., Warlimont, H., Series Eds.; Springer Series in Materials Science; Springer Netherlands: Dordrecht, 2007; Vol. 100, pp 195–204. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6250-6\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6250-6_9).
- (17) DeJong, J. T.; Mortensen, B. M.; Martinez, B. C.; Nelson, D. C. Bio-Mediated Soil Improvement. *Ecological Engineering* **2010**, *36* (2), 197–210. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.12.029>.
- (18) Terzis, D.; Laloui, L. Sols biorenforcés: vers un changement de paradigme. *Retour à la Terre*. 2016. <https://www.espazium.ch/fr/actualites/sols-biorenforces-vers-un-changement-de-paradigme> (accessed 2023-08-29).
- (19) Cheng, L.; Cord-Ruwisch, R.; Shahin, M. A. Cementation of Sand Soil by Microbially Induced Calcite Precipitation at Various Degrees of Saturation. *Can. Geotech. J.* **2013**, *50* (1), 81–90. <https://doi.org/10.1139/cgj-2012-0023>.
- (20) Prescott; Willey; Sherwood; Woolverton. *Microbiologie*, De Boeck.; 2013.
- (21) Pelmont, J. La Culture Des Bactéries. In *Bactéries et environnement : adaptations physiologiques.*; 1993; pp 260–261.
- (22) Monod, J. Diauxie et Respiration Au Cours de La Croissance Des Cultures de B. Coli. In *Selected Papers in Molecular Biology by Jacques Monod*; Lwoff, A., Ullmann, A., Eds.; Academic Press, 1978; pp 12–13. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-460482-7.50010-5>.
- (23) Li, Q.; Csetenyi, L.; Paton, G. I.; Gadd, G. M. CaCO<sub>3</sub> and SrCO<sub>3</sub> Bioprecipitation by Fungi Isolated from Calcareous Soil. *Environmental Microbiology* **2015**, *16*. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12954>.
- (24) Pasquale, V. Biomineralization of Carbonates Induced by the Fungi Paecilomyces Inflatus and Plectosphaerella Cucumerina. *International Biodeterioration* **2019**, *10*. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.03.005>.
- (25) Natsi, P. D.; Koutsoukos, P. G. Calcium Carbonate Mineralization of Microalgae. *Biomimetics* **2022**, *7* (4), 140. <https://doi.org/10.3390/biomimetics7040140>.
- (26) Mondal, S.; Ghosh, A. Review on Microbial Induced Calcite Precipitation Mechanisms Leading to Bacterial Selection for Microbial Concrete. *Construction and Building Materials* **2019**, *225*, 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.07.122>.
- (27) De Muynck, W.; De Belie, N.; Verstraete, W. Microbial Carbonate Precipitation in Construction Materials: A Review. *Ecological Engineering* **2010**, *36* (2), 118–136. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.02.006>.
- (28) Zhu, T.; Dittrich, M. Carbonate Precipitation through Microbial Activities in Natural Environment, and Their Potential in Biotechnology: A Review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* **2016**, *4*. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2016.00004>.
- (29) Hammes, F.; Boon, N.; de Villiers, J.; Verstraete, W.; Siciliano, S. D. Strain-Specific Ureolytic Microbial Calcium Carbonate Precipitation. *Applied and Environmental Microbiology* **2003**, *69* (8), 4901–4909. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.8.4901-4909.2003>.
- (30) Ferris, F. G.; Stehmeier, L. G.; Kantzas, A.; Mourits, F. M. Bacteriogenic Mineral Plugging. *Journal of Canadian Petroleum Technology* **1997**, *36* (09). <https://doi.org/10.2118/97-09-07>.
- (31) Palin, D.; Wiktor, V.; Jonkers, H. M. Bacteria-Based Agent for Self-Healing Marine Concrete.; 2015.
- (32) Li, L.; Zheng, Q.; Li, Z.; Ashour, A.; Han, B. Bacterial Technology-Enabled Cementitious Composites: A Review. *Composite Structures* **2019**, *225*, 111170. <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2019.111170>.

- (33) Zhang, Y.; Guo, H. X.; Cheng, X. H. Influences of Calcium Sources on Microbially Induced Carbonate Precipitation in Porous Media. *Materials Research Innovations* **2014**, *18* (sup2), S2-79-S2-84. <https://doi.org/10.1179/1432891714Z.000000000384>.
- (34) Gorospe, C. M.; Han, S.-H.; Kim, S.-G.; Park, J.-Y.; Kang, C.-H.; Jeong, J.-H.; So, J.-S. Effects of Different Calcium Salts on Calcium Carbonate Crystal Formation by *Sporosarcina Pasteurii* KCTC 3558. *Biotechnol Bioproc E* **2013**, *18* (5), 903–908. <https://doi.org/10.1007/s12257-013-0030-0>.
- (35) Nemati, M.; Greene, E. A.; Voordouw, G. Permeability Profile Modification Using Bacterially Formed Calcium Carbonate: Comparison with Enzymic Option. *Process Biochemistry* **2005**, *40* (2), 925–933. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.02.019>.
- (36) Ivanov, V.; Stabnikov, V.; Stabnikova, O.; Kawasaki, S. Environmental Safety and Biosafety in Construction Biotechnology. *World J Microbiol Biotechnol* **2019**, *35* (2), 26. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2598-9>.
- (37) Tang, C.-S.; Yin, L.; Jiang, N.; Zhu, C.; Zeng, H.; Li, H.; Shi, B. Factors Affecting the Performance of Microbial-Induced Carbonate Precipitation (MICP) Treated Soil: A Review. *Environ Earth Sci* **2020**, *79* (5), 94. <https://doi.org/10.1007/s12665-020-8840-9>.
- (38) Dadda, A. Mechanical and microstructural study of biocemented soils: application to hydraulic earthworks., Université de Grenoble, 2017.
- (39) Vincent, J.; Sabot, R.; Lanneluc, I.; Refait, P.; Turcry, P.; Mahieux, P.-Y.; Jeannin, M.; Sablé, S. Biomineralization of Calcium Carbonate by Marine Bacterial Strains Isolated from Calcareous Deposits. *Matériaux & Techniques* **2020**, *108* (3), 302. <https://doi.org/10.1051/mattech/2020027>.
- (40) Nemati, M. Modification of Porous Media Permeability, Using Calcium Carbonate Produced Enzymatically in Situ. *Enzyme and Microbial Technology* **2003**, *33* (5), 635–642. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(03\)00191-1](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(03)00191-1).
- (41) Whiffin, V. S. Microbial CaCO<sub>3</sub> Precipitation for the Production of Biocement, Murdoch University, 2004.
- (42) Chou, C.-W.; Seagren, E. A.; Aydilek, A. H.; Lai, M. Biocalcification of Sand through Ureolysis. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* **2011**, *137* (12), 1179–1189. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0000532](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000532).
- (43) Al-Salloum, Y.; Abbas, H.; Sheikh, Q. I.; Hadi, S.; Alsayed, S.; Almusallam, T. Effect of Some Biotic Factors on Microbially-Induced Calcite Precipitation in Cement Mortar. *Saudi Journal of Biological Sciences* **2017**, *24* (2), 286–294. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.01.016>.
- (44) Ekramirad, S. A.; Azadi, M.; Shamskia, N. The Effective Parameters on the Behaviour of Treated Sands by Microbial-Induced Calcite Precipitation under Undrained Triaxial Test. *Archives of Mining Sciences* **2023**, 55–69. <https://doi.org/10.24425/ams.2023.144317>.
- (45) Zhao, Q.; Li, L.; Li, C.; Li, M.; Amini, F.; Zhang, H. Factors Affecting Improvement of Engineering Properties of MICP-Treated Soil Catalyzed by Bacteria and Urease. *J. Mater. Civ. Eng.* **2014**, *26* (12), 04014094. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0001013](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0001013).
- (46) Okwadha, G. D. O.; Li, J. Optimum Conditions for Microbial Carbonate Precipitation. *Chemosphere* **2010**, *81* (9), 1143–1148. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.066>.
- (47) Gandhi, K. S.; Kumar, R.; Ramkrishna, D. Some Basic Aspects of Reaction Engineering of Precipitation Processes. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1995**, *34* (10), 3223–3230. <https://doi.org/10.1021/ie00037a007>.
- (48) Cheng, L.; Shahin, M. A.; Mujah, D. Influence of Key Environmental Conditions on Microbially Induced Cementation for Soil Stabilization. *Journal of Geotechnical and*

- Geoenvironmental Engineering* **2016**, *143* (1), 04016083. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0001586](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0001586).
- (49) Al Qabany, A.; Soga, K.; Santamarina, C. Factors Affecting Efficiency of Microbially Induced Calcite Precipitation. *J. Geotech. Geoenviron. Eng.* **2012**, *138* (8), 992–1001. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0000666](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000666).
- (50) Al Qabany, A. A.; Soga, K. Effect of Chemical Treatment Used in MICP on Engineering Properties of Cemented Soils. *Bio- and Chemo-Mechanical Processes in Geotechnical Engineering* **2013**, 107–115. <https://doi.org/10.1680/bcmpge.60531.010>.
- (51) Xiao, Y.; W. Stuedlein, A.; Ran, J.; Evans, T. M.; Cheng, L.; Liu, H.; van Paassen, L. A.; Chu, J. Effect of Particle Shape on Strength and Stiffness of Biocemented Glass Beads. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* **2019**, *145* (11). [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0002165](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0002165).
- (52) Ham, S.-M.; Martinez, A.; Han, G.; Kwon, T.-H. Grain-Scale Tensile and Shear Strengths of Glass Beads Cemented by MICP. *J. Geotech. Geoenviron. Eng.* **2022**, *148* (9), 04022068. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0002863](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0002863).
- (53) Ferris, F. G.; Phoenix, V.; Fujita, Y.; Smith, R. W. Kinetics of Calcite Precipitation Induced by Ureolytic Bacteria at 10 to 20°C in Artificial Groundwater. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **2003**, *68* (8), 1701–1710. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(03\)00503-9](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(03)00503-9).
- (54) Yi, H.; Zheng, T.; Jia, Z.; Su, T.; Wang, C. Study on the Influencing Factors and Mechanism of Calcium Carbonate Precipitation Induced by Urease Bacteria. *Journal of Crystal Growth* **2021**, *564*, 126113. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgr.2021.126113>.
- (55) Patil, M.; Dalal, P. H.; Shreedhar, S.; Dave, T. N.; Iyer, K. K. R. Biostabilization Techniques and Applications in Civil Engineering: State-of-the-Art. *Construction and Building Materials* **2021**, *309*, 125098. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.125098>.
- (56) Gibson, T. An Investigation of the Bacillus Pasteuri Group: III. Systematic Relationships of the Group. *Journal of bacteriology* **1935**, *29* (5), 491–502.
- (57) Stocks-Fischer, S.; Galinat, J. K.; Bang, S. S. Microbiological Precipitation of CaCO<sub>3</sub>. *Soil Biology and Biochemistry* **1999**, *31* (11), 1563–1571. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00082-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00082-6).
- (58) Mujah, D.; Shahin, M. A.; Cheng, L. State-of-the-Art Review of Biocementation by Microbially Induced Calcite Precipitation (MICP) for Soil Stabilization. *Geomicrobiology Journal* **2017**, *34* (6), 524–537. <https://doi.org/10.1080/01490451.2016.1225866>.
- (59) Gomez-Morales, J.; Torrent-Burgues, J.; Rodriguez-Ciemente, R. Nucleation of Calcium Carbonate at Different Initial pH Conditions. *Journal of Crystal Growth* **1996**, *169* (2), 331–338. [https://doi.org/10.1016/S0022-0248\(96\)00381-8](https://doi.org/10.1016/S0022-0248(96)00381-8).
- (60) Mortensen, B. M.; Haber, M. J.; DeJong, J. T.; Caslake, L. F.; Nelson, D. C. Effects of Environmental Factors on Microbial Induced Calcium Carbonate Precipitation. *Journal of Applied Microbiology* **2011**, *111* (2), 338–349. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05065.x>.
- (61) Maier, R. M.; Pepper, I. L.; Gerba, C. P. Chapter 1 - Introduction to Environmental Microbiology. In *Environmental Microbiology (Second Edition)*; Maier, R. M., Pepper, I. L., Gerba, C. P., Eds.; Academic Press: San Diego, 2009; pp 3–7. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370519-8.00001-8>.
- (62) Mitchell, J. K.; Santamarina, C. Biological Considerations in Geotechnical Engineering. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* **2005**, *131* (10), 1222–1233. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)1090-0241\(2005\)131:10\(1222\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)1090-0241(2005)131:10(1222)).
- (63) Rebata-Landa, V. *Microbial Activity in Sediments: Effects on Soil Behavior.*, Georgia Institute of Technology, 2007.

- (64) Al Qabany, A. *Microbial Carbonate Precipitation in Soils*, Cambridge university, 2011.
- (65) Kadhim, F. J.; Zheng, J.-J. Influences of Calcium Sources and Type of Sand on Microbial Induced Carbonate Precipitation. *International Journal of Advances in Engineering & Technology* **2017**, *10* (1), 20–29.
- (66) Nafisi, A.; Khoubani, A.; Montoya, B. M.; Evans, T. M. The Effect of Grain Size and Shape on Mechanical Behavior of MICP Sand I: Experimental Study. **2018**, *9*.
- (67) van Paassen, L. A.; Ghose, R.; van der Linden, T. J. M.; van der Star, W. R. L.; van Loosdrecht, M. C. M. Quantifying Biomediated Ground Improvement by Ureolysis: Large-Scale BiogROUT Experiment. *J. Geotech. Geoenviron. Eng.* **2010**, *136* (12), 1721–1728. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0000382](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000382).
- (68) Qian, C.; Pan, Q.; Wang, R. Cementation of Sand Grains Based on Carbonate Precipitation Induced by Microorganism. *Sci. China Technol. Sci.* **2010**, *53* (8), 2198–2206. <https://doi.org/10.1007/s11431-009-3189-z>.
- (69) Cheng, L.; Shahin, M. A.; Chu, J. Soil Bio-Cementation Using a New One-Phase Low-pH Injection Method. *Acta Geotech.* **2019**, *14* (3), 615–626. <https://doi.org/10.1007/s11440-018-0738-2>.
- (70) Yang, Y.; Chu, J.; Liu, H.; Cheng, L. Improvement of Uniformity of Biocemented Sand Column Using CH<sub>3</sub>COOH-Buffered One-Phase-Low-pH Injection Method. *Acta Geotech.* **2022**. <https://doi.org/10.1007/s11440-022-01576-8>.
- (71) Gao, X.; Han, S.; Yang, Y.; Zhang, W.; Zou, T.; Cheng, L. Mechanical Behavior and Microstructural Study of Biocemented Sand under Various Treatment Methods. *Geofluids* **2022**, *2022*, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2022/6015335>.
- (72) Henze, J.; Randall, D. G. Microbial Induced Calcium Carbonate Precipitation at Elevated pH Values (>11) Using *Sporosarcina Pasteurii*. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **2018**, *6* (4), 5008–5013. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.07.046>.
- (73) Ezzat, S. M. A Critical Review on Microbially Induced Carbonate Precipitation for Soil Stabilization: The Global Experiences and Future Prospective. *Pedosphere* **2023**, *S1002016023000115*. <https://doi.org/10.1016/j.pedsph.2023.01.011>.
- (74) Cheng, L.; Cord-Ruwisch, R. In Situ Soil Cementation with Ureolytic Bacteria by Surface Percolation. *Ecological Engineering* **2012**, *42*, 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.01.013>.
- (75) Cheng, L.; Cord-Ruwisch, R. Upscaling Effects of Soil Improvement by Microbially Induced Calcite Precipitation by Surface Percolation. *Geomicrobiology Journal* **2014**, *31* (5), 396–406. <https://doi.org/10.1080/01490451.2013.836579>.
- (76) Cantat, I.; Cohen-Addad, S.; Elias, F.; Graner, F.; Höhler, R.; Pitois, O.; Rouyer, F.; Saint-Jalmes, A. *Les Mousses : Structure et Dynamiques*, Belin.; Paris, 2010.
- (77) Taale, E.; Savadogo, A.; Cheikna, Z.; Tapsoba, F.; Karou, S. D.; Traore, A. Les Peptides Antimicrobiens d'origine Microbienne : Cas Des Bactériocines. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* **2016**, *10*, 384–399. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v10i1.29>.
- (78) Hwang, P. M.; Vogel, H. J. Structure-Function Relationships of Antimicrobial Peptides. *Biochem. Cell Biol.* **1998**, *76* (2–3), 235–246. <https://doi.org/10.1139/o98-026>.
- (79) Hamouda, T.; Baker Jr, J. r. Antimicrobial Mechanism of Action of Surfactant Lipid Preparations in Enteric Gram-Negative Bacilli. *Journal of Applied Microbiology* **2000**, *89* (3), 397–403. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01127.x>.
- (80) Fernandez, B. *Activité biologique et impact sur le microbiote intestinal des bactéries lactiques bactériocinogènes*, 2014.
- (81) Darcy, H. *Les fontaines publiques de la ville de Dijon: exposition et application ...*; Victor Dalmont, 1856.

- (82) Cohen-Addad, S.; Höhler, R.; Pitois, O. Flow in Foams and Flowing Foams. *Annu. Rev. Fluid Mech.* **2013**, 241–266. <https://doi.org/10.1146/annurev-fluid-011212-140634>.
- (83) Rouyer, F.; Pitois, O.; Lorenceau, E.; Louvet, N. Permeability of a Bubble Assembly: From the Very Dry to the Wet Limit. *Physics of Fluids* **2010**, 22 (4), 043302. <https://doi.org/10.1063/1.3364038>.
- (84) Cohen, D.; Patzek, T. W.; Radke, C. J. Two-Dimensional Network Simulation of Diffusion-Driven Coarsening of Foam Inside a Porous Medium. *Journal of Colloid and Interface Science* **1996**, 179 (227), 357–373. <https://doi.org/10.1006/jcis.1996.0227>.
- (85) Salonen, A.; Gay, C.; Maestro, A.; Drenckhan, W.; Rio, E. Arresting Bubble Coarsening: A Two-Bubble Experiment to Investigate Grain Growth in the Presence of Surface Elasticity. *EPL* **2016**, 116 (4), 46005. <https://doi.org/10.1209/0295-5075/116/46005>.
- (86) Lambert, J.; Mokso, R.; Cantat, I.; Cloetens, P.; Glazier, J. A.; Graner, F.; Delannay, R. Coarsening Foams Robustly Reach a Self-Similar Growth Regime. *Phys. Rev. Lett.* **2010**, 104 (24), 248304. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.104.248304>.
- (87) Carman, P. C. Fluid Flow through Granular Beds. *Trans. Inst. Chem. Eng.* **1937**, 15, 150–166.
- (88) Kozeny, J. *Ber Wien Akad*; 136a, 1927.
- (89) Eftekhari, A. A.; Farajzadeh, R. Effect of Foam on Liquid Phase Mobility in Porous Media. *Scientific Reports* **2017**, 7, 43870. <https://doi.org/10.1038/srep43870>.
- (90) Bernard, G. G.; Jacobs, W. L. Effect of Foam on Trapped Gas Saturation and on Permeability of Porous Media to Water. *Society of Petroleum Engineers Journal* **1965**, 5 (04), 295–300. <https://doi.org/10.2118/1204-PA>.
- (91) Yu, W.; Kanj, M. Y. Review of Foam Stability in Porous Media: The Effect of Coarsening. *Journal of Petroleum Science and Engineering* **2022**, 208, 109698. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2021.109698>.
- (92) Xu, K.; Bonnecaze, R.; Balhoff, M. Egalitarianism among Bubbles in Porous Media: An Ostwald Ripening Derived Anticoarsening Phenomenon. *Phys. Rev. Lett.* **2017**, 119 (26), 264502. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.119.264502>.
- (93) Jones, S. A.; Getrouw, N.; Vincent-Bonnieu, S. Foam Flow in a Model Porous Medium: I. The Effect of Foam Coarsening. *Soft Matter* **2018**, 14 (18), 3490–3496. <https://doi.org/10.1039/C7SM01903C>.
- (94) Sharma, M.; Satyam, N.; Reddy, K. R. Investigation of Various Gram-Positive Bacteria for MICP in Narmada Sand, India. *International Journal of Geotechnical Engineering* **2021**, 15 (2), 220–234. <https://doi.org/10.1080/19386362.2019.1691322>.
- (95) Medevielle, M. Utilisation de la bioprécipitation de carbonates de calcium pour améliorer la qualité de granulats de béton recyclé, 2017.
- (96) Wiktor, V.; Jonkers, H. M. Bacteria-Based Concrete: From Concept to Market. *Smart Mater. Struct.* **2016**, 25. <https://doi.org/10.1088/0964-1726/25/8/084006>.
- (97) Vincken, J.; Heng, L.; de Groot, A.; Gruppen, H. Saponins, Classification and Occurrence in the Plant Kingdom. *Phytochemistry* **2006**, 68 (3), 275–297. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.10.008>.
- (98) Böttcher, S.; Drusch, S. Saponins — Self-Assembly and Behavior at Aqueous Interfaces. *Advances in Colloid and Interface Science* **2017**, 243, 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.02.008>.
- (99) Guzmán, L.; Villalón, K.; Marchant, M. J.; Tarnok, M. E.; Cárdenas, P.; Aquea, G.; Acevedo, W.; Padilla, L.; Bernal, G.; Molinari, A.; Corvalán, A. In Vitro Evaluation and Molecular Docking of QS-21 and Quillaic Acid from Quillaja Saponaria Molina as Gastric Cancer Agents. *Sci Rep* **2020**, 10 (1), 10534. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67442-3>.

- (100) Denkov, N.; Tcholakova, S.; Politova-Brinkova, N. Physicochemical Control of Foam Properties. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2020**, 101376. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2020.08.001>.
- (101) Shinoda, K.; Yamaguchi, T.; Hori, R. The Surface Tension and the Critical Micelle Concentration in Aqueous Solution of  $\beta$ -D-Alkyl Glucosides and Their Mixtures. *BCSJ* **1961**, 34 (2), 237–241. <https://doi.org/10.1246/bcsj.34.237>.
- (102) Alpes, H.; Allmann, K.; Plattner, H.; Reichert, J.; Rick, R.; Schulz, S. Formation of Large Unilamellar Vesicles Using Alkyl Maltoside Detergents. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1986**, 862 (2), 294–302. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(86\)90231-2](https://doi.org/10.1016/0005-2736(86)90231-2).
- (103) De, W. J.; Bovee-Geurts, P. H. M. Synthesis and Properties of Alkylglucosides with Mild Detergent Action: Improved Synthesis and Purification of Beta-1-Octyl-, -Nonyl-, and -Decyl-Glucose. Synthesis of Beta-1-Undecylglucose and Beta-1-Dodecylmaltose. *Chemistry and Physics of Lipids* **1979**, 23, 321–325.
- (104) Wan Ha, Y.; Na, Y.; Seo, J.; Kim, S.; J. Linhardt, R.; Shik Kim, Y. Qualitative and Quantitative Determination of Ten Major Saponins in Platycodi Radix by High Performance Liquid Chromatography with Evaporative Light Scattering Detection and Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2006**, 1135 (1), 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.09.015>.
- (105) Bravo Rodriguez, V.; Jurado Alameda, E.; Reyes Requena, A.; García López, A. I.; Bailón-Moreno, R.; Cuevas Aranda, M. Determination of Average Molecular Weight of Commercial Surfactants: Alkylpolyglucosides and Fatty Alcohol Ethoxylates. *J Surfact Deterg* **2005**, 8 (4), 341–346. <https://doi.org/10.1007/s11743-005-0366-y>.
- (106) Haffner, B. Stabilité des suspensions fortement aérées, 2015.
- (107) Mueller, G. E. Numerically Packing Spheres in Cylinders. *Powder Technology* **2005**, 6.
- (108) Sitepu, H.; O'Connor, B. H.; Li, D. Comparative Evaluation of the March and Generalized Spherical Harmonic Preferred Orientation Models Using X-Ray Diffraction Data for Molybdate and Calcite Powders. *Journal of Applied Crystallography* **2005**, 38 (1), 158–167. <https://doi.org/10.1107/S0021889804031231>.
- (109) Kamhi, S. R. On the Structure of Vaterite CaCO<sub>3</sub>. *Acta Crystallographica* **1963**, 16 (8), 770–772. <https://doi.org/10.1107/S0365110X63002000>.
- (110) Antao, S. M.; Hassan, I. Temperature Dependence of the Structural Parameters in the Transformation of Aragonite to Calcite, as Determined from in Situ Synchrotron Powder X-Ray-Diffraction Data. *The Canadian Mineralogist* **2010**, 48 (5), 1225–1236. <https://doi.org/10.3749/canmin.48.5.1225>.
- (111) Pitois, O.; Salamé, A.; Khidas, Y.; Ceccaldi, M.; Langlois, V.; Vincent-Bonnieu, S. Daisy-Shaped Liquid Bridges in Foam-Filled Granular Packings. *Journal of Colloid and Interface Science* **2023**, 638, 552–560. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2023.01.127>.

# Annexes



## 1. Calculs des valeurs de $r$ particulières pour chaque type d'empilement

Nous considérons trois types de pores classiques : cubique, tétraédrique et octaédrique (Figure A- 1). Les pores tétraédriques sont connectés aux pores octaédriques via des constriction. Un pore tétraédrique contient 4 constriction, et un pore octaédrique en contient 8 (Figure A- 1). Les pores cubiques sont associés à l'empilement cubique simple, et possèdent 6 constriction par pore. L'empilement ordonné, cubique à faces centrées (CFC), est une combinaison de pores tétraédriques et octaédriques (2 mailles octaédriques pour 4 mailles tétraédriques).

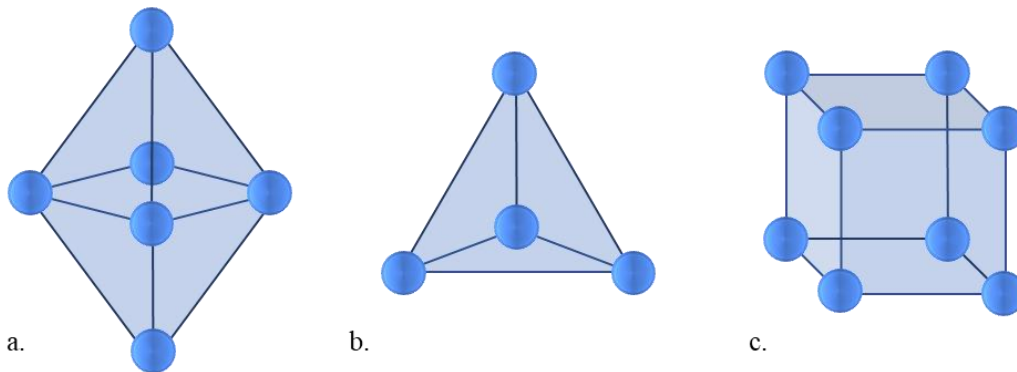


Figure A- 1. Schémas représentant les mailles dans les empilements a. octaédrique, b. tétraédrique, c. cubique.

Les valeurs de  $r$  particulières correspondent à :

- Chaque pore contient strictement 1 bulle,  $r = r_v$  ;
- Chaque pore contient un nombre de bulles égale à son nombre de constriction (voir Figure A- 1),  $r = r_w$  ;
- La taille des bulles est égale à la plus grande sphère pouvant passer dans les constriction entre pores sans être déformée,  $r = r_c$  ;

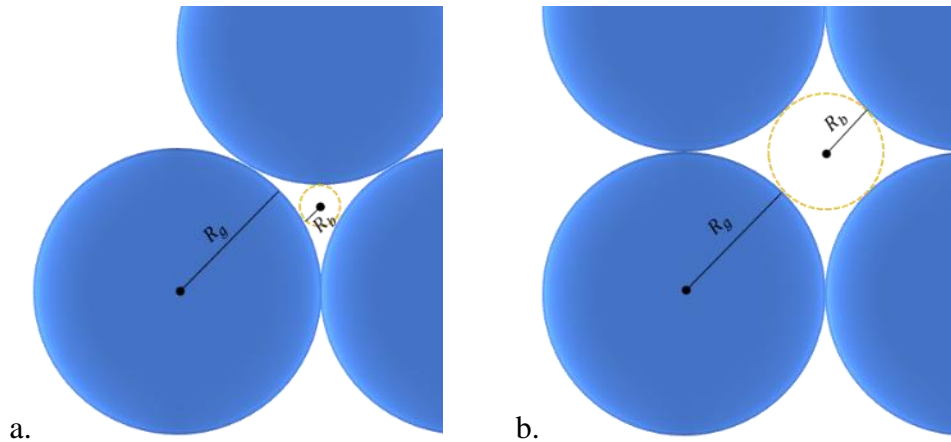
1.1. Calculs de  $r_c$ 

Figure A- 2. Schémas représentant la taille de bulle pour  $r = r_c$  pour les empilements a. octaédrique et tétraédrique et b. cubique.

Pour les empilements tétraédrique, octaédrique et CFC :

$$(R_g + R_b) \times \cos(30) = R_g$$

$$\frac{R_b}{R_g} = \frac{2 - \sqrt{3}}{\sqrt{3}}$$

$$r_c = 0,155$$

Pour les empilements cubiques :

$$(2R_g + 2R_b)^2 = (2R_g)^2 + (2R_g)^2$$

$$\frac{R_b}{R_g} = \frac{\sqrt{8} - 2}{2}$$

$$r_c = 0,414$$

1.2. Calculs de  $r_v$  et  $r_w$ 

Les calculs suivants sont établis pour  $D_g = 1$ .

Le volume de pore est défini par :

$$V_{pore} = V_m - V_{g,int} \quad \text{Equation A- 1}$$

avec  $V_m$  le volume de la maille et  $V_{g,int}$  le volume de grains interne à la maille.

Le nombre de bulle par pore est défini par :  $N_{b/pore} = \frac{V_{pore}}{V_{bulle}}$

Soit :

$$N_{b/pore} = \frac{6 \times V_{pore}}{\pi \times r^3}$$

Pour  $N_{b/pore} = 1$ , la valeur de  $r = r_v$  est déterminée par l'équation suivante :

$$r_v = \frac{(6 \times V_{pore})^3}{\pi^3} \quad \text{Equation A- 2}$$

Le nombre de bulle par pore par constriction est défini par :  $N_{b/pore/c} = \frac{V_{pore}}{V_{bulle} \times N_c}$  avec  $N_c$ , le nombre de constriction pour une maille, équivalent au nombre de face de la géométrie de la maille.

Soit :

$$N_{b/pore/c} = \frac{6 \times V_{pore}}{\pi \times r^3} \times \frac{1}{N_c}$$

Pour  $N_{b/pore/c} = 1$ , la valeur de  $r = r_w$  est déterminée par l'équation suivante :

$$r_w = \frac{(6 \times V_{pore})^3}{(\pi \times N_c)^3} \quad \text{Equation A- 3}$$

D'après l'Equation A- 1, le volume de pore est calculé pour chaque type d'empilement.

Empilement cubique :  $N_{c,cub} = 6$  (nombre de faces d'un cube)

D'après l'Equation A- 1 :

$$V_{pore,cub} = D_g^3 - \frac{\pi}{6} D_g^3$$

$$V_{pore,cub} = 0,47640 \text{ mm}^3$$

D'après les Equation A- 2 et Equation A- 3 :  $r_{v,cub} = 0,96$  et  $r_{w,cub} = 0,53$ .

Empilement octaédrique :  $N_{c,oct} = 8$  (nombre de faces d'un octaèdre)

$$V_{pore,oct} = \frac{\sqrt{2}}{3} D_g^3 - \underbrace{0,33968}_{V_{g,int,oct}(D_g = 1)}$$

$$V_{pore,oct} = 0,13172 \text{ mm}^3$$

D'après les Equation A- 2 et Equation A- 3 :  $r_{v,oct} = 0,62$  et  $r_{w,oct} = 0,31$ .

Empilement tétraédrique :  $N_{c,tet} = 4$  (nombre de faces d'un tétraèdre)

$$V_{pore,tet} = \frac{\sqrt{2}}{12} D_g^3 - \underbrace{0,09186}_{V_{g,int,tet}(D_g = 1)}$$

$$V_{pore,tet} = 0,02599 \text{ mm}^3$$

D'après les Equation A- 2 et Equation A- 3 :  $r_{v,tet} = 0,33$  et  $r_{w,tet} = 0,21$ .

Les valeurs de  $V_{g,int}$  pour les empilements octaédrique et tétraédrique ont été calculées numériquement.

Empilement cubique à faces centrées : 2 mailles octaédriques pour 4 mailles tétraédriques

$$N_{b/pore,CFC} = \frac{2 \times V_{m,oct} \times N_{b/pore,oct} + 4 \times V_{m,tet} \times N_{b/pore,tet}}{2 \times V_{m,oct} + 4 \times V_{m,tet}}$$

$$N_{b/pore/c,CFC} = \frac{2 \times N_{c,oct} \times V_{m,oct} \times N_{b/pore/c,oct} + 4 \times N_{c,tet} \times V_{m,tet} \times N_{b/pore/c,tet}}{2 \times V_{m,oct} + 4 \times V_{m,tet}}$$

On peut alors tracer ces formules en fonction de  $r$  et chercher les valeurs de  $r_v$  et  $r_w$  pour respectivement  $N_{b/pore,CFC} = 1$  et  $N_{b/pore/c,CFC} = 1$ .

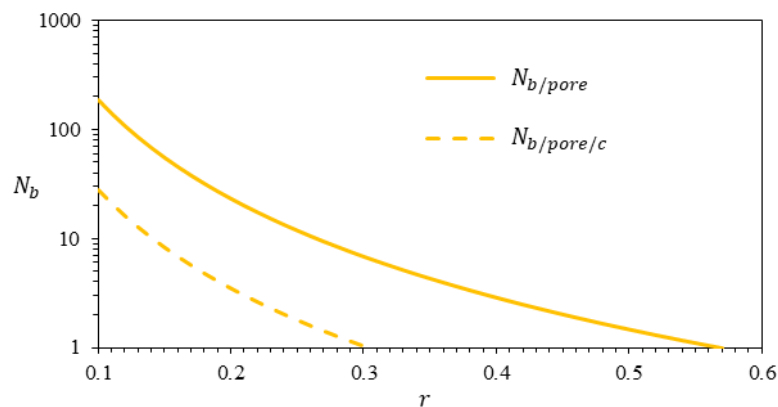


Figure A- 3. Nombre de bulles par pore et par pore par constriction en fonction de  $r$  pour les empilements CFC.

D'après la figure ci-dessus :  $r_{v,CFC} = 0,57$  et  $r_{w,CFC} = 0,3$ .

## 2. Vérification de la stationnarité du système

Ce paragraphe présente quelques mesures réalisées pour tester la stationnarité de notre expérience de mesure de perméabilité aux temps longs. Nous avons prélevé puis pesé le volume de liquide en sortie de colonne granulaire, pour chaque cycle. Sur la même durée, on accède au volume entrant par la variation de hauteur de liquide dans le tube surmontant la colonne (voir chapitre 2). Les débits sortants ( $D_s$ ), entrants ( $D_e$ ), ainsi que les rapports  $D_s/D_e$  en fonction de la fraction liquide, sont présentés sur la Figure A- 4.

Il est en fait assez difficile de conclure à un éventuel différentiel entre les débits entrant et sortant, malgré les écarts constatés sur la Figure A- 4, qui semblent indiquer un léger drainage au cours du temps. La difficulté provient de la mesure de  $D_e$ , qui nécessite de déterminer le mieux possible la position initiale du ménisque dans le tube. Du fait de la combinaison de l'écoulement de perméation (mouvement du ménisque vers le bas) et de l'écoulement de réapprovisionnement (mouvement du ménisque vers le haut), la position initiale du ménisque est assez mal définie, ainsi que le débit entrant. On estime  $\Delta D_e/D_e \approx 10\%$  ce qui couvre les écarts observés sur la Figure A- 4.

On peut aussi faire le raisonnement suivant : l'évolution de la teneur en liquide résulte du cumul au cours du temps des écarts entre les deux débits, qui, même faibles, peuvent finir par représenter une variation conséquente sur de longues durées. Avec les paramètres déjà introduits, la variation de liquide résultant du différentiel de débit est :  $\Delta V_\ell = (D_s/D_e - 1)D_e \Delta t$ . Cette variation de volume de liquide engendre une variation de fraction liquide de la mousse présente dans la porosité de l'empilement :  $\Delta V_\ell = pV_{empil} \Delta \varepsilon$ . Compte-tenu des débits,  $D_e \approx 1 \text{ cm}^3/\text{min}$ , et des durées,  $\Delta t \approx 1\text{h}$ , et si l'on considère le plus grand rapport observé :  $D_s/D_e \approx 1,1$ , on trouve  $\Delta V_\ell \approx 6 \text{ cm}^3$ , soit  $\Delta \varepsilon \approx 0,6$ . De telles variations, si elles avaient lieu, engendreraient une évolution significative de la forme des bords de Plateau de la mousse observée à la paroi. Il faudrait par ailleurs qu'un volume équivalent de gaz vienne compenser cette perte de liquide, ce qui est très difficile à imaginer (l'inverse serait possible par solubilité du gaz dans le liquide qui traverse l'échantillon). Il est donc raisonnable de penser que les écarts mesurés entre  $D_e$  et  $D_s$  sont effectivement contenus dans les barres d'erreur de ces mesures.

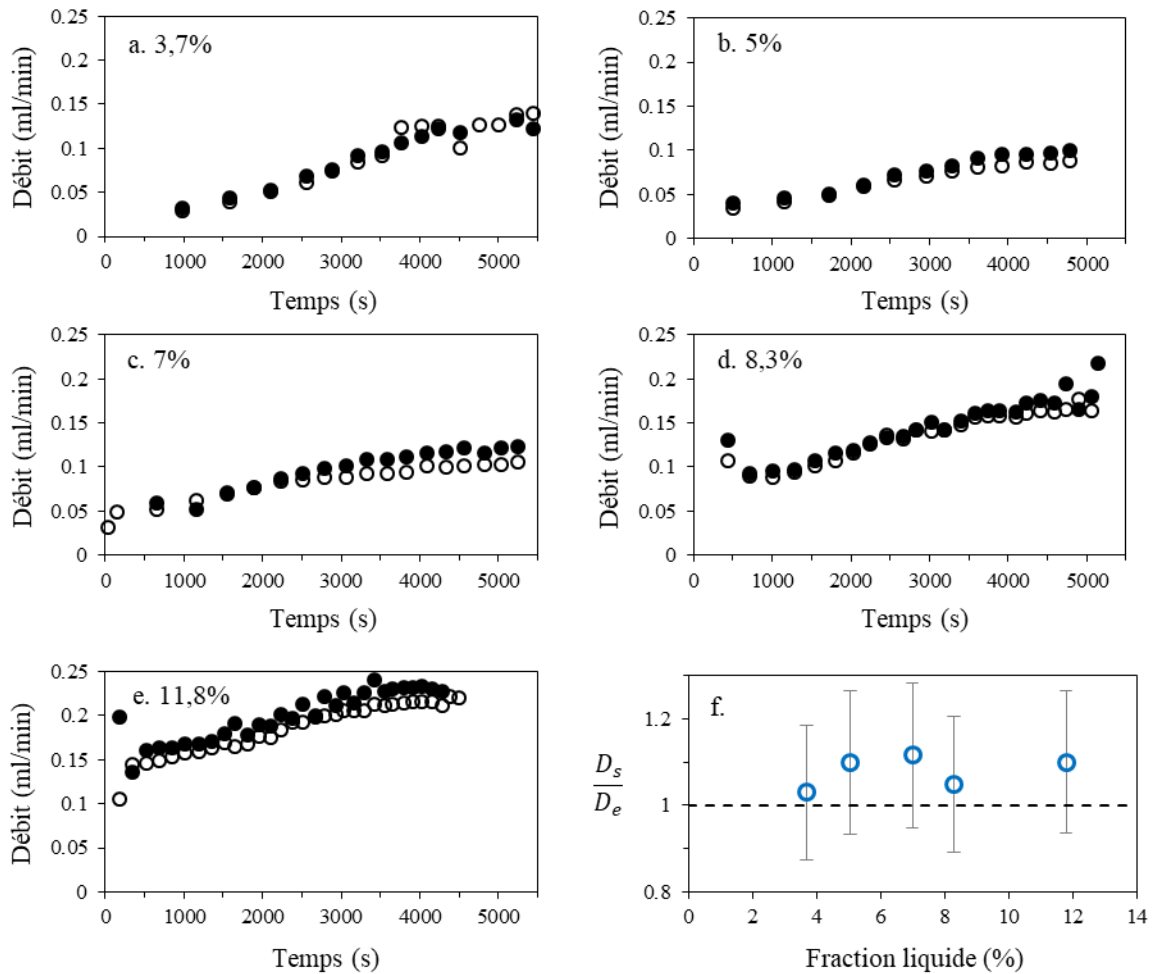


Figure A- 4. a-e : Débits de liquide entrants  $D_e$  (formes creuses) et sortants  $D_s$  (formes pleines) dans la colonne granulaire remplie ( $D_g = 2$  mm) de mousse en fonction du temps avec des fractions liquide initiales de la mousse différentes ( $D_b \approx 0,5$  mm) ; f : Moyenne des rapports de débits  $D_s/D_e$  en fonction de la fraction liquide dans la mousse indiquée.

### 3. Comparaison des résultats expérimentaux à la littérature

Nous pouvons également comparer nos données présentées Figure A- 5 avec celles obtenues par Eftekhari & Farajzadeh<sup>89</sup> par injection de liquide moussant et de gaz dans une colonne de sable de perméabilité  $k_D(\varepsilon = 1) = 2,41 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2$ . Notons que, du fait du protocole d'injection, les auteurs ne sont en mesure d'obtenir une perméabilité au liquide que sur une petite plage de fraction liquide. Noter que la fraction liquide est appelée ici taux de saturation. On remarque que, bien que la perméabilité du sable utilisé par les auteurs soit plus faible que celle de nos empilements, entre 20 et 600 fois selon la taille des grains, les perméabilités relatives sont

comparables et les données se complètent bien. On voit bien l'intérêt qu'apportent nos mesures pour les relativement faibles fractions liquides.

Contrairement aux conclusions tirées par Bernard<sup>90</sup> de son travail de pionnier, et plus récemment par Eftekhari & Farajzadeh<sup>89</sup>, nous prouvons qu'il existe des conditions dans lesquelles la mousse contrôle la perméabilité relative du liquide.

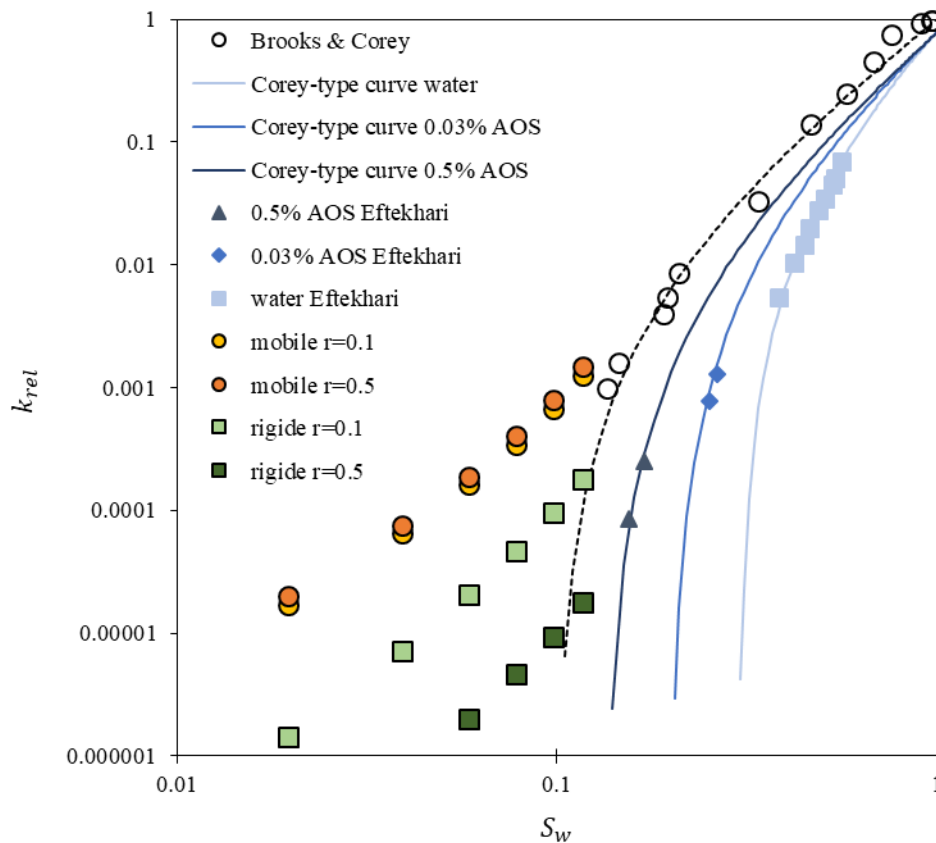


Figure A- 5 : Comparaison de nos données avec celles obtenues par Eftekhari & Farajzadeh<sup>89</sup> par injection de liquide moussant et de gaz dans une colonne de sable de perméabilité  $k_{D(\varepsilon=1)} = 2,41 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2$ . Les lignes correspondent à une loi empirique utilisée par les auteurs pour décrire les données, et particulièrement la fraction liquide seuil, en dessous de laquelle le liquide ne sort pas.

## 4. Articles

#### 4.1. Liquid relative permeability through foam-filled porous media: Experiments

Margaux Ceccaldi<sup>1</sup>, Vincent Langlois<sup>1</sup>, Marielle Guéguen<sup>2</sup>, Daniel Grande<sup>3</sup>, Sébastien Vincent-Bonnieu<sup>4</sup>, Olivier Pitois<sup>1</sup>

1 Univ Gustave Eiffel, Ecole des Ponts, CNRS, Navier, F-77454 Marne-la-Vallée, France

2 Univ Gustave Eiffel, MAST-CPDM, F-77454 Marne-la-Vallée, France

3 Univ Paris Est Creteil, CNRS, Institut de Chimie et des Matériaux Paris-Est (ICMPE), 2 rue Henri Dunant, 94320 Thiais, France

4 European Space Agency: Keplerlaan 1, 2200 AG Noordwijk, The Netherlands

Abstract:

For some applications involving liquid foams, such as soil remediation for example, the liquid relative permeability of the foam-filled porous medium is a crucial parameter as it sets the liquid flow rate at which active substances or nutrients (for bacteria) can be delivered deep into the medium. We are interested in the liquid relative permeability of foam-filled porous media, within the range of low liquid saturations, i.e.  $\lesssim 20$  vol.%. We fill porous media (packed spherical grains) with different foams made from either alkyl polyglucosides (APG) or saponin, in such a manner that we obtain highly controlled samples in terms of the bubble-to-grain size ratio  $r$  and the liquid saturation. The liquid relative permeability of saponin samples exhibits an optimal value as a function of  $r$ , while it increases significantly for APG foams. The ratio of their relative permeability APG/saponin reveals two regimes as a function of  $r$ : for  $r \lesssim 0.25$ , the permeability ratio is equal to the ratio corresponding to the bulk foams, while for larger  $r$  values, the permeability ratio is increased by one order of magnitude. The foam microstructure changes a lot as the bubble-to-grain size ratio increases up to 0.5, so that a new liquid network is activated, made of surface channels and liquid bridges, the former connecting the latter even at low liquid saturation. These new liquid elements may greatly benefit foams with mobile interfaces such as APGs. One such issue would deserve a dedicated study to be elucidated.

### I. INTRODUCTION

Liquid foams are used in various applications [1]. In the context of soil remediation [2] or oil extraction [3], foam rheology is useful to mitigate effects due to permeability contrast within the soil layers. In the presence of foam into porous media, it is usual to describe the flows of both gas and liquid phases in terms of relative permeability which can be correlated to the phase saturation using Corey-type relations [4] for example. Such relations involve several parameters, such as the so-called end point relative permeability to the considered phase, the irreducible water saturation and the residual gas saturation, as well as Corey exponents. In a pioneering work, Bernard *et al.* [5] studied the effect of foam on permeability of porous media to water. It was concluded that the presence of foam did not change the liquid (water) relative permeability. In other words, the permeability to liquid was the same in the presence or in the



absence of foam lamellae. This result, which is currently used as a basic assumption in models for foams through porous media, has been strengthened recently by Eftekhari & Farajzadeh [6].

Herein, we are interested in the liquid relative permeability of foam-filled porous media within the range of low liquid saturations, *i.e.* 5%-20 vol.%, whereas most of the previous studies were performed at significantly higher liquid saturations, *i.e.* > 20 vol.%. Our goal is to demonstrate that there are situations where the characteristics of the foam trapped into the porosity has significant impact on liquid permeability. In order to show this, we have to be able to control the bubble-to-grain size ratio (with both monodisperse bubbles and grains), which is expected to have significant effect: for small ratio the pores are filled with foam, while for ratio close to unity each pore will contain one bubble on average. We also have to be able to control the liquid contained. And, in order to fully address this issue, we will also play with the mobility parameter of the surfactants along the liquid/air interfaces. As such a control has never been carried out in the past we hope to obtain original results.

## II. MATERIALS AND METHODS

### A. Foaming solution

Two foaming solutions were studied.

(1) Saponin (from Merck) was used as a nonionic surfactant. It is extracted from the Quillaja Saponaria barks. Note that the word ‘sapo’ (Latin) means ‘soap’, which is due to the fact that saponins form foams when mixed with water. The amphiphilic structure of saponins, due to their lipophilic aglycones and hydrophilic saccharide side chains, is responsible for the foam formation. We used this product as received at concentration 6 g/L in water (milli-Q). It is composed of 8 % to 25 % of saponin and its average molar mass is 1000-2000 g/mol. The CMC was measured to be about 3.3 g/L.

(2) Alkyl polyglucosides (Glucopon® 225DK from BASF) used at 10 g/L in water. It is an anionic surfactant of average molar mass 420 g/mol, and its purity is equal to 70 %. The CMC was measured to be about 2 g/L.

### B. Porous medium

The porous medium was made by piling monodisperse grains (glass beads) in a glass column. Grains diameter  $D_p \pm \Delta D_p$  ranges from 1.1 mm to 5 mm (see Table 1), with  $\Delta D_p/D_p \approx 5\%$  for grains of size 1.5, 3 and 5 mm,  $\Delta D_p/D_p \approx 8\%$  for 1.1 mm grains, and  $\Delta D_p/D_p \approx 10\%$  for the 2.0 mm grains. The first step is to determine the pore volume that the foam will occupy in the packing. The porosity  $\phi_p$  of the grains packing is likely to be influenced by wall effects in the column of diameter 25.9 mm. Specifically, the arrangement of grains at wall is different from the volume packing, and the proportion of pores exposed to the wall varies with the ratio of grain/column diameters, *i.e.* 0.04 to 0.2. We determine the porosity as follows: a mass of grains  $m_g$  is poured into a column partially filled with water with a volume  $V_e$ . We distinguish two

characteristic volumes for the packing:  $V_g$  corresponding to the volume of all the grains added (we don't know this volume, but we will determine it in the following) and  $V_{pack}$  corresponding to the total volume occupied by the packing. The total volume of water and grains is noted  $V_t$ . The density is obtained with the ratio:  $C_g = m_g/V_g = m_g/(V_t - V_e)$ . Thereafter the volume of grains introduced into the column was determined by the ratio  $m_g/C_g$ . Before filling the column with the grains, their mass is weighed. A grid is added to the bottom of the column so that the grains were retained in the column while allowing the foam to pass without breaking the bubbles. After filling, the height  $H$  of the packing is measured and its volume  $V_{pack}$  is determined from the cross-section  $S = 527 \text{ mm}^2$  of the column. The porosity is then calculated by the relation  $\phi_p = 1 - m_g/(C_g V_{pack})$ .  $\phi_p$  values are presented in Table 1.

$D_p$	5 mm	3 mm	2 mm	1.5 mm	1.1 mm
$\phi_p$ (H = 160 cm)	0.43	0.42			
$\phi_p$ (H = 64 cm)		0.39	0.38	0.41	0.38

*Table 1: Diameter  $D_p$  of the grains (glass beads) used to make the packings and the resulting pore volume fraction  $\phi_p$ .  $H$  is the height of the column in which the grains have been packed.*

### C. Foam production and filling of the porous medium

We used the device already implemented in previous reports [7-10] and shown in Fig. 1a. The setup and the procedure are briefly presented in Appendix A.

The resulting foam continuously fills the porous column. We monitored the foam at the exit of the column until we found the monodisperse foam introduced. Therefore, at that stage, the size (volume) of the bubbles inside the bead pack is the one we have prepared in the foaming column. It may be necessary to circulate foam for a few minutes before the stability described above is observed. As preliminary tests, after the described non-stationary phase, we measured the liquid fraction of the foam contained into the porous column by comparison of the mass of the foam-filled porous column with the one of the initially dry porous column. All the measurements were found to be within the error bar (*i.e.* 5%) of the liquid fraction measured at the entry of the porous column, which means that the target liquid fraction was reached. Because of gas compressibility, one could expect some deviation with respect to the latter estimation. However, while moderate driving pressure is required to fill the column, after the arrest of the flow, the foam pressure is released through both column's ends, resulting eventually in a remaining pressure originating from the trapping of the bubbles into the pore network. For the studied porous columns, this pressure is expected to be of the order of  $P = P_0 + 10^3 Pa$  and the resulting change in foam liquid fraction is given by  $\varepsilon_f(P)/\varepsilon_f(P_0) = 1/(1 + (1 - \varepsilon_f(P_0))P_0/\varepsilon_f(P_0)P) \approx 1\%$ .

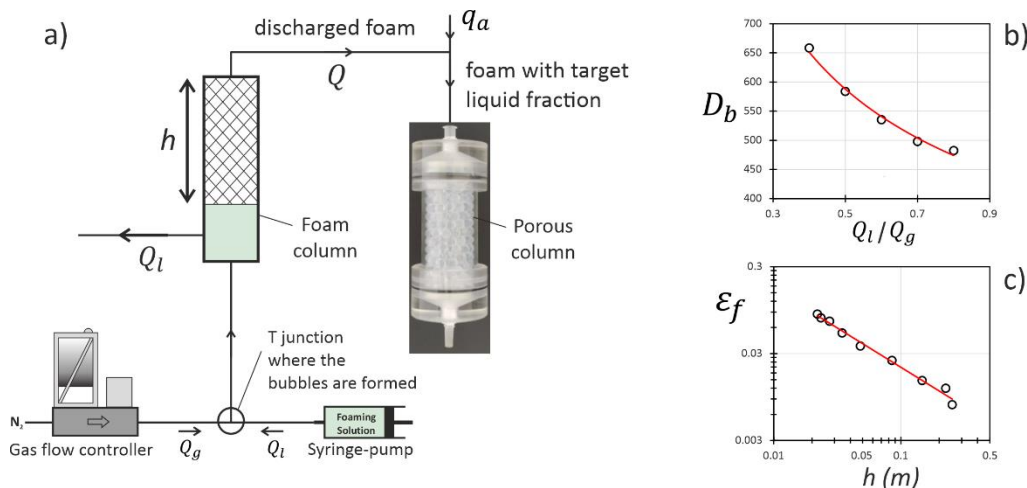


Figure 1: Setup used to prepare liquid foam and fill the porous media. Both bubble size ( $D_b$ ) and liquid volume fraction ( $\epsilon_f$ ) of the discharged are set during foam preparation – see (b) and (c) respectively. All the details can be found in the Appendix A.

#### D. Permeability measurement

First, we measured the reference permeability  $k_{f0}$  of bulk foam alone, i.e. without any effect of confinement by the porous medium. This was done using the method known as *forced drainage* [11, 12]. Then, for a few foam-filled porous samples, essentially those with large grains (3 and 5 mm) and APG foams, we extend this method to determine the permeability  $k_f$  of the confined foam. For the other foam-filled porous samples, we turned to a falling head permeability test to determine  $k_f$ . The Appendix B presents all the details for both methods.

### III. RESULTS AND DISCUSSION

First, we consider the results for both saponin and APG bulk foams presented in Fig. 2a. As expected, the permeability increases as a function of liquid fraction [13]. Besides, foam made with APG is significantly more permeable than foam made with saponin. Both foam permeabilities are shown to be correctly described over the full range of liquid fraction by expressions proposed in the literature [14], which account for the ability of the surfactant-laden interfaces to be set in motion or to resist to viscous stress from liquid flow between the bubbles. Therefore, the permeability of the saponin foam is well-described by eq. 1a, which corresponds to “non-mobile” interfaces, while the APG foam corresponds to “mobile” interfaces and is well-described by eq. 1b. Note that here, the terms “mobile” and “non-mobile” refer to the tangential mobility of the surfactant along the liquid-gas interface. Therefore, the surfactants chosen for the present study exhibit the extreme interfacial behaviors that can be observed for the drainage of liquid foam [14]. The ratio of the dimensionless permeabilities  $\tilde{k}_{f0}^{APG} / \tilde{k}_{f0}^{sap}$  is close to 5 for most of the values, except for liquid fractions  $\epsilon_f < 0.02$ .

$$\tilde{k}_{f0}^{sap}(\varepsilon_f) = \frac{k_{f0}^{sap}(\varepsilon_f)}{D_b^2} = \frac{\varepsilon_f^2}{\alpha_0(1 - 2.15\varepsilon_f + 1.37\varepsilon_f^2)^2} \quad (1a)$$

$$\tilde{k}_{f0}^{APG}(\varepsilon_f) = \frac{k_{f0}^{APG}(\varepsilon_f)}{D_b^2} = \frac{\varepsilon_f^{3/2}}{\beta_0(1 - 2.7\varepsilon_f + 2.2\varepsilon_f^2)^2} \quad (1b)$$

where  $\alpha_0 = 1350$  and  $\beta_0 = 1250$  were obtained from least square fits of figure 2a. It is noteworthy that in the limit of small liquid fractions, these expressions are compatible with the well-known *Plateau border model*, i.e.  $\tilde{k}_{f0} \sim \varepsilon_f^2$ , and the *vertex model*, i.e.  $\tilde{k}_{f0} \sim \varepsilon_f^{3/2}$  [13].

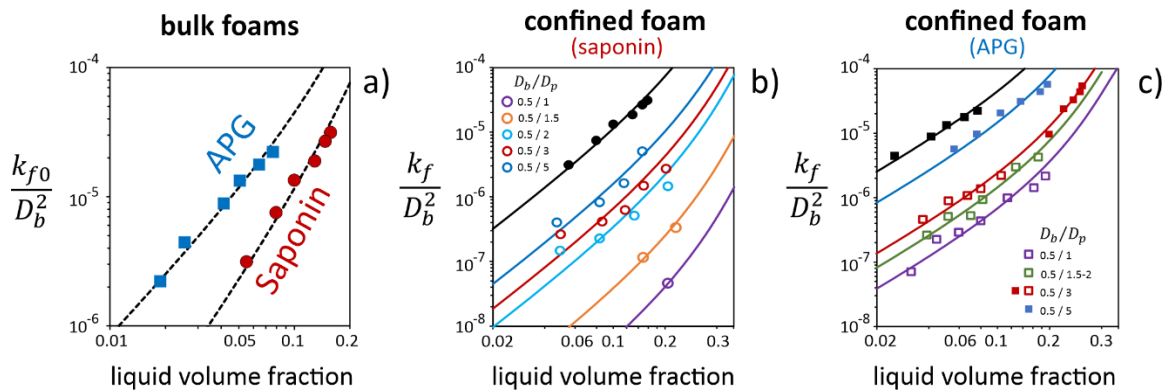


Figure 2: (a) Reference dimensionless permeability  $\tilde{k}_{f0} = k_{f0}/D_b^2$ , i.e. the bulk (non-confined) permeability divided by the bubble diameter squared, as a function of the liquid volume fraction for the two foams used in this study, namely Saponin foam and APG foams. Dotted lines correspond to equations 1a and 1b. (b) Dimensionless permeability  $\tilde{k}_f = k_f/D_b^2$  measured as a function of liquid volume fraction (i.e.  $\varepsilon_f$  or equivalently the liquid saturation  $S_w$ ) for the confined saponin foams, for different bubble/grain sizes, as indicated (in mm). Black symbols correspond to the reference foam. Solid lines correspond to eq. 2 with coefficient  $C(r)$  presented in Figure 4a. (c) Dimensionless permeability  $\tilde{k}_f = k_f/D_b^2$  measured as a function of liquid volume fraction (i.e.  $\varepsilon_f$  or equivalently the liquid saturation  $S_w$ ) for the confined APG foams, for different bubble/grain sizes, as indicated (in mm). Black symbols correspond to the reference foam. Solid lines correspond to eq. 2 with coefficient  $C(r)$  presented in Figure 4a.

Then, we present the results of the foam confined into the porosity of granular packings. In Figs 2b and 2c, foam permeabilities  $\tilde{k}_f$  of confined foams with same bubble size, i.e.  $D_b = 500 \mu\text{m}$ , are plotted as a function of liquid fraction for different grain diameters  $D_p$ , for saponin and APG respectively. Both  $\tilde{k}_f^{sap}$  and  $\tilde{k}_f^{APG}$  show significant decrease with respect to the corresponding  $\tilde{k}_{f0}$  value as  $D_p$  decreases from 5 mm to 1 mm. Actually,  $\tilde{k}_f^{sap}$  is decreased by about 1000 and  $\tilde{k}_f^{APG}$  is decreased by about 100. For APG foams, measurements performed with both the ‘front’ method and the Darcy method are found to be complementary and fit together to form a consistent curve (see Fig. 2c for  $D_p = 3$  mm and 5 mm). As seen in Fig. 2c, data for  $D_p = 1-1.5$

mm were scarce because it was difficult to ensure the foam stability with saponin during the filling step for such grain sizes.

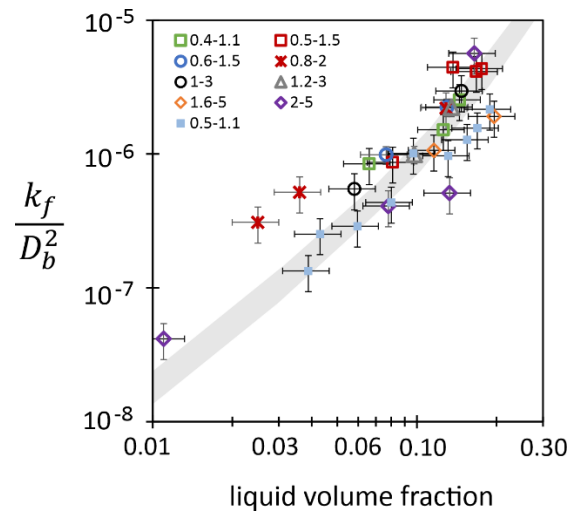


Figure 3: Dimensionless permeability  $\tilde{k}_f = k_f / D_b^2$  measured as a function of liquid volume fraction (i.e.  $\varepsilon_f$  or equivalently the liquid saturation  $S_w$ ) for confined APG foams, for different bubble/grain sizes, as indicated (in mm). All the presented size ratios are within the range  $0.32 \leq r \leq 0.46$ . The thick grey line frames to values obtained from equation 2 with  $C(r = 0.32) = 0.029$  and  $C(r = 0.46) = 0.0175$ . As a reasonable collapse is obtained, this suggests that  $r$  and liquid fraction can be considered as control parameters.

In order to investigate the respective effects of both grain diameter  $D_p$  and bubble diameter  $D_b$ , we present in Fig. 3 different combinations of those parameters leading to  $r = D_b / D_p$  values within a narrow range  $0.32 \leq r \leq 0.46$ . Fig. 3 shows that the relevant control parameter for the dimensionless permeability of confined foams is actually the size ratio  $r$ : whatever the grain size, the dimensionless permeability  $k_f(\varepsilon_f) / D_b^2$  of the confined foam is set by  $r$ . More precisely,  $k_f$  can be deduced from  $k_{f0}$  by the following relation:

$$\tilde{k}_f(r, \varepsilon_f) = C(r) \times \tilde{k}_{f0}(\varepsilon_f) \quad (2)$$

where the values of  $C(r)$  that permit to describe the curves  $\tilde{k}_f(r, \varepsilon_f)$  in Figs 2b and 2c are presented in Fig. 5a. It is noteworthy that we were able to fit our data by keeping the form of equations 1 and changing only the coefficients  $\alpha_0$  and  $\beta_0$  which we replaced with  $\alpha(r)$  and  $\beta(r)$  respectively. Therefore, coefficients  $C(r)$  are the ratios  $\alpha(r) / \alpha_0$  and  $\beta(r) / \beta_0$  respectively. As expected we find for  $C(r)$  the decrease already observed in Figs 2b and 2c. It is to say that the strong decrease for saponin foam is almost an exponential decrease. For APG foam the decrease is similar at small  $r$  values, i.e.  $r \leq 0.25$ , while the decay is more limited at larger  $r$  values. It is usual to express the permeability of the foamy porous medium  $k_D$  in terms of relative permeability, i.e.  $k_{rel} = k_D / k_D(S_w = 1)$ . In order to provide values for  $k_D(S_w = 1)$ , we choose to use the Carman-Kozeny expression for the permeability of the

saturated granular pack [15, 16]:  $k_{CK} = \phi_p^3 D_p^2 / [180(1 - \phi_p)^2]$ . According to eqs (B6) and (2) the relative permeability writes:

$$k_{rel} \equiv \frac{k_D}{k_{CK}} = 180 \left( \frac{1 - \phi_p}{\phi_p} \right)^2 r^2 C(r) \times \tilde{k}_{f0}(\varepsilon_f) \quad (3)$$

Therefore,  $k_{rel}$  depends on the liquid volume fraction  $\varepsilon_f$ , also called liquid (water) saturation  $s_w$ , through  $\tilde{k}_{f0}(\varepsilon_f)$ , which accounts for the intrinsic permeability of the bulk foam. It is interesting to plot the functional form  $r^2 C(r)$  which accounts for the effects of confinement by the grains (see Fig. 4b). For saponin foam, the function increases from  $r \approx 0$  to  $r \approx 0.1$ , then decreases for  $r \geq 0.25$ . As a result, there is a range of values  $r$  corresponding to maximum relative permeability for the foamy granular packings. In contrast, for APG foam, there is a monotonic increase. The effect of the surfactant is therefore considerable as it induces either an increase or a decrease of the relative permeability for  $r \geq 0.25$ , all other parameters being equal. Moreover, the use of APG foam instead of saponin, or more generally: the use of foam exhibiting ‘mobiles’ interfaces instead of foam exhibiting ‘non-mobiles’ interfaces, allows to increase significantly the relative permeability of foamy granular packing, all the more so as the bubble-to-grain size ratio  $r$  is larger than 0.25. This can be seen also in Fig. 4c where the ratio  $k_{rel}^{APG} / k_{rel}^{sap}$  is plotted as a function of  $r$  (note that as the data for the two surfactants do not have exactly the same  $r$  values, we performed linear interpolations to make them match). Two regimes can be clearly distinguished: (1) for  $r \leq 0.25$ , the permeability ratio of the confined foams is comparable to the ratio corresponding to the bulk foams, i.e.  $k_{rel}^{APG} / k_{rel}^{sap} \approx \tilde{k}_{f0}^{APG} / \tilde{k}_{f0}^{sap} \approx 5$ ; (2) for  $r > 0.25$  the permeability ratio of the confined foams is one order of magnitude larger than the ratio corresponding to the bulk foams, i.e.  $k_{rel}^{APG} / k_{rel}^{sap} \gg \tilde{k}_{f0}^{APG} / \tilde{k}_{f0}^{sap}$ .

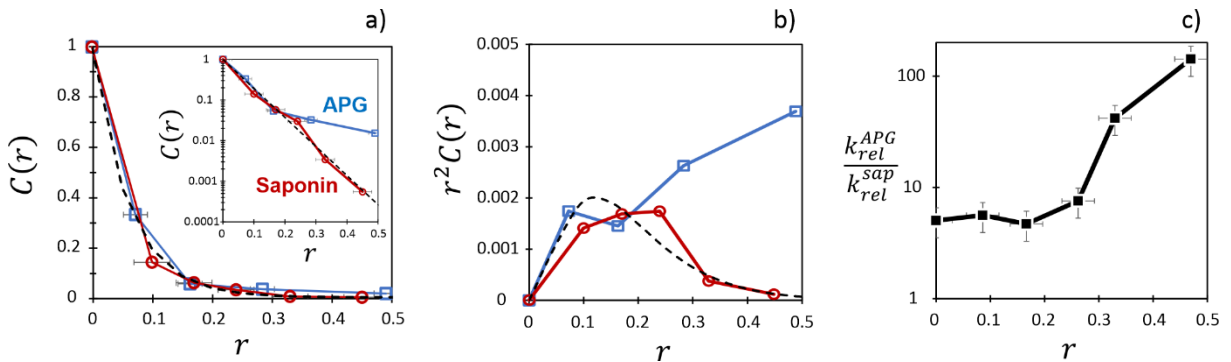
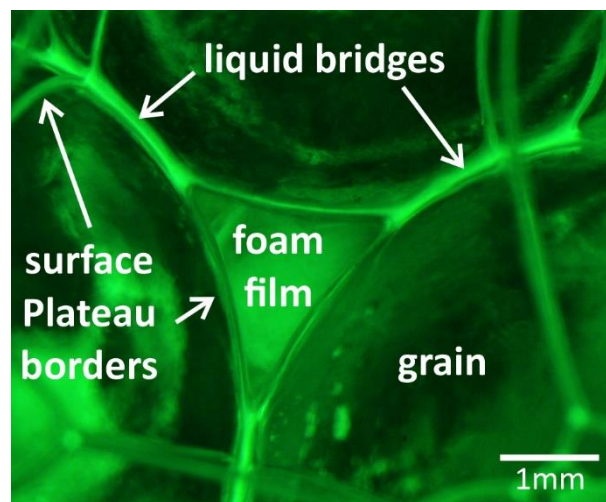


Figure 4: (a) Coefficient  $C(r)$  introduced in equation 8 to describe the decrease in the dimensionless permeability as a function of the bubble-to-grain size ratio, with respect to the reference bulk foam (not confined). Inset: Same data but with log-scale for  $C(r)$ . Dotted lines correspond to  $C(r) = \exp(-r/0.0607)$ . (b) Functional form  $r^2 C(r)$  which accounts for the effects of confinement by the grains in the expression of the relative permeability, i.e. permeability of the foam-filled porous sample divided by the permeability of the liquid-saturated porous sample (see equation 3). The dotted line corresponds to  $r^2 C(r) =$

$r^2 \times \exp(-r/0.0607)$ . (c) Ratio of permeability of APG/saponin foam-filled porous samples as a function of bubble-to-grain size ratio. The point at  $r = 0$  is related to the corresponding bulk foams.

It is shown here that the bubble-to-grain size ratio is a crucial parameter for relative permeability within the range of low liquid saturations. It can be said that a stronger foam confinement associated with the increase of the bubble-to-grain size ratio is responsible for this effect. More precisely, the decrease in the density of bulk foam channels to the advantage of surface channels is expected to be directly related to the observed decrease of the liquid permeability. Observations of ours samples at the wall revealed that for high bubble-to-grain size ratio, bulk liquid channels have disappeared, whereas significant liquid proportion is in contact with the grain surface, either wall in the form of wall liquid channels or in the form of liquid bridges, the former connecting the latter even at low liquid saturation (see Figure 5). Because the foam microstructure changes significantly as the bubble-to-grain size ratio increase up to 0.5, one can imagine that a new liquid network is activated and replaces the liquid network specific to bulk foams. This new network may have elements that can greatly benefit foams with mobile interfaces. This issue would deserve a dedicated study to be elucidated.



*Figure 5: Picture of a sample as observed through the wall, for high bubble-to-grain size ratio (i.e.  $r \approx 0.5$ ). The liquid content has been made very low (i.e. 2-4 vol.%) in order to better see the foam microstructure. The liquid bridges form at contact between adjacent grains, and the surface channels (surface Plateau borders) connect the liquid bridges. Foam films also connect both surface Plateau borders and liquid bridges. This is to say that there are no more bulk pore liquid channels.*

#### IV. CONCLUSION

We measured liquid permeability values of foam-filled bead packs for low liquid volume fraction (equivalently, low liquid saturation). We were able to control independently the bubble size, the grain size, the liquid saturation, and the effective mobility of the foam interfaces. With



respect to this last parameter, this was achieved by using two different surfactants, namely alkyl polyglucosides (APG), which was shown to exhibit the so-called mobile interfaces [13], and saponin, which was shown to exhibit the so-called non-mobile interfaces [13].

Liquid permeability in foam-filled samples was measured for liquid saturations as low as 3 vol.% for both surfactants. We showed that when using the reference foam (non-confined) permeability, made dimensionless with the bubble size squared, the confined foam permeability decreased as a single function of the bubble-to-size ratio,  $r$ . This function depended however on the surfactant, and we reported a decrease for saponin stronger than that for APG.

In contrast to the conclusions drawn by Bernard [5] from his pioneering work, and more recently by Eftekhari & Farajzadeh [6], we prove that there are conditions where the foam controls the liquid relative permeability. Expressed in terms of relative permeability of the porous medium, *i.e.* permeability of the foam-filled sample divided by the permeability of the liquid-saturated sample, we observed a strong effect of the used surfactant as a function of the bubble-to-grain size ratio. For saponin, a non-monotonic curve is obtained, exhibiting a maximum value for values of  $r$  close to 0.15-0.2. For APG, we measured an increasing function. This difference was also highlighted when plotting the ratio of the relative permeability (APG/saponin): (1) for  $r \leq 0.25$ , the permeability ratio of the confined foams was approximately equal to 5, which was comparable to the ratio corresponding to the bulk foams; (2) for  $r > 0.25$ , the permeability ratio of the confined foams is one order of magnitude larger than the ratio corresponding to the bulk foams.

Bernard *et al.* [5] studied the effect of foam on permeability of porous media to water. It was concluded that the presence of foam did not change the liquid (water) relative permeability. In other words, the permeability to liquid was the same in the presence or in the absence of foam lamellae. This result, which is currently used as a basic assumption in models for foams through porous media, has been strengthened recently by Eftekhari & Farajzadeh [6].

It was suggested that the first regime ( $r \leq 0.25$ ) is related to the decrease in the density of bulk pore foam channels to the advantage of surface channels. As the bubble-to-grain further increases, foam microstructure changes dramatically and a new liquid network is activated, where large liquid bridges connected by surface channels replace the liquid network specific to bulk foams. The modelling of these effects is under investigation and will be published in a forthcoming contribution.

## Nomenclature

$D_p$ : diameter of the monodisperse packed beads that forms the porous medium

$D_b$ : diameter of the monodisperse bubbles in the foam (inside or outside the porous medium)

$r = D_b/D_p$ : size ratio



$\phi_p$ : pore volume fraction in the bead packings

$\varepsilon_f$ : volume fraction of liquid in the foam

$S_w$ : volume fraction of liquid in porous medium. Due to our experimental conditions for the study of the foam-filled samples, we have  $S_w \approx \varepsilon_f$

$k_{f0}^{surf}$ : Darcy permeability of the bulk foam, i.e. without any confinement effect, measured by dedicated experiment, for surfactant as mentioned by “surf” = APG or Saponin

$k_f^{surf}$ : Darcy permeability of the foam when confined into the pore space, for surfactant as mentioned by “surf” = APG or Saponin

$\tilde{k}_f^{surf} = k_f^{surf} / D_b^2$ : dimensionless foam permeability, for surfactant as mentioned by “surf” = APG or Saponin

$k_D$ : Darcy permeability of the foam-filled porous medium

$k_D(S_w = 1)$ : Darcy permeability of the liquid-saturated porous medium

$k_{rel} = k_D / k_D(S_w = 1)$ : relative permeability of the foam-filled porous medium

### Appendix A: Details about the foam production

The setup we used allows to control liquid foams in terms of bubble size (monodisperse) and liquid volume fraction. Briefly: a flow of nitrogen is pushed to one inlet of a T-junction, while a flow of foaming solution is pushed to the other inlet, producing bubbles at the outlet. The bubbles produced are collected in a vertical glass column. A camera placed at the wall of the column allows to observe them. The control of the liquid outlet (see Fig. 1a) at the bottom of the column permits either to stabilize the position of the foam in the column or to let it exit from the top at a chosen flow rate.

The bubble generator device allows us to change the bubble diameter  $D_b$  by tuning the ratio of the nitrogen flow rate  $Q_g$  and the solution flow rate  $Q_l$ . To characterize the generator, *i.e.* to establish the relation  $D_b = f(Q_g/Q_l)$ , we proceeded as follows: a little of the foam was sucked up with a syringe, to the end of which we then connected a glass capillary (Hirschmann Laborgeräte, Ringcaps 5 $\mu$ L) of diameter 0.29 mm. By drawing some of the foam through the capillary, images were obtained under a microscope which allow direct observation of the confined bubbles (their geometry corresponds to spherocylinders) and deduction of their size. Care was taken to ensure that the bubbles observed were not broken bubbles during their transfer. The relative error on the bubble size is estimated to be within 2 %. Fig. 1b displays the measured  $D_b$  values for different liquid/gas flow rate ratios. It is noted that the generator permits to obtain bubbles of 500  $\mu$ m in diameter at a significant gas flow rate (7 mL/min). Producing efficiently bubbles with diameters smaller than 400  $\mu$ m or larger than 800  $\mu$ m requires to change the tee-junction.

In order to impose the liquid fraction of the foam when discharged from the column, it is necessary to control the drainage of the foam during its stay in the column. The simplest way is to impose the output flow rate  $Q$ , to fix the position of the separation interface between the foam and the liquid in the column (foam height  $h$  in Fig. 1a). In practice, maintaining a fixed height of foam in the column consists in evacuating from the bottom of the column the excess

liquid introduced with the bubbles from the generator. The liquid volume fraction of the discharged foam was measured by weighting the mass of the liquid contained into a known foam volume. Fig. 1c shows the evolution of the liquid fraction of the discharged foam as a function of the foam height  $h$ , for  $Q = Q_g = 10$  mL/min. As one can see, this evolution is well-characterized by a power-law function, *i.e.*  $\varepsilon_f \approx 0.0026 h^{-0.90}$ , within the range  $\varepsilon_f \approx 1-8\%$ . Actually, higher liquid fraction could not be achieved by this way. Therefore, in order to vary this parameter over the full range, *i.e.* 1-30%, we add liquid at flow rate  $q_a$  directly into the discharged foam, right before the entry in the porous column (see Fig. 1a), where the target liquid fraction can be estimated by volume conservation:  $\varepsilon_f \approx (q_a + 0.0026 Q h^{-0.90}) / (q_a + Q)$ .

## Appendix B: Details about the measurement of liquid permeability

We present the two methods used to measure the liquid permeability of the reference bulk foams (*i.e.* unconfined) and the foam-filled porous samples.

### 1. Forced drainage

This measurement method, generally referred to as *forced drainage*<sup>11,12</sup>, involves allowing first the foam produced to drain into the column, then pouring surfactant solution down from the top of the column, while measuring the rate at which this excess liquid flows into the foam as a front separating the initial foam, of liquid volume fraction  $\varepsilon_{f0}$ , from the foam soaked to fraction  $\varepsilon_f$ . We used this method to characterize both the bulk foam permeability and the foam confined in the porous medium.

**Bulk (unconfined) foam:** With the 500  $\mu\text{m}$  bubbles produced, it is possible to let the foam drain for about fifteen minutes without observing any ripening, *i.e.* evolution of the bubble size. This step permits to decrease the liquid fraction in the foam in order to better observe the evolution of the liquid front. It is then necessary to know the liquid fraction of the foam after this waiting phase and before pouring the solution. To do this, the drained foam is discharged from the column at a volume flow rate  $Q$  and the mass of foam collected in a container for a time  $\Delta t$  is weighed. The fraction of liquid contained in this foam is thus:  $\varepsilon_{f0} = m / (\rho Q \Delta t)$ . Under our experimental conditions we measured  $\varepsilon_{f0} = 0.5\% \pm 0.2\%$  for APG foam, and  $\varepsilon_{f0} = 1.8\% \pm 0.2\%$  for saponin foam. It is assumed that these values are unchanged as long as the foam production conditions are unchanged.

After this first phase, the surfactant solution is poured at the top of the column with a so-called imbibition flow rate  $q$  (see Fig. B1a), the bottom of the column being completely closed while the top is open to allow the foam expansion. The drainage front is observed with a camera and its passage is detected by light transmission at different positions  $z_i$  in the column (see Fig. B1a). For each height  $z_i$  a space-time image is obtained, of width  $w$  corresponding to that of the image of the column, according to time (or image number  $\xi$ ). We then plot as a function of

$\xi$  the gray level  $n$  averaged over  $w$ . These curves clearly show a transition which corresponds to the passage of the front. To determine the speed of the front, we plot the normalized gray level  $n^* = (n - n_{min}) / (n_{max} - n_{min})$  between 0 and 1 for the different heights  $z_i$ , as a function of time obtained from image number  $\xi$  and the time interval between images in the sequence. This type of figure is shown in Fig. B1b. The passage of the front for each  $z_i$  is marked by the value  $n^* = 0.5$ , which makes it possible to determine the associated passage times  $t_{pi}$ . We then plot  $z_i - z_1$  as a function of  $t_{pi} - t_{p1}$  whose slope directly provides the velocity  $v_f$  of the front (see Fig. B1c). From the front velocity data, it is possible to deduce the permeability  $k_{f0}$  of the foam. We start by using Darcy's law applied to the gravity flow of the liquid in the foam:

$$\frac{q_i}{S} = \frac{k_{f0}}{\mu} \rho g \quad (B1)$$

In order to compare our results with those of the literature, the permeability is scaled by the square of the bubble size:

$$\tilde{k}_{f0} = \frac{k_{f0}}{D_b^2} = \frac{\mu q_i}{\rho g S D_b^2} \quad (B2)$$

The liquid fraction  $\varepsilon$  of the foam behind the front ( $\varepsilon_{f0}$  being that before the front passes) is determined by conservation of liquid volume:  $v_f(\varepsilon_f - \varepsilon_{f0}) = q_i/S$ . Thus, the measurement of  $v_f$  provides the liquid fraction:

$$\varepsilon_f = \varepsilon_{f0} + \frac{q_i}{S v_f} \quad (B3)$$

Foam confined in the porous medium: For a few samples, essentially those with large grains (3 and 5 mm) and APG foams, we realized that they were notoriously draining, so we sought to measure their permeability in the same way as for unconfined foams, as described above. For such measurements, the length of the porous column is 160 mm. Foam filling is performed as described in II.C. with a foam containing 5% liquid, and then 10 to 15 min is waited for drainage to decrease the liquid fraction. This fraction, noted  $\varepsilon_{f0}$ , was measured to be  $2.6\% \pm 0.2\%$ , by comparing the masses of the columns filled with foam and those of the same columns but dry, knowing the volume of grains (their mass and density) initially introduced into the column. For different imposed flow rates, the velocity of the advancing front of the liquid in the medium is measured and processed with the method already presented in previous paragraph. Note however that parameter  $S$  has to be replaced by  $\phi_p S$  into the previous equations in order to get the permeability of the foam. Similar front passage shapes are obtained as those observed with the foam alone (see Fig. B1), although the presence of the grains decreases the amplitude of the measured intensity signal. These measurements allow us to determine  $k_f(\varepsilon_f, D_b, D_g)$ , the permeability of the confined foam.

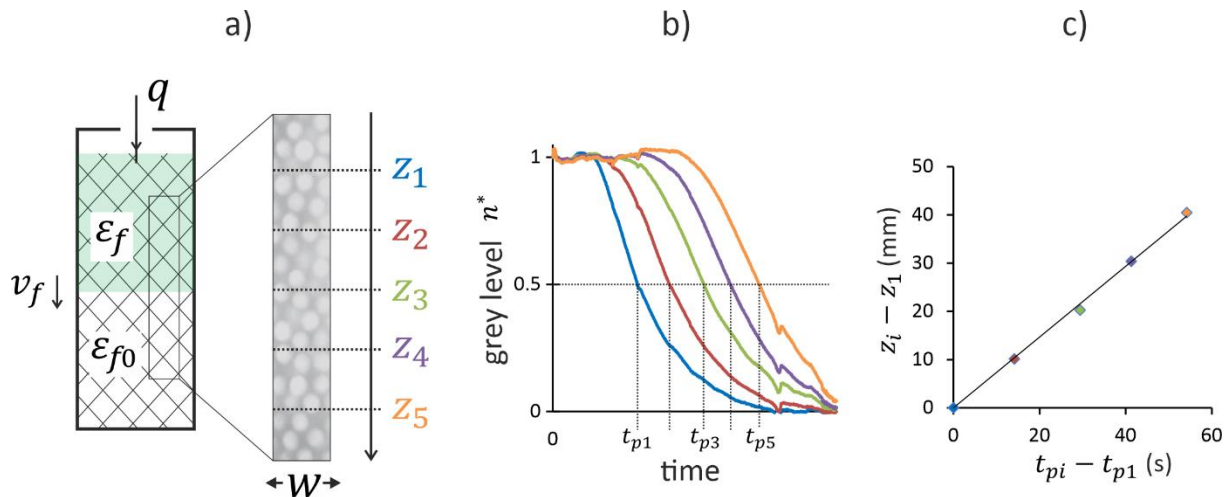


Figure B1: (a) The position of the drainage front is detected by light transmission at different positions  $z_i$  in the column ( $\varepsilon_{f0}$  is the initial liquid volume fraction,  $\varepsilon_f$  is the value after the passage of the front). (b) To determine the speed of the front, we plot the normalized gray level  $n^*$  for the different heights  $z_i$ , as a function of time. (c) We then plot  $z_i - z_1$  as a function of  $t_{pi} - t_{p1}$  whose slope directly provides the velocity  $v_f$  of the front.

## 2. Falling head permeability test

For all other samples, we did not observe any appreciable drainage during the 15-20 min during which it can be considered that the ripening has not yet had time to modify the bubble size. We therefore turn to another method described as follows: it consists in imposing a liquid height at the top of the granular/foam column and in following the liquid flow through the column (which is open at the bottom, in contrast to the first method) in the situation where the bubbles are not carried away by the flow. It should be noted that the first method involves the movement of bubbles in the porosity above the drainage front, due to the conservation of volume, and it was used rather for the biggest sizes of grains. The second method requires the capture of bubbles in the porosity of the packing and it was used rather for smaller grain sizes. To perform our measurements, we reduced the height of the granular column ( $H = 64$  mm) in order to decrease the duration of the experiment. We tested another solution to reduce the time of passage of the liquid through the column, which consisted in increasing the liquid pressure at the head of the column. This proved to be very delicate because bubbles were entrained by the flow so we did not further pursue this way. For the packings studied with this method the bubbles are immobilized by the grains and drainage does not occur or only very little. Therefore, the initial liquid fraction is assimilated to the liquid fraction of the foam used to fill the packing (see paragraph II.C. for more details) and there is no appreciable liquid flow in the absence of any pressure gradient applied to the column. Then a tube is placed above the column, as shown in Fig. B2a, and a volume  $V_t$  of surfactant solution is introduced into the tube using a syringe pump. The pressure imposed by the height  $z$  of the liquid in the tube allows the liquid to flow into the foam, through the granular packing. The kinetics of this flow is followed by measuring  $z$  as a function of time. In this configuration, the liquid flow rate  $q$  entering the packing depends on the cross-sectional area  $S_t$  of the tube and the variation of height  $z$  with time:  $q =$

$-S_t dz/dt$ . Darcy's law allows us to relate the flow rate  $q$  of the liquid to the permeability  $k_D$  of the medium, i.e. the permeability of the grains + bubbles, assuming that only the liquid is flowing:

$$-\frac{S_t}{S} \frac{dz}{dt} = \frac{k_D \rho g (z + H)}{\eta H} \quad (B4)$$

The resolution of this equation provides the temporal evolution of the altitude  $z$  as a function of the permeability  $k_D$ :

$$\frac{z + H}{z_0 + H} = \exp\left(-\frac{S}{S_t} \frac{k_D \rho g}{\eta H} t\right) \quad (B5)$$

Preliminary experiments were performed to validate this method, which, to our knowledge, has never been implemented with such foamy system. An example of the results is presented in Fig. B2b for foam with liquid fraction  $\varepsilon_f = 4\%$  introduced into the packing. Note that the measurement must be carried out over a period not exceeding about 20 minutes in order to limit the possible effects related to foam ripening.

The permeability related to the foam confined into the granular packing can be deduced from the  $k_D$  value by the following relation:

$$k_f(\varepsilon_f, D_b, D_g) = \frac{k_D(\varepsilon_f, D_b, D_g)}{\phi_p} \quad (B6)$$

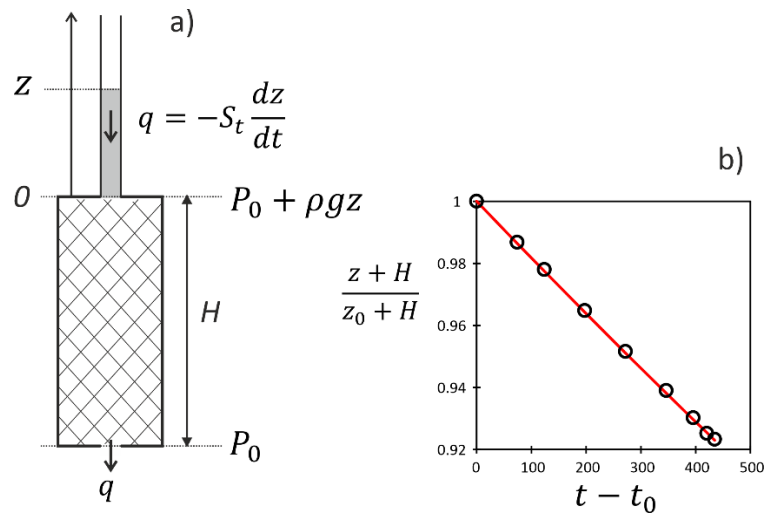


Figure B2: Darcy method. (a) The liquid height is measured at the top of the granular/foam column which allows the liquid flow through the column to be determined, in the situation where the bubbles are not carried away by the flow. (b) Example of measurement performed with this method: position of the liquid height as a function of time. Bubble size:  $490 \mu\text{m}$ . Grain size:  $2 \text{ mm}$ . Liquid volume fraction:  $7 \text{ vol.}\%$ . Permeability value obtained by fitting equation 5:  $4.48 \cdot 10^{-14} \text{ m}^2$

## Acknowledgement

The authors gratefully acknowledge funding from the Labex MMCD provided by the national program Investments for the Future of the French National Research Agency (ANR-11-LABX-022), and co-funding from the European Space Agency (reference I-2020-02017)

## References

- [1] Stevenson, P. *Foam Engineering Fundamentals and Applications*. (John Wiley & Sons, Ltd, 2012).
- [2] Hirasaki, G. J., Miller, C. A., Szafranski, R., Lawson, J. B. & Akiya, N. Surfactant/Foam Process for Aquifer Remediation. *Proceedings - SPE International Symposium on Oil field Chemistry* 471–480 (1997) doi:10.2118/37257-MS.
- [3] Rossen, W. R. *Foams in Enhanced Oil Recovery*. *Foams* (Routledge, 1996). doi:10.1201/9780203755709-11.
- [4] Szymkiewicz, A. *Modelling Water Flow in Unsaturated Porous Media: Accounting for Nonlinear Permeability and Material*. (Springer, 2013). doi:10.1007/978-3-642-23559-7.
- [5] Bernard, G. G., Holm, L. W. & Jacobs, W. L. Effect of Foam on Trapped Gas Saturation and on Permeability of Porous Media to Water. *Society of Petroleum Engineers Journal* **5**, 295–300 (1965).
- [6] Eftekhari, A. A. & Farajzadeh, R. Effect of Foam on Liquid Phase Mobility in Porous Media. *Sci Rep* **7**, (2017).
- [7] Khidas, Y., Haffner, B. & Pitois, O. Capture-induced transition in foamy suspensions. *Soft Matter* **10**, 4137–4141 (2014).
- [8] Gorlier, F., Khidas, Y. & Pitois, O. Coupled elasticity in soft solid foams. *J Colloid Interface Sci* **501**, 103–111 (2017).
- [9] Mouquet, A., Khidas, Y., Saison, T., Faou, J.-Y. & Pitois, O. Well-controlled foam-based solid coatings. *Soft Matter* **15**, (2019).
- [10] Kaddami, A. & Pitois, O. A physical approach towards controlling the microstructure of metakaolin-based geopolymer foams. *Cem Concr Res* **124**, 105807 (2019).
- [11] Miles, G. D., Shedlovsky, L. & Ross, J. Foam Drainage. *Journal of Physical Chemistry* **49**, 93–107 (1945).
- [12] Weaire, D., Pittet, N., Hutzler, S. & Pardal, D. Steady-state drainage of an aqueous foam. *Phys Rev Lett* **71**, 2670–2673 (1993).
- [13] Cantat, I. *et al. Foams: Structure and Dynamics*. (Oxford University Press, 2013).
- [14] Rouyer, F., Pitois, O., Lorenceau, E. & Louvet, N. Permeability of a bubble assembly: From the very dry to the wet limit. *Physics of Fluids* **22**, 043302 (2010).
- [15] Carman, P. C. Fluid flow through granular beds. *Transactions, Institution of Chemical Engineers, London* **15**, 150–166 (1937).
- [16] Kozeny, J. Ueber kapillare Leitung des Wassers im Boden. *Sitzungsber Akad. Wiss.* **136**, 271–306 (1927).

## 4.2. Coarsening-induced time evolution of liquid permeability through foam-filled porous media

Margaux Ceccaldi<sup>1</sup>, Vincent Langlois<sup>1</sup>, Marielle Guéguen<sup>2</sup>, Daniel Grande<sup>3</sup>, Sébastien Vincent-Bonnieu<sup>4</sup>, Olivier Pitois<sup>1</sup>

1 Univ Gustave Eiffel, Ecole des Ponts, CNRS, Navier, F-77454 Marne-la-Vallée, France

2 Univ Gustave Eiffel, MAST-CPDM, F-77454 Marne-la-Vallée, France

3 Univ Paris Est Creteil, CNRS, Institut de Chimie et des Matériaux Paris-Est (ICMPE), 2 rue Henri Dunant, 94320 Thiais, France

4 European Space Agency: Keplerlaan 1, 2200 AG Noordwijk, The Netherlands

Abstract:

Injection of liquid foam through soils is increasingly used in applications such as soil remediation or soil improvement, where it is also crucial to control the liquid relative permeability through the foam-filled soil. We have measured as a function of time the liquid permeability of grain packings initially filled with liquid foam for different values of the liquid saturation. It is shown that the liquid permeability increases as a function of time, which highlights significant ageing of such systems. We demonstrate that this evolution is directly related to the coarsening of the liquid foam confined in the pore space. We show how the evolution of the liquid permeability can be predicted from the knowledge of the bubble size evolution. Moreover, our data allow to extend the range of validity of functional forms proposed by Ceccaldi et al [1] to describe the liquid permeability, which should be useful for many applications using liquid foam in porous media.

### I. INTRODUCTION

Liquid foams have been used and studied for a long time in various applications [2]. With regard to soil applications, such as oil extraction [3], soil remediation [4] or soil improvement (MICP process for example), foam rheology helps to mitigate effects of soil permeability contrast [5]. In a certain number of cases, it is also crucial to control the liquid relative permeability through the foam-filled soil, as it sets the liquid flow rate at which active substances or nutrients (for bacteria) can be delivered deep into the medium.

The issue of the liquid relative permeability has already been studied to some extent. In a pioneering work, Bernard et al. [6] studied the effect of foam on permeability of porous media to water. It was concluded that the presence of foam did not change the liquid (water) relative permeability. In other words, the permeability to liquid was the same in the presence or in the absence of foam lamellae. This result has been strengthened recently by Eftekhari & Farajzadeh [7], but the subject is still under debate [8-13].

Very recently, Ceccaldi et al [1] have measured the liquid relative permeability  $k_l$  of foam-filled grain packings within conditions of immobile gas phase, i.e. trapped gas bubbles, and high gas

volume fraction. It was shown that  $k_l$  does not only depend on liquid saturation, but also depends strongly on both the bubble-to-grain size ratio  $r$  and the nature of the surfactant (interfacial rheology). Here we go further with the same approach and we study the effect of foam ageing on liquid permeability. We report measurements showing that  $k_l$  exhibits a significant increase as a function of time over several thousand seconds and eventually saturates. This effect is attributed to the intrinsic coarsening of the foam, which causes the size of the bubbles to increase over time, until each bubble finds its thermodynamic equilibrium in the pore space. It is then shown that measurement of the bubble size as a function of time combined with the previous expression for  $k_l$  as proposed by Ceccaldi et al [1] allow for the reported evolution  $k_l(t)$  to be reasonably understood.

## II. MATERIALS AND METHODS

### Foaming solution

Alkyl polyglucosides (Glucopon® 225DK from BASF) used at 10 g/L in water. It is an anionic surfactant of average molar mass 420 g/mol, and its purity is equal to 70 %. The CMC was measured to be about 2 g/L.

### Porous medium

The porous medium was made by piling monodisperse grains (glass beads) in a glass column. Grains diameter  $D_p$  is equal to 2 mm or 1 mm with  $\Delta D_p/D_p \approx 8-10\%$ . We determined the porosity of the grain packings as follows: a mass of grains  $m_g$  was poured into a column partially filled with water with a volume  $V_e$ . We distinguish two characteristic volumes for the packing:  $V_g$  corresponding to the volume of all the grains added (we don't know this volume, but we will determine it in the following) and  $V_{pack}$  corresponding to the total volume occupied by the packing. The total volume of water and grains is noted  $V_t$ . The density is obtained with the ratio:  $C_g = m_g/V_g = m_g/(V_t - V_e)$ . Thereafter the volume of grains introduced into the column was determined by the ratio  $m_g/C_g$ . Before filling the column with the grains, their mass was weighed. A grid was added to the bottom of the column so that the grains were retained in the column while allowing the foam to pass without breaking the bubbles. After filling the column with the grains, the height  $H$  of the packing was measured and its volume  $V_{pack}$  was determined from the cross-section  $S = 527\text{mm}^2$  of the column. The porosity was then calculated by the relation  $\varphi_p = 1 - m_g/(C_g V_{pack})$   $\varphi_p = 1 - m_g/(C_g V_{pack})$ . For both 2 mm and 1 mm grains we found  $\varphi_p = 0.38$ .

### Foam production and filling of the porous medium

The setup we used allows to control liquid foams in terms of bubble size (monodisperse) and liquid volume fraction: a flow of nitrogen was pushed to one inlet of a small T-junction, while a flow of foaming solution was pushed to the other inlet, producing bubbles at the outlet. The resulting bubbles were collected in a vertical glass column where a camera placed at the wall of the column allowed to measure their size thanks to prior calibration. Here we produced



bubbles with diameter  $D_b = 500\mu\text{m}$  [1]. In order to impose the liquid fraction of the foam when discharged from the column, it was necessary to control the drainage of the foam during its stay in the column. The simplest way to achieve this was to fix the position of the separation interface between the foam, of height  $h$ , and the liquid in the column, by evacuating from the bottom of the column the excess liquid introduced with the bubbles from the generator. The liquid volume fraction of the discharged foam was measured by weighting the mass of the liquid contained into a known foam volume. With our setup, for a gas flow rate equal to  $Q = 10\text{mL}/\text{min}$ , the foam liquid fraction  $\varepsilon$  was measured to vary as [1]  $\varepsilon \approx 0.0026h^{-0.90}$ , within the range  $\varepsilon \approx 1\text{--}8\%$ . In order to vary this parameter over a larger range, i.e. 1-30%, we added liquid at flow rate  $q_a$  directly into the discharged foam, right before the entry in the porous column, where the target liquid fraction can be estimated by volume conservation [1]:  $\varepsilon \approx (q_a + 0.0026Qh^{-0.90})/(q_a + Q)$ .

The intrinsic liquid permeability  $k_{f0}$  of the monodisperse foam was measured thanks to the so-called *forced drainage method* (see [1] for more details). The results are well described by the following expression:

$$\tilde{k}_{f0}(\varepsilon) = \frac{k_{f0}(\varepsilon)}{D_b^2} = \frac{\varepsilon_f^{3/2}}{\beta_0(1-2.7\varepsilon+2.2\varepsilon^2)^2} \quad (1)$$

with  $\beta_0 = 1250$ . This equation characterizes fully the hydraulic behaviour of the monodisperse bulk foam.

The produced foam was continuously introduced into the porous column to fill it. We monitored the foam at the exit of the column until we found the monodisperse foam introduced. Therefore, at that stage, the size (volume) of the bubbles inside the bead packing is the one we have prepared in the foaming column. It may be necessary to circulate foam for a few minutes before the stability described above was observed. As preliminary tests, after the described non-stationary phase, we measured the liquid fraction of the foam contained into the porous column by comparison of the mass of the foam-filled porous column with the one of the initially dry porous column. All the measurements were found to be within the error bar (i.e. 5%) of the liquid fraction measured at the entry of the porous column, which means that the target liquid fraction was reached. For such a system, gas compressibility effects can be reasonably ignored [1]. At this stage, the grain packing is filled with bubbles of size  $D_b = 500\mu\text{m}$  and the liquid saturation is  $S_w = \varepsilon$ , with  $\Delta S_w/S_w \leq \pm 20\%$ .

### Permeability measurement

We used the so-called *Falling head permeability method*. It consists in imposing a liquid height at the top of the granular/foam column and in following the liquid flow through the column, which is open at the bottom, in the situation where the bubbles are not carried away by the flow. For the packings studied here the bubbles were immobilized by the grains and drainage did not occur or only very little. To perform our measurements, the height  $H$  of the granular column was chosen to be equal to 64 mm in order to decrease the duration of the experiment. The initial liquid fraction was assimilated to the liquid fraction  $\varepsilon$  of the foam used to fill the packing and there was no appreciable liquid flow in the absence of any pressure gradient applied to the column. Then a tube was placed above the column, as shown in Figure 3, and a volume  $v_t$  of

surfactant solution was introduced into the tube using a syringe pump. The pressure imposed by the height  $z$  of the liquid in the tube allows the liquid to flow into the foam, through the granular packing. The kinetics of this flow was followed by measuring  $z$  as a function of time. In this configuration, the liquid flow rate  $q$  entering the packing depended on the cross-sectional area  $s_t$  of the tube and the variation of height  $z$  with time:  $q = -s_t dz/dt$ . Darcy's law allows us to relate the flow rate  $q$  of the liquid to the permeability  $k_D$  of the medium, i.e. the permeability of the grains + bubbles, assuming that only the liquid is flowing:

$$-\frac{s_t}{S} \frac{dz}{dt} = \frac{k_D}{\eta} \frac{\rho g(z+H)}{H} \quad (2)$$

The resolution of this equation provides the temporal evolution of the altitude  $z$  as a function of the permeability

$$\frac{z+H}{z_0+H} = \exp\left(-\frac{S}{s_t} \frac{k_D}{\eta} \frac{\rho g}{H} t\right) \quad (3)$$

Such a measurement was performed every  $\Delta t \approx 150\text{--}300\text{s}$ , which allowed to get the  $k_D$  values as a function of time. Typical examples are shown in Figure 1.

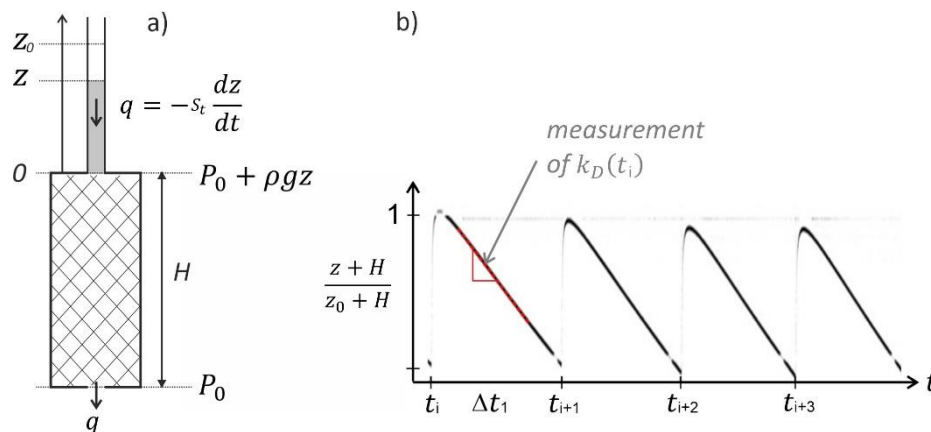


Figure 1. Falling head permeability method. (a) The liquid height is measured in the tube at the top of the granular/foam column which allows the liquid flow through the column to be determined, in the situation where the bubbles are not carried away by the flow. Liquid is introduced again after a duration  $\Delta t \approx 150\text{--}300\text{s}$ . This make the liquid height to oscillate in the tube (see b). (b). Oscillations of the liquid height in the tube at the top of the sample column. For each decrease of the liquid height, the slope allows of the Darcy liquid permeability to be determined.

### Bubble size measurement

In order to determine the bubble size we used images of the column wall, such as those shown in Figure 2. We identified a reference area  $A_T$  at the wall (the size of the image shown in Figure 2) and we counted the number  $N$  of bubbles it contained. The average bubble diameter was estimated as follows:

$$\langle D_b \rangle = \xi \left( \frac{4A_T}{\pi N} \right)^{1/2} \quad (4)$$

where  $\xi = 0.9$  is a calibration coefficient accounting for the bubble shape at the wall. This coefficient was determined by comparing the initial bubble size, i.e.  $D_b = 500\mu\text{m}$  with  $(4A_T/\pi N)^{\frac{1}{2}}$ . Because bubbles grow, this coefficient may change in the same time. In order to estimate this possible variation, we consider the typical bubble configuration we often observe at the end of the coarsening process (see Figure 2c). The area covered by the bubble at the wall is  $A_i = \frac{\sqrt{3}}{4}D_g^2$ , so the bubble diameter deduced from the surface is  $D_b^{(A_i)} = \left(\frac{4A_i}{\pi}\right)^{\frac{1}{2}} = \left(\frac{\sqrt{3}}{\pi}\right)^{\frac{1}{2}} D_g$ . Now we consider the true volume of the bubble occupying the pore:  $V_i = \left(\sqrt{3} - \frac{\pi}{3}\right)\frac{D_g^3}{8}$ , so the bubble diameter deduced from this volume is  $D_b^{(V_i)} = \left(\frac{3}{4\pi}\left(\sqrt{3} - \frac{\pi}{3}\right)\right)^{\frac{1}{3}} D_g$ . The coefficient we are looking for is  $\xi = D_b^{(V_i)}/D_b^{(A_i)} \approx 0.74$ . This value, which accounts for the bubble shape in the final configuration (coarsened configuration), is not so different from that determined experimentally in the initial configuration, so we will always use the same value thereafter, i.e.  $\xi = 0.9$ . Note that in this paper the average bubble size  $\langle D_b(t) \rangle$  is simply denoted  $D_b(t)$ .

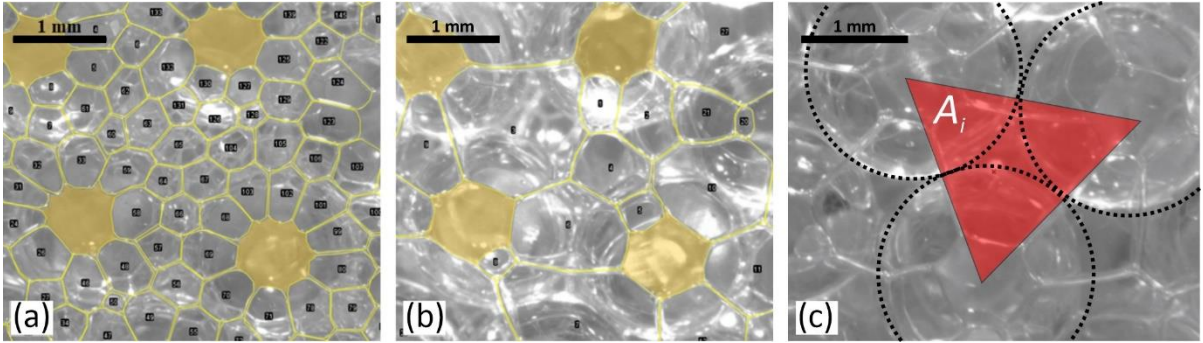


Figure 2. Foam bubbles as seen at the wall. (a) and (b) For clarity the outline of the area covered by each bubble is highlighted, and the area covered by the liquid bridges, around the contact points between the grains and the wall, is colored. (c) Area  $A_i$  covered at the wall by a large bubble in a pore formed between three grains at the wall. The outline of the grains is highlighted by dotted circles.

### III. RESULTS

In the following we present our results for both the liquid relative permeability of the foam-filled samples and the bubble size as a function of time.

#### Time evolution of liquid relative permeability

Results for both 2mm and 1mm grain packings are presented in Figure 3a&b for several liquid saturations  $S_w$ . We stress that the initial bubble size  $D_b(0)$  is equal to  $500\mu\text{m}$  for all the samples. As a first comment, the measured relative permeabilities are within the range  $5 \cdot 10^{-6}$  -  $5 \cdot 10^{-5}$ , which is two orders of magnitude smaller than values reported in previous studies, e.g. [7, 11]. This is due to the fact that we are studying systems containing

much more gas phase than previous studies. It is shown that whatever the grain size and liquid saturation, liquid relative permeability  $k_l(t)$  always increases in the same way as a function of time: a relatively large increase followed by a smaller increase or a plateau. The characteristic duration for such an evolution is on the order of several thousand seconds. Therefore, foam-filled porous media exhibit ageing at constant liquid saturation, which seems to us to be a new element in this field of research.

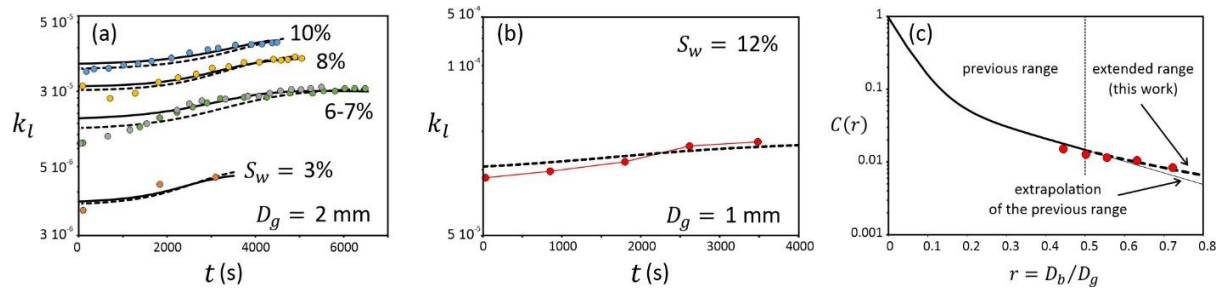


Figure 3. (a) Liquid relative permeability as a function of time for 2mm grain packings and for several values of the liquid saturation  $S_w$  as indicated. Symbols: experimental data. Solid line: equation 6 combined with equation 8 and equation 7. Dotted lines: equation 6 combined with equation 8 and equation 7 extended for  $r > 0.5$  by the dotted line shown in (c). (b) Liquid relative permeability as a function of time for 1 mm grains. Symbols: experimental data. Dotted line: equation 6 combined with equation 8 and equation 7 extended for  $r > 0.5$  by the dotted line shown in (c). (c)  $C(r)$  function given by equation 7 for  $r \leq 0.5$ . For  $r > 0.5$  the solid line corresponds to values extrapolated from equation 7; the dotted line describes our experimental data presented in (b).

### Time evolution of the bubble size

The time evolutions for the bubble sizes measured at the wall of the column are presented in Figure 4a-e. The bubbles are shown to grow as a function of time, starting from initial monodisperse size  $D_b(0) \approx 0.5$  mm and reaching up to  $D_b(t) \approx 1.3$  mm in some cases. At that stage it is relevant to mention that bubble coarsening in model quasi-2D porous media [14, 15] have revealed the so-called *anti-coarsening* phenomenon, where bubbles stop coarsening as their size reaches the pore size. By considering such a final bubble configuration at the wall (see Figure 2c), the bubble diameter is  $D_b = 0.55 \times \frac{0.9}{0.74} D_g = 0.66 D_g$  (see section Materials and Methods for more details about these coefficients). Therefore, we do not expect to observe a stop in coarsening for reported  $D_b$  values significantly smaller than  $\approx 0.66$  mm for the 1 mm grains, and  $\approx 1.2$  mm for the 2 mm grains. This is consistent with data shown in Figure 4.

It is clear that the characteristic time over which bubble growth occurs is comparable to that describing the permeability increase reported in the previous paragraph, which indicated that both phenomena are intimately related. As we will need to describe those evolutions with functional forms, we used sigmoid functions corresponding to equation 8 with parameters given in Table 1.

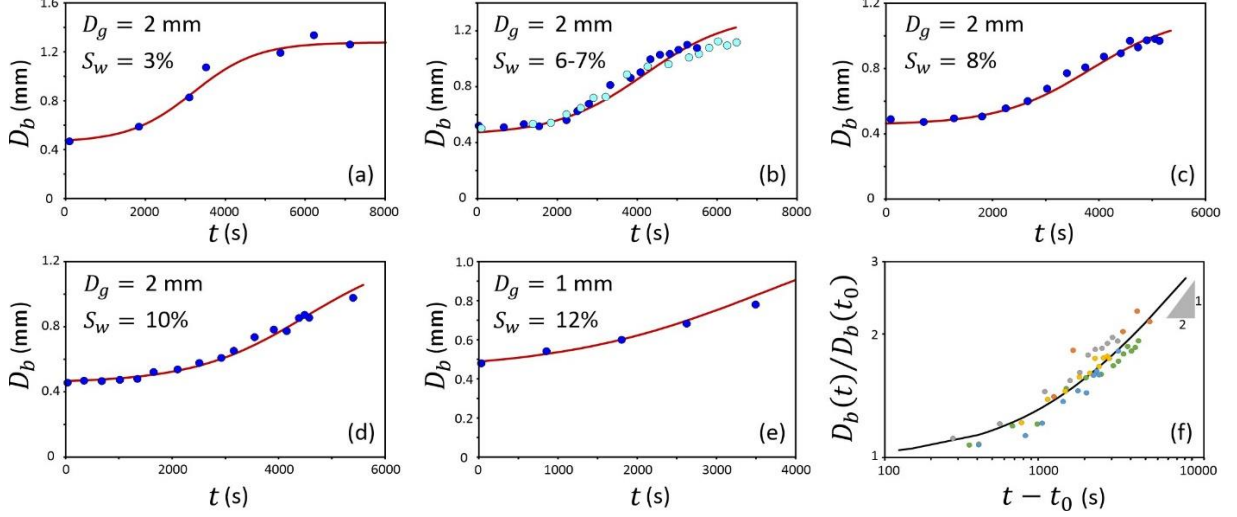


Figure 4. Bubble sizes measured at the wall of our sample column as a function of time (sample age). (a) to (d): 2 mm grains and several values of the liquid saturation as indicated. (e) 1 mm grains. Symbols: experimental data. Solid lines: Sigmoid curves (equation 8) with parameters given in Table 1. (f) Ratio of bubble size at age  $t$  and at age  $t_0 \approx 2000$ s as a function of  $(t - t_0)$  in log-log scales for all the samples (symbols). The grey triangle indicates the slope  $1/2$  in the log-log scale. The solid line corresponds to equation 5 with  $\Omega = 200 \mu\text{m}^2/\text{s}$

#### IV. DISCUSSION

The main objective of this section is to quantitatively explain the increase in permeability measured over time for the foam-filled samples. This increase is expected to be related to foam ageing, i.e. the increase of the bubble size as a function of time. First of all we compare the coarsening rate of the foam confined in the pore space with values available in the literature. Foam coarsening, or ripening, is known to be characterized by bubble growth regime that can be expressed as follows:

$$\frac{D_b(t)}{D_b(t_0)} = \left(1 + \frac{\Omega}{D_b^2(t_0)}(t - t_0)\right)^{1/2} \quad (5)$$

where  $\Omega$  is the coarsening rate and  $t_0$  is the time corresponding to the start of this regime [16, 17]. Note that equation 5 is similar to a power law with exponent  $1/2$  for  $(t - t_0) \gg D_b^2(t_0)/\Omega$ .  $\Omega$  depends on the liquid-gas surface tension, the gas diffusion coefficient in the liquid, the Henry solubility coefficient of the gas in the liquid, the gas molar volume, the foam liquid fraction and the foam film thickness. From a monodisperse bubble size distribution as we have, there is an initial (transitional) regime which must be completed before entering the ripening regime described above. From our data it seems that  $t_0 \approx 2000$ s for all the samples. Therefore, we plot equation 5 against our data  $D_b(t)/D_b(t_0)$  as a function of  $t - t_0$  in Figure 4f. The bubble growth can be reasonably described by equation 5 taking coarsening rates  $\Omega$  within the range  $150\text{-}250 \mu\text{m}^2/\text{s}$ , depending on the liquid fraction. The curve presented in Figure

4f represents the average value  $\Omega = 200\mu m^2/s$ . This range of values is consistent with literature, although the differences in coarsening rate for the different liquid saturations (foam liquid fractions) appear to be slightly smaller than expected for bulk foam (i.e. not confined in the pore space) [16, 17]. For example, a factor larger than 2 is expected between coarsening rates at 12% and 3% [18]. The understanding of this discrepancy is well beyond the scope of this paper, but there is undoubtedly work to be done as the literature currently provides too little quantitative information on this subject [19].

From now, we will try to use the results for the observed bubble growth to account for the increase of the liquid permeability. We refer to our previous work [1] where it has been shown that the liquid relative permeability can be related to the bubble-to-grain size ratio,  $r$ , the intrinsic dimensionless foam permeability at liquid fraction  $\varepsilon$ ,  $\tilde{k}_{f0}(\varepsilon)$ , and the foam permeability reduction due to confinement in the pore space, described by the coefficient  $C(r)$ :

$$k_l = \frac{k_D(S_w)}{k_D(S_w=1)} = 180 \left( \frac{1-\phi_p}{\phi_p} \right)^2 r^2 C(r) \tilde{k}_{f0}(\varepsilon) \quad (6)$$

The dependence proposed in [1] for the coefficient  $C$  with the bubble-to-grain size ratio can be conveniently described by the following double exponential function:

$$C(r) = A \exp\left(\frac{-r}{a}\right) + B \exp\left(\frac{-r}{b}\right) \quad (7)$$

with  $A = 0.92$ ,  $a = 0.045$ ,  $B = 0.08$  and  $b = 0.28$ . It is to say that the range of values for  $r$  is  $r \leq 0.5$ . As larger  $r$  values were reached during the present experiments, we will first assume that the function eq.7 can be extrapolated up to  $r \approx 0.6$ .

In order to compare our experimental results with predictions from eq. 6, we need to determine the time evolution  $r(t)$  from our data  $D_b(t)$  presented in Figure 4. It is convenient to describe this evolution by using sigmoid functions (see Figure 4), and the time evolution for the bubble-to-grain size ratio is well described by:

$$r(t) = r(0) \left( s_1 + \frac{s_2}{1 + \exp\left(\frac{s_3 - t}{s_4}\right)} \right) \quad (8)$$

with  $t$  in s. Coefficients  $s_1$  to  $s_4$  are reported in Table 1. By combining eqs. 6, 7 and 8 values for  $k_l$  can be plotted against experimental data in Figure 3a for the 2 mm grains. Please note that in order to make the comparison as accurate as possible, we have allowed a slight variation of the parameter  $S_w$ , but this variation is always less than the relative error in the announced values for  $S_w$ . The global agreement is reasonable in terms of the amplitude of the variation and the shape of the curve describing this evolution. Data corresponding to  $S_w = 6-7\%$  are less well described than the other samples. We do not have clear explanation to give for such a behaviour. This undoubtedly highlights the difficulties of perfectly controlling all the aspects involved in

this type of measure. It was not possible to compare directly the results for the 1 mm grains (Figure 3b) because the range of  $r$  values for that sample far exceeds that of equation 7. We therefore made something different instead: we deduced  $C(r)$  by comparing experimental values for  $k_l$  and equation 6. The resulting  $C(r)$  values are plotted in Figure 3c in addition to the values provided by equation 7. We can see that these values decrease less quickly than the curve corresponding to equation 7 extrapolated over this range of  $r$  values. Corresponding permeability values are now plotted in Figure 3b, showing good agreement. We do the same with data corresponding to the 2 mm grains, for which the largest  $r$  values also exceed the range defined for equation 7: in each case, in terms of amplitude, the agreement is better using the values provided by the 1 mm grains within the extended range of  $r$  values (dotted line in Figure 3c).

## V. CONCLUSION

We have measured as a function of time the liquid relative permeability of grain packings initially filled with liquid foam for different values of the liquid saturation. For all the samples this parameter is shown to increase as a function of time until a constant value is eventually observed, which highlights significant ageing of such systems. We demonstrate that this evolution is directly related to the coarsening of the liquid foam confined in the pore space. Using the measured bubble size evolution we show that the relative liquid permeability can be reasonably described from both the intrinsic liquid permeability of the foam and the confinement-induced permeability reduction coefficient proposed by Ceccaldi et al [1], which is based on the bubble-to-grain size ratio. With our data we extended the range of validity of this coefficient, which now allows a very wide range of size ratios to be covered, and which can be useful for many applications using liquid foam in porous media. In the light of these results, in order to be more predictive in the evolution of the permeability of porous media saturated with liquid foam, it seems important to study more precisely the coarsening characteristics of confined liquid foams.

System	$D_g$ (mm)	$S_w$ (%)	$s_1$	$s_2$	$s_3$	$s_4$ (s)
(a)	2	3	0.96	1.7	4.0	800
(b)	2	6-7	0.95	1.8	3.8	1100
(c)	2	8	0.95	1.4	4.5	850
(d)	2	10	0.95	1.7	4.3	1050
(e)	1	12	0.92	1.7	2.8	1300

Table 1. Parameters ( $s_1$ ,  $s_2$ ,  $s_3$  and  $s_4$ ) used in equation 4 to describe the bubble size time evolution presented in Figure 4 for systems (a) to (e).



## References

- [1] Ceccaldi, M. *et al.* Liquid relative permeability through foam-filled porous media: Experiments. *PHYSICAL REVIEW FLUIDS* 8, 024302 (2023).
- [2] Stevenson, P. (ed.) *Foam Engineering Fundamentals and Applications* (John Wiley & Sons, Ltd, 2012).
- [3] Rossen, W. R. *Foams in enhanced oil recovery, in Foams: Theory, Measurements and Applications* (Routledge, 1996).
- [4] Hirasaki, G. J., Miller, C. A., Szafranski, R., Lawson, J. B. & Akiya, N. Surfactant/foam process for aquifer remediation. *Proc. - SPE Int. Symp. on Oil field Chem.* 471–480, DOI: [10.2118/37257-MS](https://doi.org/10.2118/37257-MS) (1997).
- [5] Abdelgawad, K. Z., Adebayo, A. R., Isah, A. & Muhammed, N. S. A literature review of strength and stability of foam and their relationship with the absolute permeability of porous media. *J. Petroleum Sci. Eng.* 211, 110195, DOI: [10.1016/j.petrol.2022.110195](https://doi.org/10.1016/j.petrol.2022.110195) (2022).
- [6] Bernard, G. G., Holm, L. W. & Jacobs, W. L. Effect of foam on trapped gas saturation and on permeability of porous media to water. *Soc. Petroleum Eng. J.* 471–480 (1965).
- [7] Eftekhari, A. A. & Farajzadeh, R. Effect of foam on liquid phase mobility in porous media. *Sci. Reports* 7, 43870 (2017).
- [8] Holm, L. W. The mechanisms of gas and liquid flow through porous media in the presence of foam. *Soc. Petr. Enu. J* 8, 359–369 (1968).
- [9] Huh, D. G. & Handy, L. L. Comparison of steady- and unsteady-state flow of gas and foaming solution in porous media. *SPE Reserv. Eng.* 4, 77–84 (1989).
- [10] De Vries, A. & Wit, K. Rheology of gas/water foam in the quality range relevant to steam foam. *SPE Reserv. Eng.* 5, 185–192 (1990).
- [11] Persoff, C. P. K. B. S. W. P., P. and Radke. A laboratory investigation of foam flow in sandstone at elevated pressure. *SPE Reserv. Eng.* 6, 365–372 (1991).
- [12] Arra, M. G., Skauge, A., Solbakken, J. & Ormehaug, P. A. Properties of n<sub>2</sub> and co<sub>2</sub> foams as a function of pressure. *J. Pet. Sci. Eng.* 116, 72–80 (2014).
- [13] Boeije, C. S. & Rossen, W. R. Fitting foam-simulation-model parameters to data: I. coinjection of gas and liquid. *SPE Reserv. Eval. Eng.* 18, 264–272 (2015).
- [14] Xu, K., Bonnecaze, R. & Balhoff, M. Egalitarianism among bubbles in porous media: An ostwald ripening derived anticoarsening phenomenon. *Phys. Rev. Lett.* 119, 264502 (2017).
- [15] Jones, S., Getrouw, N. & Vincent-Bonnieu, S. Foam flow in a model porous medium: I. the effect of foam coarsening. *Soft Matter* 14, 3490–3496 (2018).
- [16] Cantat, I. *et al.* *Foams: structure and dynamics* (OUP Oxford, 2013).
- [17] Pitois, O. Foam ripening. In Stevenson, P. (ed.) *Foam Engineering*, chap. 4, 59–73 (Wiley-Blackwell, Chichester, 2012).
- [18] Pasquet, M. *et al.* Coarsening transitions of wet liquid foams under microgravity conditions. *Soft Matter* (2023).
- [19] Yu, W. & Kanj, M. Review of foam stability in porous media: The effect of coarsening. *J. Petroleum Sci. Eng.* 208, 109698 (2022).



## **Acknowledgement**

The authors gratefully acknowledge funding from the Labex MMCD provided by the national program Investments for the Future of the French National Research Agency (ANR-11-LABX-022), and co-funding from the European Space Agency (reference I-2020-02017).

## **Author contributions statement**

O.P., V.L. and M.C. contributed to the preparation of the experiment. M.C. did the measurements. O.P., V.L. and M.C. contributed to the analysis of the results. All the authors participated in the discussions and writing of the manuscript.

## **Additional information**

**Competing interests** There are no conflicts to declare.

### 4.3. Daisy-shaped liquid bridges in foam-filled porous media

Olivier Pitois<sup>1</sup>, Ali Salamé<sup>1</sup>, Yacine Khidas<sup>1</sup>, Margaux Ceccaldi<sup>1</sup>, Vincent Langlois<sup>1</sup>, Sébastien Vincent-Bonnieu<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Navier, Université Gustave Eiffel, France

<sup>2</sup> European Space Agency, Keplerlaan 1, 2200AG Noordwijk, The Netherlands

Abstract:

Many applications of liquid foams use them to fill the porosity of various media, such as soil remediation and CO<sub>2</sub> sequestration. Interest in these systems has generally focused on the flow properties offered by the confined foam, and in fact very little on aspects related to the distribution of the liquid in the porosity. We show that foam-filled granular packings exhibit a robust pendular-like regime that is reminiscent of the well-known pendular regime in unsaturated granular media, where liquid bridges are formed at contacts between the grains. However, in this case, the liquid bridges are daisy-shaped, i.e. with a liquid core bounded by bubbly petals. Thanks to both dedicated experiments and simple modeling we show that, depending on the bubble-to-grain size ratio, the volume of liquid involved into these bridges can represent almost 25% of the total liquid content. A drastic difference with classical unsaturated media is that the funicular regime was not observed for water saturation larger than 10%. Surface Evolver simulations are carried out at the scale of a single tetrahedral pore and results give more information about the daisy-shaped liquid bridges for large bubble-to-grain size ratio.

#### 1. Introduction

Liquid foams are used in various applications [1]. In the context of soil remediation [2] or oil extraction [3], foam rheology is useful to mitigate effects due to permeability contrast within the soil layers. Previous studies have therefore focused on the flow properties [4] and liquid/gas relative permeabilities provided by the confined foam [5,6]. On the other hand, very few studies have been interested in the liquid or gas distribution in foam-filled porous media, except in quasi-2D micromodel experiments [7–9], which were mainly focused on Ostwald ripening of the bubble assembly. In contrast, liquid distribution in unsaturated granular piles has been extensively studied in relation with induced capillary cohesion [10,11]. It was shown in particular that at small water content (i.e. less than 10% of the pore volume), significant mechanical stability can be found due to the formation of numerous small water bridges at the contacts between grains [12–14], which is known as the *pendular* regime. With the increase in water content, the water bridges coalesce to form clusters as the so-called *funicular* regime is reached. Such capillary phenomena were also identified in the so-called capillary suspensions [15]. What about foam-filled pile? The question arises because it can be considered both as an unsaturated system (liquid and gas present in the porosity) and as a saturated system, if we

consider the foam as a unique complex fluid folding the whole porosity. However, in bulk liquid foam, the distribution of the liquid is governed by the capillary pressure of the foam. How is this balance counteracted by the geometry of the pore network? As with the unsaturated granular medium, can we observe the reminiscence of the *pendular* and *funicular* regimes? Our aim is to study how the liquid is distributed in a pile filled with liquid foam, as a function of liquid content and bubble-to-grain size ratio, which is here a new parameter with respect to the classical unsaturated system. In the following we present the studied experimental system as well as the dedicated numerical tool to study the geometry of confined bubbles at large bubble-to-grain size ratio. Then we present our results and discuss them in the light of a simple model to describe the distribution of the liquid.

## 2. Materials and Methods

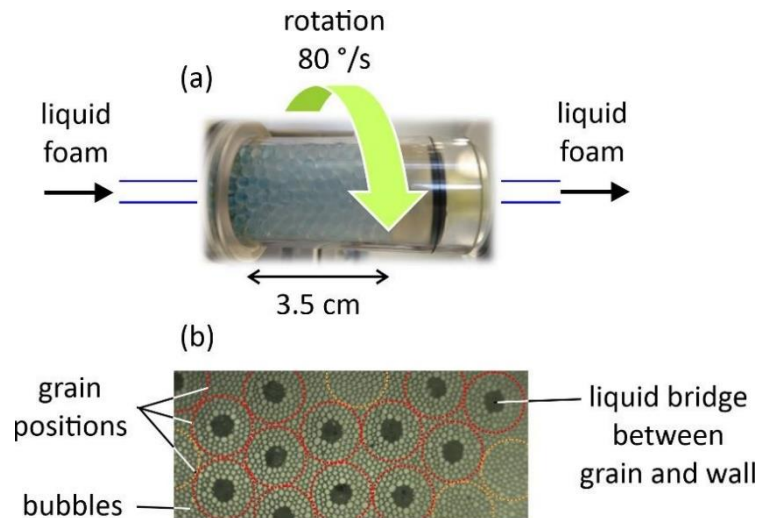
### 2.1. Foaming solution

AlkylPolyGlucosides (Glucopon® 225DK from BASF) are used at 10 g/L in water. It is an anionic surfactant of average molar mass 420 g/mol and its purity is 70%. The Critical Micelle Concentration (CMC) is about 2 g/L.

### 2.2. Foam production and filling of the porous medium

We use the device already implemented in [16–19]. It allows to deliver foam with chosen monodisperse bubble radius  $R_b \pm \Delta R_b$  (with  $\Delta R_b/R_b \approx 3\%$ ), ranging from 100 to 350  $\mu\text{m}$ , and chosen liquid volume fraction. The resulting foam continuously fills a porous column made by packing monodisperse grains (glass beads) of radius  $R_g \pm \Delta R_g$  (with  $\Delta R_g/R_g \approx 5\%$ ) ranging from 1 mm to 2.5 mm, into a cylindrical glass tube of inner diameter 26 mm. The porosity  $\phi_p$  of the resulting packing was measured to vary between 0.38 (larger grains) and 0.43 (smaller grains) due to wall effects with the column. We introduce the size ratio  $r = R_b/R_g$ .

The column is allowed to turn around its axis of symmetry thanks to fixing to a rotation stage. The rotation speed was set to 80°/s which was found to be sufficient to counteract gravity drainage for our systems (visual inspection).



*Figure 1: Setup used to study foam-filled bead packings. (a) Image of the rotating cell. During the filling step foam is flowing through it. After filling, both column ends are closed and pictures are taken at the column wall. (b) Resulting image taken as liquid foam fills the granular column. The grains cannot be seen because they are hidden by the bubbles, but black spots corresponding to liquid bridges are observed at contact between the grains and the wall. To help the reader, the expected positions of the grains close to the wall are highlighted in red (or in orange if there is no contact and no liquid bridge)*

We monitored the foam at the exit of the column until we found the monodisperse foam introduced. It was necessary to circulate foam for a few minutes before the stability described above was observed. After the non-stationary phase, we measured the liquid fraction  $S_w$  contained into the porosity of the granular packing from both the mass of the foam-filled porous column, the mass of the initially dry porous column and the porosity of the granular packing deduced from the mass of grains and their density. This was done as a checking test for a few samples. All the measurements were found to be within the error bar (i.e. 5%) for the liquid fraction measured at the entry of the porous column, which means that the target liquid fraction is reached, i.e.  $S_w \approx \varepsilon$ . Note that because of gas compressibility, one could expect some deviation with respect to the latter estimation. However, while moderate driving pressure is required to fill the short column, the foam pressure can be released through both column's ends after the arrest of the flow.

The rotation of the column is controlled in such a way that it stops for 1s at a chosen rotation angle and then resumes its rotational movement. A camera fixed above the column allows to capture images of the sample at the wall surface during the stop. In order to increase the light contrast between liquid and gas at wall, we stuck a right-angle prism (15x15x21.2mm) against the glass wall [20] of the column with Polydimethylsiloxane (sylgard 184 silicone elastomer kit). We got images like the one shown in Fig. 1, revealing large liquid spots at contacts between the grains and the wall. Using such images, we measured the liquid bridge size as a function of grain size  $R_g$ , bubble size  $R_b$  and liquid content  $S_w$ .

### 2.3 Surface Evolver

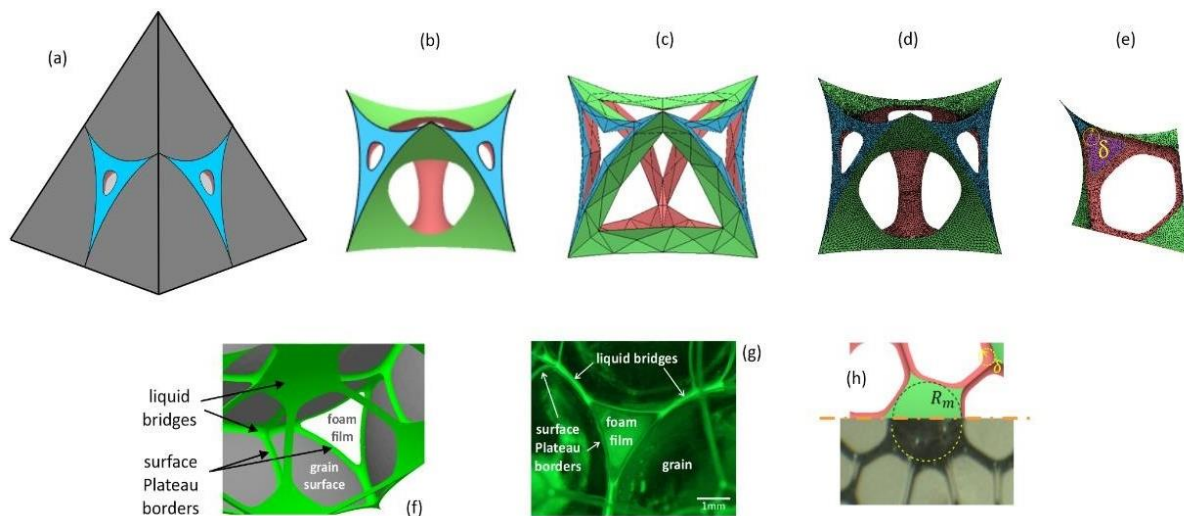
The Surface Evolver software [21] was used to get numerical data on our system. As a realistic simulation of the whole system studied experimentally was not feasible, we turned to a simplified configuration where only one gas bubble is trapped into a single tetrahedral pore formed between four contacting spherical grains of radius  $R_g$ . The tetrahedral pore as well as the trapped bubble are presented in Figure 2. According to this configuration, most of the pore volume  $v_p \approx 0.208 \times R_g^3$  is filled with gas, whereas the liquid is distributed into both Plateau borders in contact with the grain surface and liquid volumes around grains contacts. The liquid volume fraction  $S_w = v_\ell/v_p$  can be varied by changing the volume of liquid. As a result, the ratio between the bubble size  $R_b$  and the grain size  $R_g$  is given by  $r = R_b/R_g = (3 \times 0.208 \times (1 - S_w)/4\pi)^{1/3}$ . It is to say that the theoretical maximum size ratio is  $r_{max} \approx 0.367$  when  $S_w \rightarrow 0$ . The theoretical minimum size ratio is obtained when the bubble is small enough so that there are no more liquid films at the surface of the grains and the bubble shape is spherical. This configuration is reached when  $r_{min} = 0.225$  and the corresponding liquid volume fraction is  $S_w \approx 0.77$ .

We consider that the liquid is perfectly wetting the solid surface area  $A_s$ , so the total interfacial energy is:  $E_{tot} = \gamma A_{LG} + \gamma_{SL} A_s$  where  $\gamma$  is the liquid-gas surface tension – it is assigned the value  $\gamma = 1$ ,  $A_{LG}$  is the liquid-gas interface area,  $\gamma_{SL}$  is the solid-liquid surface tension. Note that as  $\gamma_{SL} A_s$  is a constant, the equilibrium geometry can be obtained by minimizing the area  $A_{LG}$ , regardless of the choice made for the value of  $\gamma_{SL}$ . In the following we choose  $\gamma_{SL} = -1$ , so the surface energy of the thin liquid films covering the grains is  $\gamma + \gamma_{SL} = 0$ , i.e. the wetting films do not need to be considered in the minimization process, which saves considerable computation time. Figure 2c shows the starting shape of the liquid volume from a mesh of triangles. Colors illustrate the different constraints: green facets are liquid-grains interfaces constrained on the sphere boundaries with a unit surface tension  $\gamma_{SL} = -1$ , red facets are free liquid-gas interfaces with  $\gamma = 1$  and blue facets are the inner liquid on the tetrahedron boundary (without any surface tension). The liquid films formed at the open areas of the tetrahedron boundary are not represented in Figure 2. Actually, these films are shared between two adjacent cells, so they are modeled in the studied cell by a single surface with the surface tension  $\gamma$ .

Surface Evolver iteratively minimizes the surface energy using the gradient descent method. Surfaces are progressively refined between these iterations to achieve the desired level of accuracy (Figure 2d). During minimization of the surface energy, the liquid body is constrained to a constant volume. A script allows us to progressively change the liquid volume and for each one to achieve the convergence criteria that we fixed after 10 minimization steps on the variation of both the energy ( $\Delta E_{tot} < 10^{-6}$ ) and the pressure ( $\frac{\Delta P}{P} < 10^{-6}$ ). In our convergence scheme, after a number of minimization steps, long edges of the triangulation are refined while short edges are removed from the mesh in order to keep a narrow distribution of

facet areas. A typical edge length of a converged mesh is roughly 0.015 in unit of sphere radius and the total number of facets is approximately  $3 \times 10^4 \pm 10\%$  depending on the liquid volume fraction.

When the convergence criteria are satisfied for each given liquid volume, our script allows to extract different quantities including the capillary pressure  $P_c$ , i.e. the pressure difference between the gas and the liquid phases.  $P_c$  is measured as a function of liquid volume fraction  $0.05 \leq S_w \leq 0.3$ . As explained above, changing  $S_w$  makes the size ratio to vary a little bit, i.e. within the range  $0.32 \leq r \leq 0.36$ .



*Figure 2: Surface Evolver simulations. (a) Tetrahedral cavity formed by four contacting spheres (each sphere has its center at a vertex of the tetrahedron) and trapping a single gas bubble. (b) Liquid and gas bubble trapped into the tetrahedral cavity. The bubble has four contacts against the spheres (holes in green areas) and four contacts against the tetrahedron walls (holes in blue areas). Colored areas correspond to the liquid phase. (c) Illustration of the initial cell mesh produced for the simulation. (d) Illustration of the final cell mesh. (e) Cutting of the cell showing the measured radius of curvature  $\delta$ . (f) Assembly of several cells to show the liquid bridges, the foam films and the surface Plateau border. (g) Picture of the foam-filled bead pack as the foam liquid content has been made as small as possible to see the liquid structure, and the bubble-to-grain size ratio is close to 0.5. This configuration compares well with the simulation – see f. (h) Illustration of the measurement of liquid bridge size (top: simulation, bottom: wall liquid bridge as observed in the experiment – see Figs 3b and 4a).*

### 3. Results and Discussion

First, we present in Figure 3 the results obtained for liquid bridge size  $R_{m,w}$  measured at the column wall, as shown in Figure 2h. Those sizes are shown to range from 300  $\mu\text{m}$  to

1200  $\mu\text{m}$ , depending on bubble size  $R_b$ , grain size  $R_g$  and liquid volume fraction  $S_w$ . More precisely,  $R_{m,w}$  increases with  $R_b$ ,  $R_g$  and  $S_w$ . The effect of  $S_w$  is clearly shown in Figure 3b, where both  $R_b$  and  $R_g$  are fixed.

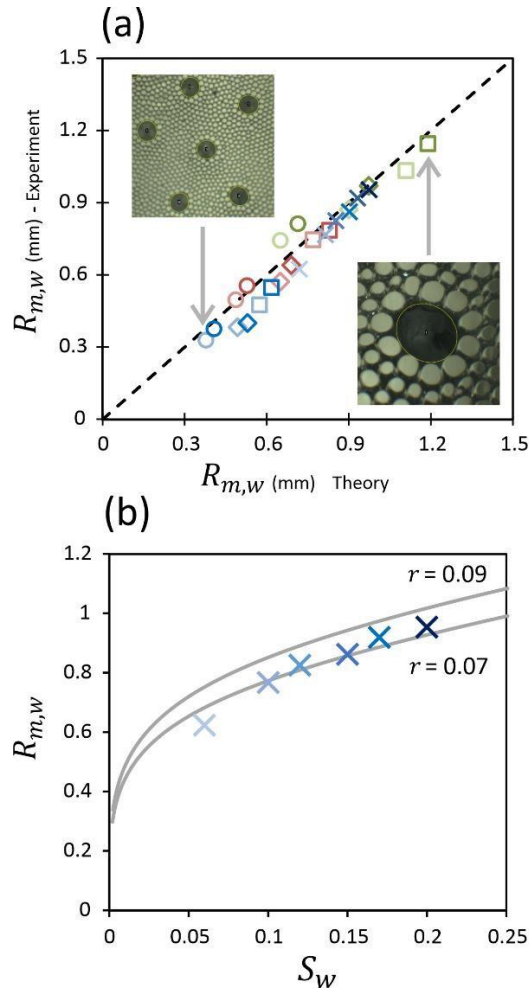


Figure 3: Measured radius  $R_{m,w}$  for liquid bridges at the wall. (a) Measured values as a function of predicted values (eq. 8). Symbols: (circles)  $R_b = 200\mu\text{m}$ , (diamonds)  $R_b = 400\mu\text{m}$ , (squares)  $R_b = 700\mu\text{m}$ , (crosses)  $R_b = 400\mu\text{m}$  and data correspond to those presented in (b) Colors: (blue)  $R_g = 2\text{ mm}$ , (red)  $R_g = 3\text{ mm}$ , (green)  $R_g = 5\text{ mm}$ . Color intensity: (low)  $S_w = 15\%$ , (high)  $S_w = 20\%$ . Images are shown for ( $R_b = 200\mu\text{m}$ ,  $R_g = 2\text{ mm}$ ) and ( $R_b = 700\mu\text{m}$ ,  $R_g = 5\text{ mm}$ ). (b) Measured values as a function of  $S_w$  for  $r \approx 0.08$  ( $R_b = 400\mu\text{m}$ ,  $R_g = 5\text{ mm}$ ). The two curves correspond to (eq. 8) with  $r = 0.07$  and  $r = 0.09$ .

In order to analyze these experimental results, we present below a calculation of the volume involved in the Daisy-shaped capillary bridges. Note that although we observe only the wall liquid bridges, we first focus on bulk liquid bridges, i.e. at contact between two grains, and then we will turn to wall liquid bridges for comparison with experiments.

The liquid volume is contained within the gap formed between the two contacting grain caps (of radius  $R_g$ ) and it is bounded by a layer of bubbles, which radial position is marked

with the so-called filling angle  $\beta$  (see Fig. 4b). It is assumed that the penetration of the bubbles into the contact area is limited by the minimum radius of curvature  $\delta$  set by the foam. The latter is usually used to define the cross-section geometry of the so-called Plateau borders (liquid channels), and it is also used to quantify the foam capillary pressure  $P_c$ , that is of the order of  $\gamma/\delta$  [22]. From Fig. 4b we deduce the geometrical relation between  $\delta$  and  $\beta$ :

$$\cos \beta = \frac{1}{1 + \delta/R_g} \quad (1)$$

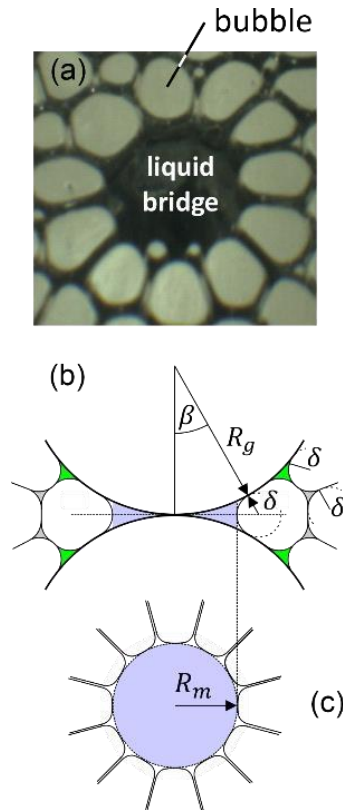


Figure 4: Geometry of a Daisy-shaped capillary bridge. (a) Liquid bridge as observed at the wall of the foam-filled granular column. The liquid appears in black and it is distributed at the contact between one grain (much larger in size than the liquid bridge) and the wall. (b) Geometric description (sectional drawing) of a Daisy-shaped capillary bridge between two spherical grains of radius  $R_g$ . As this bridge is formed by the foam bubbles around the contact area, the liquid contained into the bridge (in blue) is connected to the liquid contained in the pore foam (bulk Plateau borders, grey) and in foam contacting the grain surface away from the bridge (surface Plateau borders, green). Note that all those liquid volumes share the same radius of curvature  $\delta$ . (c) Definition of the liquid bridge radius  $R_m$ . Note that at wall, this radius is noted as  $R_{m,w}$ .

The corresponding volume of liquid can be conveniently approximated by a cylindrical meniscus of radius  $R_m = R_g(1 + \delta/R_g)\sin\beta - \delta$  (see Fig. 4b):  $v_m = \pi R_m^4 / 2R_g$  [23]. We introduce the dimensionless volume:



$$\tilde{v}_m = \frac{v_m}{2\pi R_g^3} = \frac{1}{4} \left( \frac{R_m}{R_g} \right)^4 \quad (2)$$

From eqs 1 and 2 it is clear that the ratio  $\delta/R_g$  is a crucial parameter to determine the volume of the liquid bridge. The length  $\delta$  can be expressed in terms of bubble size  $R_b$  and bulk foam liquid volume fraction  $\varepsilon_f$  [24]:

$$\frac{\delta}{R_b} = f(\varepsilon_f) = \frac{1}{2/\sqrt{3} - 1} \frac{0.27\sqrt{\varepsilon_f} + 3.17\varepsilon_f^{2.75}}{1 + 0.57\varepsilon_f^{0.27}} \quad (3)$$

Besides, the ratio  $\delta/R_g$  can be written as a function of the bubble-to-grain size ratio  $r$ :

$$\frac{\delta}{R_g} = \frac{\delta}{R_b} \frac{R_b}{R_g} = f(\varepsilon_f) \times r \quad (4)$$

At this stage, it is important to note that the function  $f(\varepsilon_f)$  should be used to describe bulk foam only. Here, as already explained, some amount of liquid is contained into the liquid bridges. Besides, due to confinement by the grains, surface Plateau borders (and their junctions) are formed at the surface of the grains where the films meet the grains. Surface Plateau borders are known to be significantly wider than the bulk Plateau borders [16].

We recall that the liquid content (also called liquid saturation)  $S_w$  is the total volume of liquid contained into the porosity divided by the volume of the porosity  $V_p$ . Let  $\psi_m$  be the total volume of liquid contained into all the liquid bridges divided by  $V_p$ :  $\psi_m = \sum_i v_{m,i}/V_p$ , and  $\varphi_s$  be the total volume of liquid contained into the surface Plateau borders (and their junctions) divided by  $V_p$ . Finally, it is considered that classical (i.e. bulk) foam with liquid fraction  $f$  is contained into the pores. These liquid contributions are related by the following relation:

$$S_w \approx \psi_m + \varphi_s + \varepsilon_f \quad (5)$$

Let us now estimate  $\psi_m$  by assuming that each grain is covered by  $C \approx 10$  liquid bridges. The number of bridges in the granular packing is  $n_b = Cn_g/2$ , where  $n_g$  is the number of grains contained in the packing, of volume  $V_p/\phi_p$ , i.e.  $n_g = 3(1 - \phi_p)V_p/(\phi_p 4\pi R_g^3)$ . Therefore, the liquid volume fraction corresponding to these liquid bridges is:

$$\psi_m = \frac{n_b v_m}{V_p} = \frac{3}{4} C \frac{1 - \phi_p}{\phi_p} \tilde{v}_m \quad (6)$$

The description of the detailed geometry of the Plateau borders formed at the surface of the spherical grains is a complex task, and actually a still open topic. Here we propose to approach this problem in a similar way to what we have just done for the liquid bridges: the surface area

of the grains is  $A_g = 3(1 - \phi_p)V_p/(\phi_p R_g)$ , the number of bubbles in contact with this surface is  $\sim A_g/R_b^2$  and the corresponding length of *surface* Plateau borders is  $\sim A_g/R_b$ . The volume of liquid involved into those *surface* Plateau borders is therefore  $\sim A_g\delta^2/R_b$  and the corresponding liquid volume fraction writes:

$$\varphi_s \approx 3\xi \frac{1 - \phi_p}{\phi_p} \frac{\delta^2}{R_g R_b} = 3\xi \frac{1 - \phi_p}{\phi_p} r f^2(\varepsilon_f) \quad (7)$$

Note that due to the lack of knowledge about this complex geometry we introduced the coefficient  $\xi$ . From both additional geometric considerations presented in Appendix 1 and comparison with experiments (see below),  $\xi$  was chosen to be constant and equal to 1.

In order to determine  $\psi_m$ ,  $\varphi_s$  and  $f$  as a function of  $r$  and  $S_w$ , we start to choose both  $r$  and  $S_w$ , then we deduce  $\delta/R_b$  from eq. 3 and  $\delta/R_g$  from eq. 4, finally eqs 1, 2, 5-7 provide values for  $\tilde{v}_m$ ,  $\psi_m$ ,  $\varphi_s$  and  $S_w$ , respectively. Results are presented in Figure 5. The parameter  $\delta/R_b$  is plotted as a function of  $S_w$  for several  $r$  values in Figure 5a. With respect to bulk (unconfined) foam,  $\delta/R_b$  is calculated to decrease strongly as a function of  $r$ . This means that for a given liquid fraction  $S_w$  in the sample, as  $r$  increases, more and more liquid is driven towards both the liquid bridges and the surface Plateau borders. Moreover, we found that the contributions  $\psi_m/S_w$ ,  $\varphi_s/S_w$  and  $f/S_w$  are only weakly dependent on  $S_w$  (i.e. the deviation is less than 5% over the full range of  $r$  values) so that single curves (corresponding to the average) could be considered to describe them (see Figure 5b). On a purely practical level it may be interesting to have approximate analytical expressions to describe these curves. We propose the following two expressions:  $\psi_m/S_w \approx 2r/3$  and  $f/S_w \approx \exp(-r/0.09) + 9.8r^3 - 8.9r^2 + 2.35r$ . Moreover, Figure 5c shows the volume fraction of liquid contained into the liquid bridges for several  $S_w$  values. It is important to stress that liquid bridges exist regardless of the value of  $S_w$ . For example, with liquid fraction as low as 5% in the porosity, liquid bridges could represent 1/5 of that liquid, i.e. 1% of the pore volume.

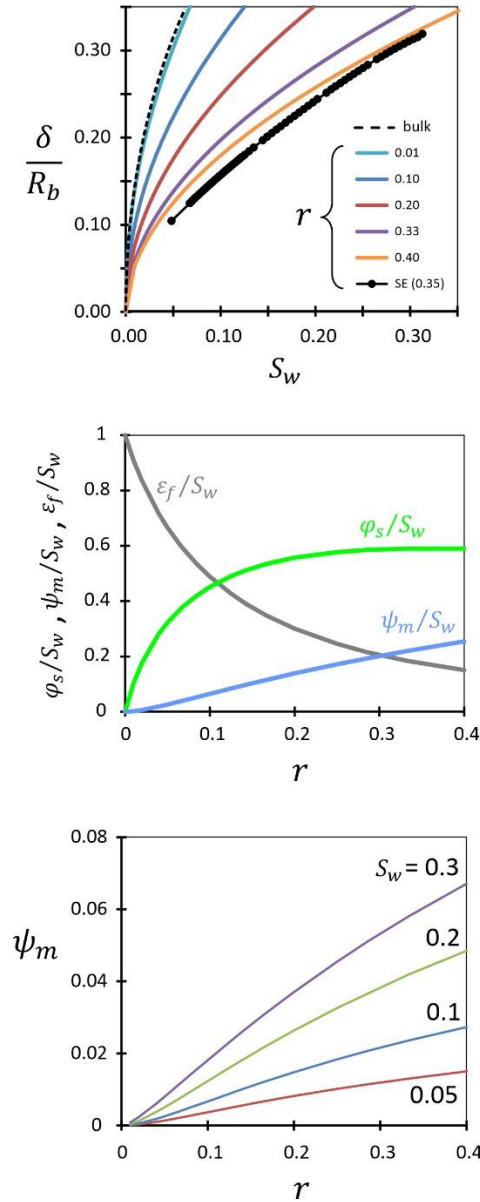


Figure 5: Calculation of the liquid distribution within the pore space of a granular packing. (a) Radius of curvature  $\delta$  as a function of liquid volume fraction  $S_w$  for several size ratios  $r$ . The reference curve (dotted line) correspond to bulk foam (unconfined) and it is given by eq. 3. The black circles correspond to data obtained by our numerical simulation ( $r \approx 0.35$ ). (b) Fractions of the liquid contained into the liquid bridges ( $\psi_m/S_w$ ), the surface Plateau borders ( $\varphi_s/S_w$ ) and the pore bulk foam ( $\epsilon_f/S_w$ ) as a function of the size ratio  $r$ . (c) Volume fraction occupied by the liquid bridges as a function of  $r$  for several  $S_w$  values.

Now we compare our predictions for the size of the liquid bridges with our experimental data. Note that wall bridges (those shown in Fig. 3a) are confined between one grain and the wall of the column, which can be reasonably approximated by a planar wall. For such bridges the filling angle is given by  $\cos\beta_w = (1 - \delta/R_g)/(1 + \delta/R_g)$  and the observed radius of the wall liquid bridge is:

$$R_{m,w} = R_g \left( 1 + \frac{\delta}{R_g} \right) \sin \beta_w \quad (8)$$

Calculated values are plotted against experimental data in Fig. 3. The agreement is reasonable in view of the simplicity of our model.

It is to say that several data points correspond to  $r$  values close 0.35, for which our model assumptions (in particular we consider that there is always bulk foam with liquid fraction  $f$  into the pores) are not fully justified. Actually, the  $r \approx 0.35$  configuration corresponds to one/two big bubbles into each pore, and it is actually the configuration we studied with our Surface Evolver simulations. As a first result we present in Figure 5a the radius of curvature  $\delta$  of the interfaces (see Figure 2c), deduced from the capillary pressure in the system:  $P_c \approx \gamma/\delta$ , showing that the decrease in the values of  $\delta/R_b$  as  $r$  increases is reasonably described by our previous calculations, even for such high  $r$  value, even if we observe an overestimation of our model compared to the simulation. We can pursue the comparison with our calculations by considering now the liquid bridge volume  $\tilde{v}_m = v_m/(2\pi R_g^3)$ , plotted in Figure 6. Numerical values for  $\tilde{v}_m$  are shown to increase almost linearly with  $S_w$ , i.e.  $\tilde{v}_m \approx 0.0146 \times S_w$ . Our calculations are shown here again to overestimate a little bit these values but they follow the same trend.

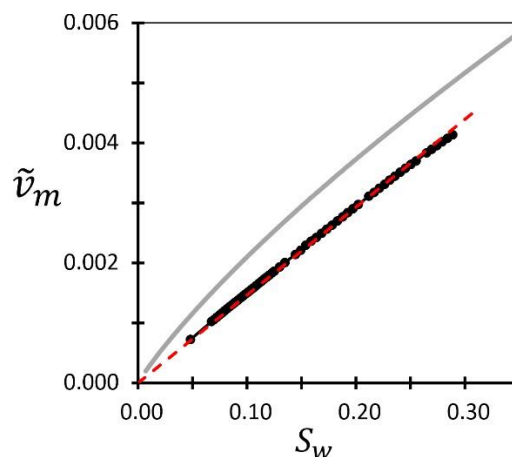


Figure 6: Results from Surface Evolver simulations based on the tetrahedra pore geometry. Dimensionless liquid bridge volume between two spherical grains as a function of liquid fraction. Black circles: simulations. Red dotted line: linear fit ( $\tilde{v}_m = 0.0146 \times S_w$ ). Continuous line: calculations (eq. 2) with  $r = 0.35$ .

#### 4. Conclusion

We prepared bead piles filled with liquid foam in a column. Due to size exclusion of the bubbles from contact areas between grains, liquid bridges are formed. This phenomenon is reminiscent of the pendular regime observed in unsaturated granular piles [12–14]. The main

difference comes from the fact that here the liquid bridges are daisy-shaped, i.e. a liquid core bounded by a bubbly corolla. Inspired by the geometry of classical liquid bridges, we have calculated the liquid bridge volume as a function of the water saturation in the porosity, the grain size and the bubble size. We show that the pendular-like regime in foam is very robust: liquid bridges can be observed for water saturation as small as 1%. Moreover, we show that the proportion of liquid contained into those bridges is approximately proportional to both water saturation and bubble-to-grain size ratio. For high size ratio this proportion can reach 25%, which can represent 2-6% of the pore volume. Experiments allowed to measure the spreading of liquid bridges formed at the column wall and our results agreed with our calculations. A drastic difference with classical unsaturated media is that here the funicular regime is prevented to occur.

The counterpart of the presence of these liquid bridges and the surface Plateau borders is that the liquid fraction of the foam filling the pores is lower than that of the same foam before its confinement in the pores. It is therefore legitimate to think that this liquid redistribution may have an influence on certain properties of these foam-filled grain piles, such as their hydraulic permeability or their mechanical stability. It would be worth looking into this effect in the future.

### Conflicts of interest

There are no conflicts to declare

### Acknowledgement:

We gratefully acknowledge funding from the Labex MMCD provided by the national program Investments for the Future of the French National Research Agency (ANR-11-LABX-022) and funding by the European Space Agency's Discovery programme.

### Appendix 1:

As explained in the main text, the description of the liquid repartition as surface Plateau borders and bulk pore Plateau borders is a complex task. Here we propose to approach this repartition from simple geometrical considerations.

We assume that bubbles covering the grain surface take a hexagonal arrangement. The length of Plateau border per bubble surface area (in contact) is approximately  $2\pi R_b / 2 \approx 3R_b$ . The number of surface bubbles per grain is  $\approx 4 \left(\frac{R_g}{R_b}\right)^2$  and the number of grains per pore volume is  $\approx \frac{1-\phi_p}{\phi_p} \frac{3}{4\pi R_g^3}$ . Therefore, the total surface Plateau border length per pore volume is

$$\mathcal{L}_{Pb,S} = \frac{9}{\pi} \frac{1-\phi_p}{\phi_p} \frac{1}{R_b R_g} \approx \frac{4.3 \times r}{R_b^2}.$$

We assume that the pores are filled with ideal Kelvin foam [22]. The number of Plateau borders per bubble is 12 and the length of each is  $\frac{1}{\sqrt{2}}\left(\frac{3}{\pi}\right)^{-1/3}R_b$ . The number of bubbles is  $\frac{V_{gaz}}{V_b} = \frac{3V_p}{4\pi R_b^3}$ , and the corresponding total length of Plateau borders per pore volume is  $\frac{9}{\sqrt{2}\pi}\left(\frac{\pi}{3}\right)^{\frac{1}{3}}\frac{1}{R_b^2}$ , from which the surface Plateau border length must be deducted. The actual length of bulk Plateau borders per pore volume is therefore expected to be  $\mathcal{L}_{Pb,B} = \frac{9}{\sqrt{2}\pi}\left(\frac{\pi}{3}\right)^{\frac{1}{3}}\frac{1}{R_b^2} - \frac{9}{\pi}\frac{1-\phi_p}{\phi_p}\frac{1}{R_b R_g} \approx \frac{2-4.3r}{R_b^2}$ .

Using, for both bulk and surface, the Plateau border cross-sectional area  $A_{Pb}$  and the total Plateau border length, the corresponding liquid volumes are obtained:  $V_{\ell,S} \approx A_{Pb,S}\mathcal{L}_{Pb,S}$  and  $V_{\ell,B} \approx A_{Pb,B}\mathcal{L}_{Pb,B}$ . The ratio  $A_{Pb,S}/A_{Pb,B}$  is equal to [16]:  $0.43/0.16 = 2.66$ . The ratio  $V_{\ell,S}/V_{\ell,B}$  is therefore equal to:

$$\frac{V_{\ell,S}}{V_{\ell,B}} \approx \frac{2.66}{\frac{0.46}{r} - 1} \quad (9)$$

With parameters introduced in section 3, this ratio also writes  $\varphi_s/\varepsilon_f$ , i.e.:

$$\frac{V_{\ell,S}}{V_{\ell,B}} \approx \frac{3\xi(1-\phi_p)r f^2(\varepsilon_f)}{\phi_p \varepsilon_f} \quad (10)$$

Comparison of equations 9 and 10 provides values for the coefficient  $\xi$  shown in figure 7. All the values calculated for  $r \geq 0.3$  are between 0.5 and 1.5.

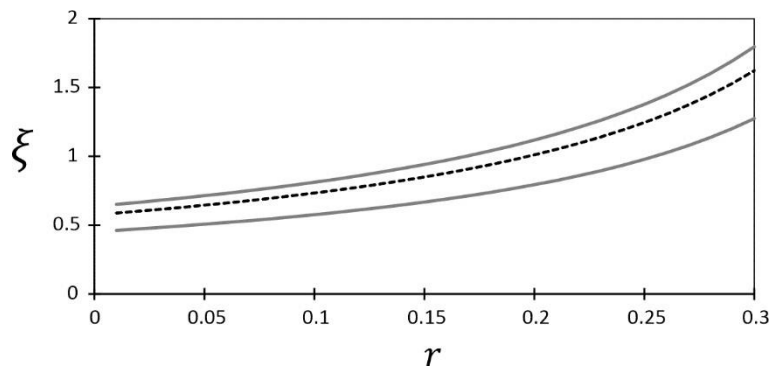


Figure 7: Values calculated for the coefficient  $\xi$  as a function of the size ratio  $r$ . Upper and lower continuous lines correspond to values calculated with  $\varepsilon_f = 0.05$  and  $\varepsilon_f = 0.20$  respectively. The dotted line corresponds to the average values over the range  $0.05 \leq \varepsilon_f \leq 0.20$ . The value used to describe our experiments is  $\xi = 1$ .

## References:

- [1] P. Stevenson, *Foam Engineering Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, Ltd, 2012.
- [2] G.J. Hirasaki, C.A. Miller, R. Szafranski, J.B. Lawson, N. Akiya, Surfactant/Foam Process for Aquifer Remediation, *Proceedings - SPE International Symposium on Oilfield Chemistry*. (1997) 471–480. <https://doi.org/10.2118/37257-MS>.
- [3] W.R. Rossen, *Foams in Enhanced Oil Recovery*, Routledge, 1996. <https://doi.org/10.1201/9780203755709-11>.
- [4] S. Omirbekov, H. Davarzani, S. Colombano, A. Ahmadi-Senichault, Experimental and numerical upscaling of foam flow in highly permeable porous media, *Adv Water Resour.* 146 (2020) 103761. <https://doi.org/10.1016/j.advwatres.2020.103761>.
- [5] G.G. Bernard, L.W. Holm, W.L. Jacobs, Effect of Foam on Trapped Gas Saturation and on Permeability of Porous Media to Water, *Society of Petroleum Engineers Journal*. 5 (1965) 295–300. <https://doi.org/10.2118/1204-PA>.
- [6] A.A. Eftekhari, R. Farajzadeh, Effect of Foam on Liquid Phase Mobility in Porous Media, *Sci Rep.* 7 (2017) 43870. <https://doi.org/10.1038/srep43870>.
- [7] J.A. de Chalendar, C. Garing, S.M. Benson, Pore-scale modelling of Ostwald ripening, *J Fluid Mech.* 835 (2018) 363–392. <https://doi.org/10.1017/jfm.2017.720>.
- [8] K. Xu, R. Bonnecaze, M. Balhoff, Egalitarianism among Bubbles in Porous Media: An Ostwald Ripening Derived Anticoarsening Phenomenon, *Phys Rev Lett.* 119 (2017) 264502. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.119.264502>.
- [9] Y. Mehmani, K. Xu, Pore-network modeling of Ostwald ripening in porous media: How do trapped bubbles equilibrate?, *J Comput Phys.* 457 (2022) 111041. <https://doi.org/10.1016/j.jcp.2022.111041>.
- [10] M. Scheel, R. Seemann, M. Brinkmann, M. di Michiel, A. Sheppard, S. Herminghaus, Liquid distribution and cohesion in wet granular assemblies beyond the capillary bridge regime, *Journal of Physics Condensed Matter.* 20 (2008) 494236. <https://doi.org/10.1088/09538984/20/49/494236>.
- [11] M. Scheel, R. Seemann, M. Brinkmann, M. di Michiel, A. Sheppard, B. Breidenbach, S. Herminghaus, Morphological clues to wet granular pile stability, *Nat Mater.* 7 (2008) 189–193. <https://doi.org/10.1038/nmat2117>.
- [12] D.J. Hornbaker, R. Albert, I. Albert, A.-L. Barabási, P. Schiffer, What keeps sandcastles standing?, *Nature.* 387 (1997) 765.
- [13] T.C. Halsey, A.J. Levine, How Sandcastles Fall, *Phys Rev Lett.* 80 (1998) 3141–3144.
- [14] N. Lu, B. Wu, C.P. Tan, Tensile Strength Characteristics of Unsaturated Sands, *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering.* 133 (2007) 144–154. [https://doi.org/10.1061/\(asce\)1090-0241\(2007\)133:2\(144\)](https://doi.org/10.1061/(asce)1090-0241(2007)133:2(144)).
- [15] E. Koos, Capillary suspensions: Particle networks formed through the capillary force, *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 19 (2014) 575–584. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2014.10.004>.
- [16] Y. Khidas, B. Haffner, O. Pitois, Capture-induced transition in foamy suspensions., *Soft Matter.* 10 (2014) 4137–4141. <https://doi.org/10.1039/c4sm00246f>.

- [17] F. Gorlier, Y. Khidas, O. Pitois, Coupled elasticity in soft solid foams, *J Colloid Interface Sci.* 501 (2017) 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.04.033>.
- [18] A. Mouquet, Y. Khidas, T. Saison, J.-Y. Faou, O. Pitois, Well-controlled foam-based solid coatings, *Soft Matter.* 15 (2019). <https://doi.org/10.1039/c9sm00786e>.
- [19] A. Kaddami, O. Pitois, A physical approach towards controlling the microstructure of metakaolin-based geopolymer foams, *Cem Concr Res.* 124 (2019) 105807. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30318.87367>.
- [20] P.R. Garrett, *The Science of Defoaming*, CRC Press, 2016. <https://doi.org/10.1201/b15158>.
- [21] K. Brakke, The Surface Evolver, *Exp Math.* 1 (1992) 141–165.
- [22] I. Cantat, S. Cohen-Addad, F. Elias, F. Graner, R. Höhler, O. Pitois, F. Rouyer, *Foams: Structure and Dynamics*, Oxford University Press, Oxford, 2013.
- [23] O. Pitois, P. Moucheront, X. Chateau, Liquid bridge between two moving spheres: An experimental study of viscosity effects, *J Colloid Interface Sci.* 231 (2000) 26–31. <https://doi.org/10.1006/jcis.2000.7096>.
- [24] N. Louvet, R. Höhler, O. Pitois, Capture of particles in soft porous media, *Phys Rev E.* 82 (2010) 041405.



## Résumé de la thèse

Ce travail de thèse porte sur la formulation de mousse liquide bio-calcifiante, qui constitue une innovation pour le procédé de Précipitation de Carbonate de Calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) Induite Microbiologiquement (MICP). La précipitation de  $\text{CaCO}_3$  dans un milieu granulaire (p. ex. sable) permet le pontage des grains par des précipités solides et d'en améliorer les propriétés mécaniques. Cette formulation a été investiguée par l'étude de l'activité bactérienne et de la bio-calcification en présence de différents tensioactifs à des concentrations variées, pour différentes concentrations en bactéries et en calcium. En parallèle, une étude des propriétés hydrauliques des mousses confinées en milieu granulaire a été réalisée pour déterminer à quelle vitesse les nutriments/bactéries peuvent être transportées dans de tels systèmes.

Nous avons trouvé les formulations permettant à certaines bactéries (*Sporosarcina pasteurii*) incorporées dans une mousse liquide de produire du  $\text{CaCO}_3$  au sein d'un assemblage de grains. Par ailleurs, la microstructure de la mousse confinée s'avère très favorable à la formation des ponts solides entre grains. Ces résultats suggèrent une application potentielle de la version « moussée » de la MICP pour améliorer la résistance mécanique des sols ou simplement pour conférer de la cohésion à des matériaux granulaires.

Mots clés : Mousse liquide, bio-calcification, bactéries, matériau granulaire, formulation

## Thesis Abstract

This thesis focuses on the formulation of bio-calcifying liquid foam, an innovation for the Microbiologically Induced Calcium Carbonate ( $\text{CaCO}_3$ ) Precipitation (MICP) process. The precipitation of  $\text{CaCO}_3$  in a granular medium (e.g. sand) enables grains to be bridged by solid precipitates, thus improving mechanical properties. This formulation was investigated by studying bacterial activity and bio-carbonation in the presence of different surfactants at different concentrations of bacteria and calcium. In parallel, a study of the hydraulic properties of foams confined in granular media was carried out to determine how quickly nutrients/bacteria can be transported in such systems.

We identified formulations enabling selected bacteria (*Sporosarcina pasteurii*) incorporated in a liquid foam to produce  $\text{CaCO}_3$  within a grain assembly. In addition, the microstructure of the confined foam proved highly favorable to the formation of solid bridges between grains. These results suggest a potential application for the "foamed" version of MICP to improve the mechanical strength of soils, or simply to confer cohesion to granular materials.

Key words: Liquid foam, bio-calcification, bacteria, granular material, formulation