



**HAL**  
open science

# Formation de concrétions calcomagnésiennes par polarisation cathodique associée à la biocalcification et à l'utilisation de matériaux recyclés pour la protection côtière

Caroline Marais

## ► To cite this version:

Caroline Marais. Formation de concrétions calcomagnésiennes par polarisation cathodique associée à la biocalcification et à l'utilisation de matériaux recyclés pour la protection côtière. Matériaux. Université de La Rochelle, 2023. Français. NNT : 2023LAROS020 . tel-04448124

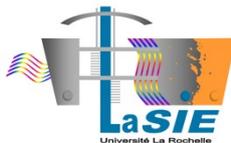
**HAL Id: tel-04448124**

**<https://theses.hal.science/tel-04448124>**

Submitted on 9 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 LA ROCHELLE UNIVERSITE

### École doctorale EUCLIDE

Laboratoire des Sciences de l'Ingénieur et de l'Environnement (LaSIE)-UMR-CNRS 7356

Laboratoire Littoral ENvironnement et Sociétés (LIENSs)-UMR-CNRS 7266

Thèse de Doctorat en vue d'obtenir le grade de Docteur de La Rochelle Université

Spécialité : Chimie des matériaux

---

# Formation de concrétions calcomagnésiennes par polarisation cathodique associée à la biocalcification et à l'utilisation de matériaux recyclés pour la protection côtière

---

Manuscrit définitif pour une soutenance réalisée le 16 Novembre 2023

**Caroline MARAIS**

Membres du Jury :

<i>Rapporteur</i>	Ramón NÓVOA	Pr - Universidade de Vigo Espagne
<i>Rapporteuse</i>	Alexandra BERTRON	Pr – INSA Toulouse
<i>Examinateur</i>	Antoine NAILLON	MCF - Université Grenoble Alpes
<i>Examinatrice</i>	Régine BASSEGUY	MCF- CNRS Toulouse
<i>Examinateur</i>	Philippe REFAIT	Pr - La Rochelle Université
<i>Invitée</i>	Béatrice COLIN	MCF - La Rochelle Université
<i>Invitée</i>	Aude-Claire HOUDON	Ingénieure - ADEME
<i>Encadrant</i>	Pierre-Yves MAHIEUX	MCF - La Rochelle Université
<i>Directeur</i>	Marc JEANNIN	MCF-HDR - La Rochelle Université
<i>Co-directrice</i>	Sophie SABLE	MCF-HDR - La Rochelle Université



## Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers toutes les personnes qui m'ont soutenu tout au long de ma thèse. Mes remerciements vont en premier lieu à mon directeur de thèse, Marc Jeannin, pour sa guidance experte, sa curiosité mais aussi et surtout pour m'avoir cadré dans mes idées débordantes. Je le remercie également de m'avoir fait confiance et accordé une autonomie précieuse qui m'a permis de prendre des initiatives en termes de créativité et d'expérimentation. Merci aussi de m'avoir permis de participer à des conférences nationales/internationales, lesquelles m'ont aidé à améliorer mes compétences en communication. Enfin, merci de m'avoir laissé la liberté de gérer mon emploi du temps.

Je remercie par ailleurs ma co-directrice, Sophie Sablé, pour les corrections méticuleuses apportées au manuscrit, sa confiance qui m'a permis d'acquérir des connaissances en microbiologie que cela soit à travers les expérimentations et les interprétations ainsi que pour ses conseils.

Je tiens tout particulièrement à remercier Béatrice Colin, une collègue, une amie mais aussi mon encadrante, sans qui je n'aurais pas pu mener les expérimentations en microbiologie. Merci de m'avoir guidé, enseigné, appris et pris le temps de m'apprendre les techniques et la minutie attendue pour la microbiologie. Merci d'avoir répondu à mes interrogations. Je n'oublierai pas les micro-réunions que nous faisons pour préparer les manips ni les fous-rire que nous avons eus en transportant les erlenmeyers à l'IUT mais aussi autour des pauses café. Je n'oublierai pas la conférence en Roumanie où la nourriture roumaine n'a plus de secret pour nous. J'ai vraiment apprécié les petits restaurants et le sport le midi ainsi que les escapades sur l'île de Ré. On a quand même bien rigolé...Merci pour tout !

Un immense merci à Pierre-Yves Mahieux pour sa patience, son coaching et d'avoir pris le temps de m'expliquer à multiples reprises le domaine du génie civil, notamment les masses volumiques où j'ai vraiment galéré... Merci pour les nombreuses réunions, les préparations orales ainsi que ton aide pour les expérimentations. Un grand merci pour la pertinence que tu as apportée à l'interprétation des résultats ainsi que pour ta pédagogie et ta gentillesse. Tu as été d'un très grand soutien durant ces trois ans, que ce soit sur l'aspect intellectuel ou psychologique. Dans les moments où je doutais, tu as été d'un grand soutien et je t'en remercie grandement pour cela. Ne change surtout pas. Merci de m'avoir permis de faire des vacances à l'IUT. Merci pour ta confiance et enfin merci pour m'avoir poussé dans mes retranchements. Je remercie également toutes les personnes qui sont intervenues de près ou de loin à mon encadrement : Philippe Turcry, Philippe Refait, René Sabot et Isabelle Lanneluc.

Un grand merci à Mathieu Lemaire et Bruno Peraudeau, les techniciens du LaSIE, pour l'aide apportée à la conception de certaines de mes expérimentations ainsi que pour l'installation du site déporté dans le froid... et qui a été d'une grande réussite...

Je remercie également Christelle Reberé pour les dosages ioniques, François et Gigi pour la DRX, Carine Churlaud pour les dosages par ICP-AES, Arnaud Serre pour le MEB ainsi que pour ses conseils très pertinents, sa pédagogie et sa bonne humeur et l'ensemble des permanents du LaSIE.

Passons aux doctorants, post-doctorants. Je n'ai pas les mots suffisamment forts pour exprimer toute ma gratitude et mon affection pour Clément Genin et Ismail Kada sans qui la thèse n'aurait pas eu la même saveur. Merci à vous deux pour tous les moments hilarants que nous avons eus ensemble, tous les moments de fous-rires, les Kasteel/IPA partagés ensemble, les voyages... Tous ces moments qui n'ont été que soutien pour moi. Merci à vous deux pour votre soutien sans pareil. C'est une amitié très forte et qui je l'espère longue durée qui s'est formée au cours de ces trois ans. Vous êtes mes amis avec un grand A et cela n'a pas de prix. Merci d'avoir été présents dans les moments durs comme dans les moments de joie. Mention spéciale pour Clément avec qui j'ai passé 30h sur 24, 8 jours sur 7. Je ne compte plus nos moments de fous-rires mais aussi de pleurs. Les aventures insolites, les séries, les bières, les restaurants... bref on est un peu comme Tic et Tac (Chipmunks) sauf qu'on ne mange pas des glands. T'as été mon associé, mon pote, mon frère, mon cousin, mon binôme bref t'as compris. Inch'allah, on sera colloc' au Danemark...

Merci à Angéline Martin, ma collègue et surtout mon amie Rouennaise (rpz rouen city), pour toutes les discussions philosophiques, psychologiques et drôles que nous avons eu ! Tous les moments géniaux mais aussi plus sérieux. J'ai découvert en toi une véritable amie sur qui je peux compter. Une amie présente, autoritaire (l'armée n'a pas bien sa tenue), joyeuse, réaliste mais surtout fidèle et je t'en remercie. Je t'aime beaucoup, sache le.

Enfin merci à tous les post/doctorants pour les moments inoubliables: Maelenn, Scott, Bocca, Alice, Mathieu, Romane, Kahina, Kepa, Mohcin, Prince Ali, Margot, Lisabeth (mention spéciale pour toi en citation), Nadjib, Zadi, Romain alias Coco, Martin, Achraf, Julien C...

Je remercie également ma famille qui m'a accompagné et soutenu tout au long de ces trois années mais plus généralement sur l'ensemble de mon parcours académique. Un docteur en plus mais peut-être pas le dernier...

*L hayet jazra, lyom bi 2idkoun, lyom bi tizkoun*

***E.Abi Aad***



**INTRODUCTION GENERALE ET CONTEXTE** **6**

---

**A. EROSION DU LITTORAL** ..... 6

**B. LIMITES ECO-ENVIRONNEMENTALES DES OUVRAGES LONGITUDINAUX**..... 8

**C. UNE SOLUTION INNOVANTE BASEE SUR L'ELECTROLYSE DE L'EAU DE MER ET L'ECONOMIE DES RESSOURCES LOCALES**..... 10

**1. ETAT DE L'ART** **18**

---

**1.1. UN ECO-MATERIAU POUR LA PROTECTION DU LITTORAL : DE LA PROTECTION CATHODIQUE A LA FORMATION D'UN AGGLOMERAT CALCOMAGNESIEN**..... 18

1.1.1. LA PROTECTION CATHODIQUE EN MILIEU MARIN 18

1.1.2. DEPOT CALCOMAGNESIEN 20

1.1.3. FORMATION DE L'AGGLOMERAT CALCOMAGNESIEN (AG) 32

**1.2. VALORISATION DES DECHETS INERTES DU BTP : LES GRANULATS RECYCLES**..... 34

1.2.1. LES DECHETS INERTES DU BTP : UN ENJEU ECO-ENVIRONNEMENTAL 35

1.2.2. DES DECHETS INERTES A L'ELABORATION DE GRANULATS RECYCLES (GR) 37

1.2.3. PROPRIETES ET CARACTERISTIQUES DES GRANULATS RECYCLES 40

1.2.4. HYDRATATION ET PROCESSUS DE CARBONATATION DES MATRICES CIMENTAIRES 43

1.2.5. VERS LA VALORISATION DES GR 45

**1.3. LES BACTERIES MARINES BIOCALCIFIANTES**..... 47

1.3.1. LA BIOMINERALISATION 47

1.3.2. BIO-PRECIPITATION DE  $\text{CaCO}_3$  CHEZ LES BACTERIES 48

1.3.3. APPLICATIONS DE LA BIO-PRECIPITATION DE  $\text{CaCO}_3$  59

**1.4. OBJECTIFS DE LA THESE** ..... 63

**1.5. REFERENCES**..... 66

**2. MATERIAUX, METHODES ET TECHNIQUES D'ANALYSES** **82**

---

**2.1. INTRODUCTION** ..... 82

**2.2. EAU DE MER NATURELLE ET ARTIFICIELLE** ..... 82

2.2.1. UTILISATIONS 82

2.2.2. COMPOSITION CHIMIQUE 83

**2.3. SQUELETTE GRANULAIRE**..... 84

2.3.1. LES GRANULATS RECYCLES 84

2.3.2. LES GRANULATS NATURELS (GN) 87

2.3.3. TECHNIQUES DE CARACTERISATION	87
2.3.4. REACTIVITE EN EAU DE MER : MONTAGE ET PROTOCOLE	91
<b>2.4. FORMATION DE L'AGGLOMERAT CALCOMAGNESIEN : MONTAGES ET CARACTERISATION ....</b>	<b>92</b>
2.4.1. MONTAGES ET PROTOCOLES ELECTROCHIMIQUES	92
2.4.2. CARACTERISATION DE L'AGGLOMERAT	97
<b>2.5. LES BACTERIES MARINES ET LES PROTOCOLES MICROBIOLOGIQUES .....</b>	<b>102</b>
2.5.1. SELECTION DES SOUCHES BACTERIENNES BIOCALCIFIANTES	102
2.5.2. MILIEUX DE CULTURE	103
2.5.3. CULTURES BACTERIENNES	105
2.5.4. DENOMBREMENT BACTERIEN	106
2.5.5. RECUPERATION DU $\text{CaCO}_3$ PRECIPITE	107
2.5.6. CROISSANCE BACTERIENNE DANS UNE ENCEINTE A REGULATION DE LA CONCENTRATION EN $\text{CO}_2$	108
2.5.7. COUPLAGE ELECTROCHIMIE/BACTERIES MARINES/GRANULATS RECYCLES	109
<b>2.6. TECHNIQUES D'ANALYSES TRANSVERSALES ET SPECIFIQUES.....</b>	<b>110</b>
2.6.1. MESURE DU pH ET DE LA CONDUCTIVITE	110
2.6.1. MICRO-SPECTROMETRIE RAMAN	110
2.6.2. DIFFRACTION DES RAYONS X (DRX)	112
2.6.3. L'ANALYSE THERMOGRAVIMETRIQUE	113
<b>2.7. RÉFÉRENCES.....</b>	<b>118</b>
<b><u>3. REACTIVITE DES GRANULATS RECYCLES EN MILIEU MARIN</u></b>	<b>123</b>
<b>3.1. INTRODUCTION.....</b>	<b>123</b>
<b>3.2. STABILITE DES HYDRATES CIMENTAIRES EN SOLUTION .....</b>	<b>123</b>
3.2.1.. EQUILIBRE DES HYDRATES DANS L'EAU	123
3.2.2. COMPORTEMENT EN MILIEU MARIN	124
<b>3.3. CARACTERISATIONS MINERALOGIQUES DES GR (RC, RU ET RB) ET DES GN.....</b>	<b>125</b>
3.3.1. MATERIAUX A BASE CIMENTAIRE (RC)	125
3.3.2. LES PIERRES NATURELLES (RU) ET LES TERRE CUITES (RB)	132
3.3.3. LES GRANULATS NATURELS (GN)	134
<b>3.4. REACTIVITE DES SABLES RECYCLES (SR) .....</b>	<b>135</b>
3.4.1. REACTIVITE DES RC	137
3.4.2. REACTIVITE DES RB ET RU	140
<b>3.5. DISCUSSION.....</b>	<b>141</b>
3.5.1. DISSOLUTION/PRECIPITATION DES PHASES HYDRATEES	141
3.5.2. CARBONATATION DANS L'EAU DE MER	143

<b>3.6. CONCLUSION .....</b>	<b>144</b>
<b>3.7. REFERENCES.....</b>	<b>146</b>

## **4. PRECIPITATION DU DEPOT CALCOMAGNESIEN A LA FORMATION DE L'AGGLOMERAT EN ECOULEMENT 155**

<b>4.1. INTRODUCTION.....</b>	<b>155</b>
<b>4.2. CONDITIONS EXPERIMENTALES ET SELECTION DU SQUELETTE GRANULAIRE.....</b>	<b>156</b>
4.2.1. CONDITIONS EXPERIMENTALES : COURANT ET ECOULEMENT	158
4.2.2. SELECTION DU SQUELETTE GRANULAIRE : ANALYSE GRANULOMETRIQUE	158
<b>4.3. DEPOT CALCOMAGNESIEN EN ECOULEMENT .....</b>	<b>161</b>
4.3.1. PRECIPITATION DU DC	161
4.3.2. CARACTERISATION DU DEPOT CALCOMAGNESIEN	164
<b>4.4. FORMATION DE L'AGGLOMERAT CALCOMAGNESIEN .....</b>	<b>167</b>
4.4.1. COURBES CHRONOPOTENTIOMETRIQUES	167
4.4.2. OBSERVATIONS VISUELLES	169
4.4.3. CROISSANCE VOLUMIQUE ET COMPACTITE DES AGGLOMERATS	171
4.4.4. PROPRIETES CHIMIQUES DU DEPOT CALCOMAGNESIEN DANS L'AGGLOMERAT	177
<b>4.5. CONCLUSION .....</b>	<b>190</b>
<b>4.6. REFERENCES.....</b>	<b>194</b>

## **5. ETUDE DE LA BIO-PRECIPITATION DE $\text{CaCO}_3$ PAR LES BACTERIES MARINES 201**

<b>5.1. INTRODUCTION.....</b>	<b>201</b>
<b>5.2. VARIATION DE LA CROISSANCE BACTERIENNE SELON DIFFERENTS PARAMETRES DE CULTURE DANS LES MILIEUX DE CULTURE MB ET EDMN+.....</b>	<b>202</b>
5.3.1. MILIEU MB ET EDMN+	203
5.3.2. EFFET DE LA TEMPERATURE	206
5.3.3. EFFET DE L'UREE	207
<b>5.3. INFLUENCE DU <math>\text{CO}_2</math> SUR LA BIOCALCIFICATION : ETUDE DES MECANISMES ENZYMATIQUES</b>	<b>208</b>
5.3.1. EFFET DU $\text{CO}_2$ SUR LA CINETIQUE DE CROISSANCE BACTERIENNE ET DE LA PRODUCTION DE $\text{CaCO}_3$	208
5.3.2. INVESTIGATION SUR LES MECANISMES ENZYMATIQUES	214
<b>5.4. BIOCALCIFICATION ET GRANULATS RECYCLES.....</b>	<b>219</b>
5.4.1. EFFET D'UN LIXIVIAT DE GRANULATS RECYCLES SUR LA CROISSANCE BACTERIENNE ET LA PRODUCTION DE $\text{CaCO}_3$	220

5.4.2. EFFET DES GR SUR LA STRUCTURE DE $\text{CaCO}_3$	224
<b>5.5. BIOCALCIFICATION SOUS POLARISATION CATHODIQUE EN PRESENCE DE LIXIVIAT DE GR.</b>	<b>225</b>
5.5.1. SUIVI DU pH ET DE LA CROISSANCE BACTERIENNE EN PRESENCE D'UN LIXIVIAT DE GR AVEC ET SANS POLARISATION CATHODIQUE	226
5.5.2. PRECIPITATION DU DEPOT CALCOMAGNESIEN	231
<b>5.6. CONCLUSION .....</b>	<b>234</b>
<b>5.7. RÉFÉRENCES.....</b>	<b>236</b>
<b><u>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES</u></b>	<b><u>246</u></b>
<b><u>LISTES DES ABREVIATIONS</u></b>	<b><u>251</u></b>





# **Introduction générale**



## Introduction générale et contexte

### A. Erosion du littoral

L'érosion du littoral est un phénomène d'origine naturelle qui se produit le long des côtes maritimes et qui implique la perte progressive de matière telle que du sable, des roches et d'autres matériaux. Ce phénomène est causé par des facteurs naturels avec l'action combinée des vagues, des courants marins et du vent, et, depuis plusieurs décennies, intensifié par les effets conjugués du réchauffement climatique et de l'activité socio-économique croissante (urbanisation le long des zones littorales, construction d'infrastructures côtières...). Les températures croissantes, l'augmentation de la fréquence et de l'intensité des tempêtes ainsi que l'accélération de la montée des eaux amplifient le phénomène d'érosion côtière. En effet, selon le dernier rapport d'évaluation du GIEC (Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat) (1) paru en 2023, l'élévation probable du niveau moyen de la mer d'ici 2050 devrait se situer entre 0,20 et 0,29 m et entre 0,63 et 1,01 m d'ici 2100 dans le scénario de fortes émissions de Gaz à Effet de Serre (GES) (+4,4°C) alors que sur la période 1901-2018, l'élévation du niveau de la mer fût de 0,20 m.

L'érosion, qui se manifeste entre autres par la mobilité du trait de côte défini comme « la limite entre terre-mer », peut avoir des impacts environnementaux, économiques et sociaux importants, notamment, la disparition de plages, la détérioration des écosystèmes côtiers ou encore, la destruction d'habitations et d'infrastructures côtières. Ce phénomène constitue donc une menace pour les communautés riveraines vivant à proximité. En France, l'érosion côtière représente en quelques chiffres (2) :

- 126 communes classées prioritaires,
- 22% du littoral soumis à un phénomène d'érosion dont 650 km déjà en recul.

Très urbanisée, la France est considérée comme le pays européen le plus menacé par les risques littoraux. La cartographie de l'indicateur de l'érosion côtière en France, présentée sur la **Figure 1**, indique que les côtes des régions de la Nouvelle-Aquitaine et de la Normandie (La Manche) sont particulièrement affectées par le phénomène d'érosion avec un recul supérieur à 0,5 m/an.

## Introduction générale et contexte

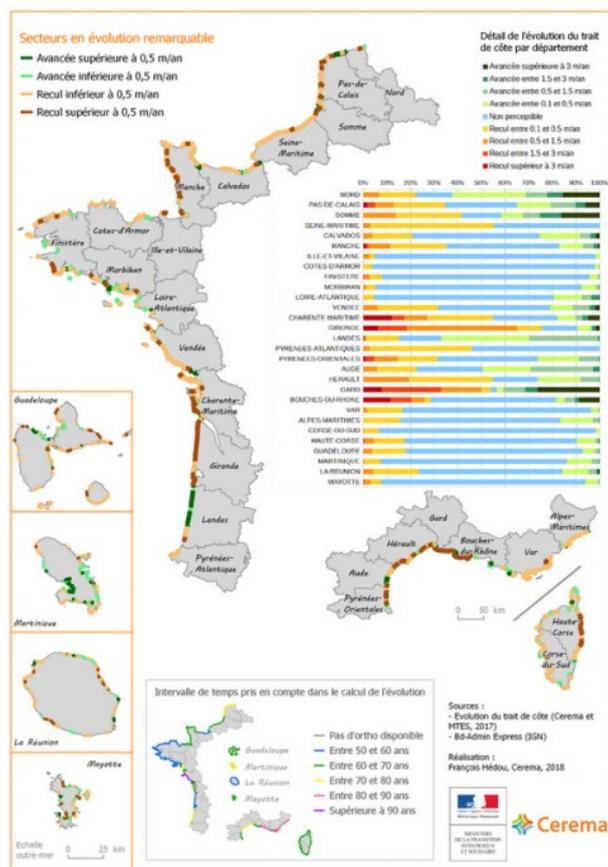


Figure 1 : Indicateur d'érosion côtière en France.

Limiter le phénomène d'érosion côtière, c'est protéger les 8 millions de français (10% de la population résidant près du rivage et 7 millions de lits destinés au secteur du tourisme) contre les risques littoraux tels que les inondations ou submersions marines (3). En effet, les importantes pertes humaines et matérielles causées par les tempêtes Klaus en 2009 et Xynthia en 2010 sur la côte Atlantique ainsi que les marqueurs de l'effritement du littoral observés en Gironde et en Normandie (**Figure 2**) témoignent de l'urgence à agir pour préserver le littoral et garantir la sécurité humaine vis-à-vis de la situation climatique.



Figure 2 : A) bâtiment « Le Signal » à Soulac-sur-mer (Gironde (33)) en 2014 (bâtiment déconstruit en 2023) et B) falaise victime d'érosion à Criel-sur-mer (Seine maritime (76)).

La prévention des risques littoraux et la protection des côtes, qui constituent une importance capitale pour garantir la sécurité de la population, impliquent une combinaison de stratégies et de mesures qui sont définies en fonction des enjeux socio-économiques et environnementaux. Deux stratégies principales sont employées :

- Les **méthodes « douces »** ou « **souples** » sont des approches environnementales se traduisant par différents procédés : la reconstitution du stock de sédiments sur les plages (rechargement artificiel en sable), le maintien du sable au moyen d'ouvrages géotextiles, l'installation de pieux pour dissiper l'énergie des vagues, la restauration des dunes (brise vent, branchages, couverture de débris végétaux...), la végétalisation et le reprofilage pour les falaises visant à la stabilisation des falaises en modifiant leur pente et leur forme.
- Les **méthodes « dures »** concernent la construction d'ouvrages de protection (« infrastructures grises ») ayant pour rôle de fixer le trait de côte : ouvrages longitudinaux tels que les digues (enrochements).

L'adoption de ces méthodes est principalement guidée par la nécessité réelle de protéger la zone à traiter, tout en tenant compte des implications économiques associées à chacune de ces techniques. Les contraintes quant à leur utilisation sont souvent associées aux coûts initiaux de mise en œuvre et à l'entretien, ainsi qu'à leur durée de vie. Dans le cas des méthodes « dures », la construction d'ouvrages longitudinaux (**Figure 3**) suppose de plus en plus la prise en compte de leur impact éco-environnemental en termes d'exploitation responsable des ressources naturelles et du transport des matières premières.

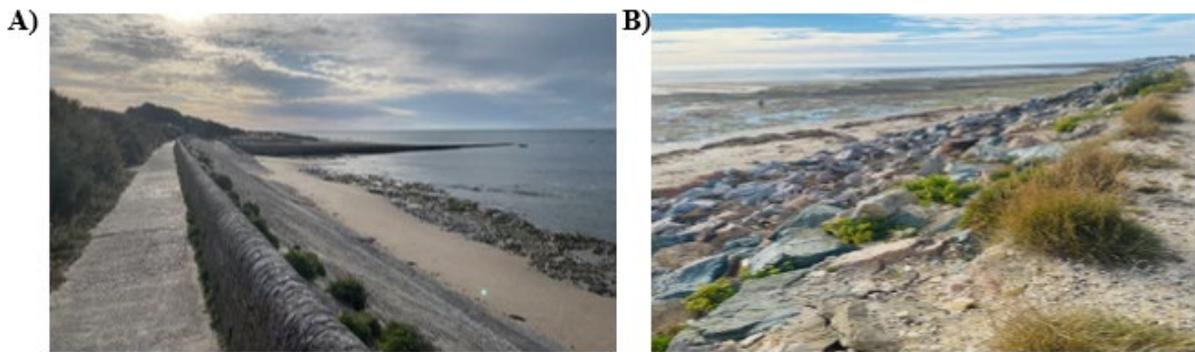


Figure 3 : A) Digue (Ars-en-Ré (17)) et B) Digue en enrochements (Saint-Clément-les-Baleines (17))

## B. Limites éco-environnementales des ouvrages longitudinaux

Les ouvrages longitudinaux sont privilégiés dans la prévention des risques littoraux pour leur capacité à maintenir immédiatement le trait de côte tout en offrant l'avantage d'une longue durée de vie, pouvant atteindre 50 à 100 ans moyennant des opérations d'entretien régulières. Cependant, leur construction et leur entretien présentent des aspects négatifs sur le plan financier et environnemental. Comme le présente le **Tableau 1**, les coûts liés à la construction de ce type d'ouvrage peuvent atteindre plusieurs

## Introduction générale et contexte

milliers d'euros par mètre linéaire, ce qui pour des chantiers de plusieurs kilomètres, représente un budget à plusieurs millions d'euros.

Tableau 1 : Coûts liés à la construction d'ouvrages de protection et au rechargement en sable des plages sur la région Nouvelle Aquitaine selon l'étude réalisée en 2018 par le comité français de l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature et de ses ressources) pour le Ministère de la Transition Ecologique et Solidaire (4).

Type de structure	Coût de construction (€/mètre linéaire)	Coûts d'entretien (€)	Durée de vie
<b>Ouvrages longitudinales (digues en enrochements)</b>	650 à 2700 selon la taille des enrochements (300 à 3500 kg)	3% du coût initial/an	50 à 100 ans avec travaux d'entretien
<b>Brise-lames en enrochements</b>	4000 à 6500 (émergé/semi émergé)	3 à 5% du coût d'installation initial/an	30 à 50 ans
<b>Rechargement en sable des plages</b>	200 à 540 /an*	/	Rechargement entre 1 à 2 ans

\* Variable selon la distance entre le site de prélèvement et le site de dépôt

À titre d'exemple, le plan d'action pour restaurer le littoral est chiffré à 260 M€ pour le département de la Charente-Maritime seulement. À ce chiffre s'ajoute les coûts de maintenance estimés à environ 1/30<sup>e</sup> du coût initial, chaque année, pour garantir la pérennité des ouvrages. Le cahier des charges associé au dimensionnement, au choix des matériaux, ainsi que la distance entre le site de prélèvement des matières premières et le site de construction sont des facteurs responsables de la variabilité des coûts.

Outre l'aspect financier, l'acheminement des matières premières et d'engins sur site rend leur construction très émettrice en dioxyde de carbone. L'empreinte carbone associée au transport des matières premières est conséquente en raison du nombre de camions et de trajets nécessaires à leur acheminement. En effet, pour la mise en place d'une carapace (*i.e.* couche de protection disposée sur les talus des digues côtières composée d'enrochements) en deux couches d'environ 1,09 mètres d'épaisseur avec 32% de vides, avec une blocométrie générale de 300-1000kg d'enrochements dioritiques ou granitiques (masse volumique d'environ 2,9 To/m<sup>3</sup>), il faudrait près de 12t de carapace par mètre de talus d'une digue. En sachant que le poids maximum d'un semi-remorque est de 38t et que la longueur d'une digue peut faire plusieurs centaines de mètres, (e.g. digue du Boutillon (Ile de Ré (17)) fait 713 mètres), il faudrait approximativement 8 semi-remorques par 100 mètres de digues pour acheminer les blocs entre la carrière et le chantier.

Ainsi, il apparaît nécessaire de trouver un équilibre pour la préservation du littoral (dunes, plages et falaises) et la prévention des risques littoraux tout en minimisant l'impact environnemental, afin de garantir la sécurité des résidents.

## C. Une solution innovante basée sur l'électrolyse de l'eau de mer et l'économie des ressources locales

Une des solutions prometteuses pour limiter le phénomène d'érosion réside dans le développement d'un nouveau procédé basé sur le principe de la protection cathodique des métaux. Son principe, développé par l'entreprise SEACURE (anciennement Géocorail) et étudié au LaSIE (La Rochelle Université), consiste à former par électrolyse de l'eau de mer un dépôt calcomagnésien par application d'un courant électrique sur d'une grille métallique immergée dans les sédiments marins. Ce dépôt, composé d'hydroxyde de magnésium ( $Mg(OH)_2$ ) et de carbonate de calcium ( $CaCO_3$ ), joue le rôle de liant et va venir cimenter les sédiments avoisinant pour former un agglomérat calcomagnésien. Ce matériau a fait l'objet de nombreuses études tant sur les propriétés chimiques du dépôt que sur sa résistance mécanique. On peut notamment citer les travaux de thèse d'Alaric Zanibellato (5) qui s'est intéressé aux mécanismes de formation des agglomérats calcomagnésien, de Charlotte Carré (6) portant sur l'utilisation du dépôt calcomagnésien pour la décontamination de Plomb (Pb) et de Nickel (Ni) de l'eau de mer, de Jordan Prévot (7) concernant la formation d'un conglomérat à base de scories, ou plus récemment de Louis Zadi (8), qui s'est grandement intéressé à la cinétique de croissance du dépôt calcomagnésien au sein d'une matrice sableuse et à son évolution avec le temps au travers des mécanismes de dissolution/précipitation. Ce dernier s'est aussi intéressé à la composition chimique du dépôt calcomagnésien ainsi qu'aux propriétés physiques de l'agglomérat (porosité).

Dans un contexte de consolidation des côtes, ces études ont essentiellement porté sur des structures métalliques enfouies dans les sédiments marins en immersion permanente dans l'eau de mer (5,8). L'objectif recherché était alors la formation d'un agglomérat pour permettre le maintien des profils des plages ou l'amélioration des fondations (butée de pied ou semelle de fondation) des ouvrages longitudinaux, c'est-à-dire au niveau des zones basses des infrastructures, en grande partie immergées. Pour les zones partiellement immergées ou soumises aux marées, comme pour les falaises ou les parties hautes des infrastructures, ce procédé est difficilement applicable. Il est donc nécessaire de développer un dispositif spécifique pour la formation d'un agglomérat destiné à renforcer ces zones, tout en assurant la circulation du courant électrique.

En plus du dispositif expérimental, l'utilisation de matériaux recyclés du secteur du BTP (Bâtiment et Travaux Publics), en guise de matériaux d'apport (alternative aux sédiments s'ils ne sont pas disponibles en quantité), pourrait ouvrir des perspectives intéressantes à la gestion des ressources. Cela aurait des avantages notables à la fois sur le plan économique, en réduisant les coûts associés à la gestion des déchets et en contribuant à la préservation des ressources naturelles limitées, tout en offrant des bénéfices environnementaux grâce à la réduction de l'empreinte carbone due au transport des matières premières. De plus, dans l'eau de mer, il existe beaucoup d'organismes vivants capables de produire du carbonate de calcium. Parmi ceux-ci, les microorganismes peuvent être une voie prometteuse pour la formation d'agglomérats calcomagnésiens en synergie avec le procédé électrochimique. Ainsi les

récents travaux de thèse de Julia Vincent (9) ont mis en évidence des bactéries marines, prélevées dans le Port de La Rochelle, capables d'induire la précipitation du carbonate de calcium via le processus de biocalcification. Deux mécanismes enzymatiques sont impliqués dans ce processus : l'hydrolyse de l'urée, catalysée par l'enzyme uréase, et l'interconversion du dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) et des ions hydrogénocarbonates ( $\text{HCO}_3^-$ ), sous l'action de l'enzyme anhydrase carbonique. En privilégiant la voie enzymatique impliquant l'anhydrase carbonique, l'utilisation de ces bactéries marines biocalcifiantes permettrait d'amorcer, voire accélérer en association avec la polarisation cathodique, la précipitation du dépôt calcomagnésien, tout en contribuant au piégeage du  $\text{CO}_2$ .

Dans ce contexte, mon travail de thèse s'inscrit au cœur d'une démarche éco-environnementale visant à assurer la pérennité des infrastructures existantes au niveau du littoral et/ou les falaises, tout en limitant l'impact environnemental associé à l'extraction et au transport des matières premières. En plus du procédé basé sur l'électrolyse de l'eau de mer, cette approche repose sur l'utilisation des ressources locales, en valorisant les déchets inertes du BTP provenant d'une plateforme de recyclage locale, tout en exploitant le potentiel des bactéries marines biocalcifiantes prélevées dans le Port de La Rochelle (collection du laboratoire LIENSs La Rochelle Université) pour stocker le  $\text{CO}_2$  par biominéralisation de carbonates.

Ces travaux de thèse ont été réalisés au Laboratoire des Sciences de l'Ingénieur pour l'Environnement (LaSIE) - UMR CNRS 7356 en partenariat avec le laboratoire LIttoral ENvironnement et Sociétés (LIENSs) - UMR CNRS 7266 de la Rochelle Université. Ils ont été co-financés par l'Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie (ADEME) et le projet La Rochelle Territoire Zéro Carbone (LRTZC). Le projet LRTZC est une initiative ambitieuse lancée par la ville de La Rochelle en 2019. Son objectif principal est de réduire les émissions de  $\text{CO}_2$  de la ville de 30% d'ici 2030 et de devenir le premier territoire urbain côtier français à atteindre la neutralité carbone d'ici 2040. Pour concrétiser ces objectifs, le projet LRTZC, financé par un Plan d'Initiative d'Avenir (PIA), se déploie à travers plusieurs axes majeurs, notamment la préservation du littoral et des marais, dans lequel s'inscrit cette thèse, la rénovation et la construction de bâtiments, l'écologie industrielle, la mobilité, les énergies renouvelables, la transformation sociétale, les changements de comportements et la création d'une coopérative carbone. Ce projet rassemble cinq partenaires principaux, dont la ville de La Rochelle, la Communauté d'Agglomération de la Rochelle, La Rochelle Université avec ses laboratoires LaSIE et LIENSs, le Port Atlantique La Rochelle et l'Association Atlantech®, ainsi que 130 autres organismes, dont des laboratoires de recherche tels que le CNRS, l'INRA et l'IFREMER.

En privilégiant l'économie des ressources locales, avec l'utilisation de déchets inertes du BTP et les bactéries marines biocalcifiantes, ce travail de thèse permettrait de contribuer à l'objectif visé par la ville de La Rochelle, la neutralité carbone d'ici 2030, en développant une solution alternative pour la protection du littoral affichant une empreinte carbone faible non seulement en limitant les émissions de  $\text{CO}_2$  liées au transport de matières premières mais aussi en les piégeant par biominéralisation.

**Références :**

1. Groupe d'experts intergouvernementale sur l'évolution du climat. Synthesis report of the IPCC sixth assessment report (AR6) [Internet]. 2023 mars. Report No.: 6. Disponible sur: [chrome-extension://efaidnbmninnibpcajpcglclefindmkaj/https://report.ipcc.ch/ar6syr/pdf/IPCC\\_AR6\\_SYR\\_Longer\\_Report.pdf](chrome-extension://efaidnbmninnibpcajpcglclefindmkaj/https://report.ipcc.ch/ar6syr/pdf/IPCC_AR6_SYR_Longer_Report.pdf)
2. Ministère de la transition écologique et de la cohésion des territoires [Internet]. 2023. Adaptation des territoires aux évolutions du littoral. Disponible sur: <https://www.ecologie.gouv.fr/adaptation-des-territoires-aux-evolutions-du-littoral>
3. Adeline BEOUTIS, INSEE, Sébastien COLAS, SOeS, Patricia JEAN, INSEE. Démographie et économie du littoral. L'observatoire du littoral; 2009.
4. Comité Français de l'UICN. EFESE : Le service de régulation de l'érosion côtière en Aquitaine. 2018.
5. Thèse de Alaric Zanibellato. Synthèse et études physico-chimiques d'un agglomérat calcomagnésien formé sur acier en milieu marin: un éco-matériau pour la protection du littoral. La Rochelle; 2016.
6. Carré C. Utilisation du dépôt calcomagnésien comme outil de décontamination de l'eau de mer. 2017.
7. Thèse de Prevot J. Etude du conglomérat dépôt calcomagnésien, scories : formation, propriétés et applications. Nouvelle-Calédonie; 2020.
8. Thèse de Zadi L. Mécanismes physico-chimiques impliqués dans la formation et l'évolution à l'abandon d'un matériau sédimentaire innovant généré en milieu marin par polarisation cathodique. [La Rochelle]: La Rochelle; 2022.
9. Thèse de Vincent J. Biocalcification bactérienne couplée à la polarisation cathodique en milieu marin afin de consolider les ouvrages du littoral. 2022.



# Chapitre 1 : État de l'art



**INTRODUCTION GENERALE ET CONTEXTE** **6**

---

**A. EROSION DU LITTORAL** ..... 6

**B. LIMITES ECO-ENVIRONNEMENTALES DES OUVRAGES LONGITUDINAUX**..... 8

**C. UNE SOLUTION INNOVANTE BASEE SUR L'ELECTROLYSE DE L'EAU DE MER ET L'ECONOMIE DES RESSOURCES LOCALES**..... 10

**1. ETAT DE L'ART** **18**

---

**1.1. UN ECO-MATERIAU POUR LA PROTECTION DU LITTORAL : DE LA PROTECTION CATHODIQUE A LA FORMATION D'UN AGGLOMERAT CALCOMAGNESIEN**..... 18

1.1.1. LA PROTECTION CATHODIQUE EN MILIEU MARIN 18

1.1.2. DEPOT CALCOMAGNESIEN 20

1.1.2.1. Précipitation 20

1.1.2.2. Composition chimique 21

1.1.2.3. Stabilité des composés carbonatés dans l'eau de mer 25

1.1.2.4. Facteurs et paramètres électrochimiques influençant la précipitation du dépôt calcomagnésien 26

1.1.3. FORMATION DE L'AGGLOMERAT CALCOMAGNESIEN (AG) 32

**1.2. VALORISATION DES DECHETS INERTES DU BTP : LES GRANULATS RECYCLES**..... 34

1.2.1. LES DECHETS INERTES DU BTP : UN ENJEU ECO-ENVIRONNEMENTAL 35

1.2.2. DES DECHETS INERTES A L'ELABORATION DE GRANULATS RECYCLES (GR) 37

1.2.2.1. Les étapes d'élaboration des GR en plateforme de recyclage 37

1.2.2.2. Classification des granulats recyclés 39

1.2.3. PROPRIETES ET CARACTERISTIQUES DES GRANULATS RECYCLES 40

1.2.3.1. Physiques 40

1.2.3.2. Caractéristiques chimiques et minéralogiques 42

1.2.4. HYDRATATION ET PROCESSUS DE CARBONATATION DES MATRICES CIMENTAIRES 43

1.2.4.1. Hydratation du ciment 43

1.2.4.2. Processus de carbonatation des matrices cimentaires 44

1.2.5. VERS LA VALORISATION DES GR 45

1.2.5.1. Analyse environnementale : essais de lixiviation 45

1.2.5.2. Secteurs de valorisation 46

**1.3. LES BACTERIES MARINES BIOCALCIFIANTES**..... 47

1.3.1. LA BIOMINERALISATION 47

1.3.2. BIO-PRECIPITATION DE  $\text{CaCO}_3$  CHEZ LES BACTERIES 48

1.3.2.1. Principales voies enzymatiques impliquées dans le processus de biocalcification induite par les bactéries (MBI)	50
1.3.2.2. Facteurs influençant la formation de CaCO <sub>3</sub> bio-précipité	55
1.3.3. APPLICATIONS DE LA BIO-PRECIPITATION DE CaCO <sub>3</sub>	59
1.3.3.1. Généralités	59
1.3.3.2. Focus sur la formation de bio-briques pour la limitation de l'érosion côtière	60
<b>1.4. OBJECTIFS DE LA THESE .....</b>	<b>63</b>
<b>1.5. REFERENCES.....</b>	<b>66</b>

## 1. Etat de l'art

### 1.1. Un éco-matériau pour la protection du littoral : de la protection cathodique à la formation d'un agglomérat calcomagnésien

Les méthodes de préservation et de protection du littoral se sont diversifiées ces dernières années. Parmi elles, un procédé innovant basé sur une adaptation de la protection cathodique a émergé en raison de son efficacité dans la consolidation des infrastructures côtières déjà existantes. Ce procédé consiste à précipiter un dépôt calcomagnésien par électrolyse de l'eau de mer sur un support métallique polarisé cathodiquement. Il suscite un vif intérêt pour la stabilité du littoral, permettant la formation d'agglomérats solides à partir des sédiments environnants. Ces agglomérats servent à créer une barrière protectrice contre l'érosion et garantir le maintien des ouvrages tels que les pieds de digues.

Le principe de la protection cathodique, les caractéristiques du dépôt calcomagnésien, les facteurs influençant sa formation et la formation d'un agglomérat calcomagnésien en immersion sont détaillés dans cette première partie.

#### 1.1.1. La protection cathodique en milieu marin

La protection cathodique est une méthode électrochimique largement utilisée pour ralentir la vitesse de corrosion des structures métalliques exposées à des environnements agressifs. Cette technique est basée sur l'abaissement du potentiel de corrosion d'un métal, ici l'acier carbone, à un niveau où sa vitesse de corrosion est réduite de manière significative. En effet, en se référant au diagramme de Pourbaix E-pH du fer dans l'eau pure à 25°C (1), présenté sur la **Figure 1-1**, il est possible de constater qu'un abaissement du potentiel vers des valeurs négatives conduit le métal à se situer dans sa zone d'immunité (zone de corrosion négligeable).

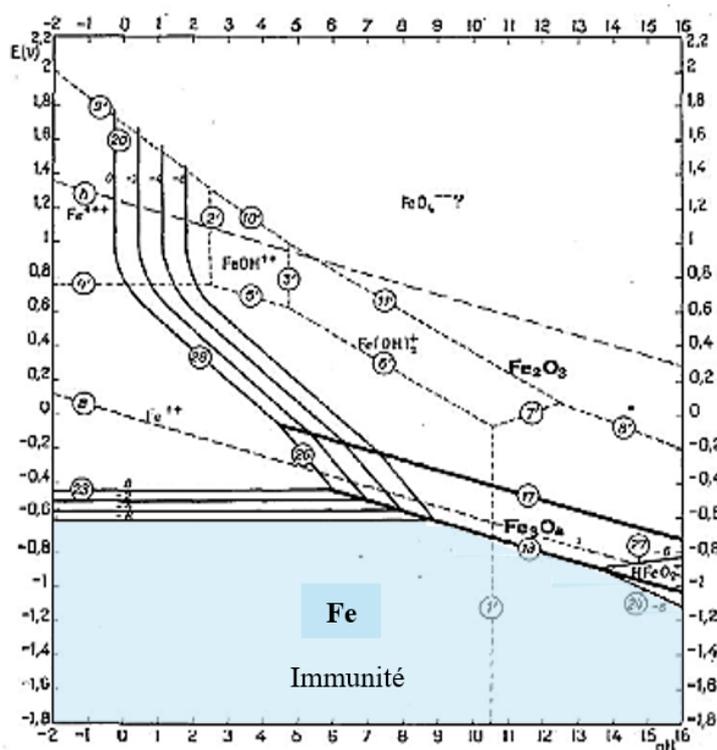


Figure 1- 1 : Diagramme potentiel-pH du fer dans l'eau pure à 25°C et 1 atm. Les potentiels E sont ici exprimés en V/ENH (Electrode Normal à Hydrogène) (1).

Pour abaisser le potentiel de corrosion du fer jusqu'à son domaine d'immunité, deux techniques de protection cathodique sont possibles : soit par potentiel imposé à l'aide d'un générateur (ou d'une anode sacrificielle anode galvanique), soit par courant imposé à l'aide d'un générateur de courant.

La protection cathodique par anodes sacrificielles vise à la formation d'une pile électrochimique entre deux métaux plongés dans une solution électrolytique. Le métal ayant le potentiel le plus élevé (le plus noble) agit en tant que cathode et est protégé alors que celui possédant le potentiel le plus bas (le moins noble), c'est-à-dire l'anode, s'oxyde en libérant des électrons dans le processus. Les électrons libérés par la corrosion de l'anode sont transférés vers la surface de la cathode créant ainsi un courant électrique. Ce courant cathodique a donc pour effet de polariser la structure métallique à un potentiel qui ralentit sa corrosion.

La protection cathodique par courant imposé consiste à faire circuler, au moyen d'un générateur, un courant continu entre une anode inerte telle que le titane ou le graphite, et la surface du métal à protéger, qui agit en tant que cathode. Le passage du courant est assuré par les ions présents dans la solution électrolytique. Il est ajusté de telle manière à fournir une densité de courant, c'est-à-dire un courant rapporté à la surface du métal, *i.e.* en  $A/m^2$ , permettant la protection efficace du métal. En d'autres termes, il vise à atteindre des valeurs de potentiel où la vitesse de corrosion est minimale.

En milieu marin, l'application d'un courant ou d'un potentiel imposé conduit à l'électrolyse de l'eau de mer qui se traduit, au niveau de l'anode, par l'oxydation des ions chlorures en dichlore ( $Cl_2$ ), au niveau

de la cathode, par la réduction de l'oxygène en ions hydroxydes ( $\text{OH}^-$ ) et, pour les potentiels les plus cathodiques (ou les courants les plus forts), la réduction de l'eau en dihydrogène ( $\text{H}_2$ ) (**Figure 1-2**) (**Eq.1-1** et **Eq.1-2**).

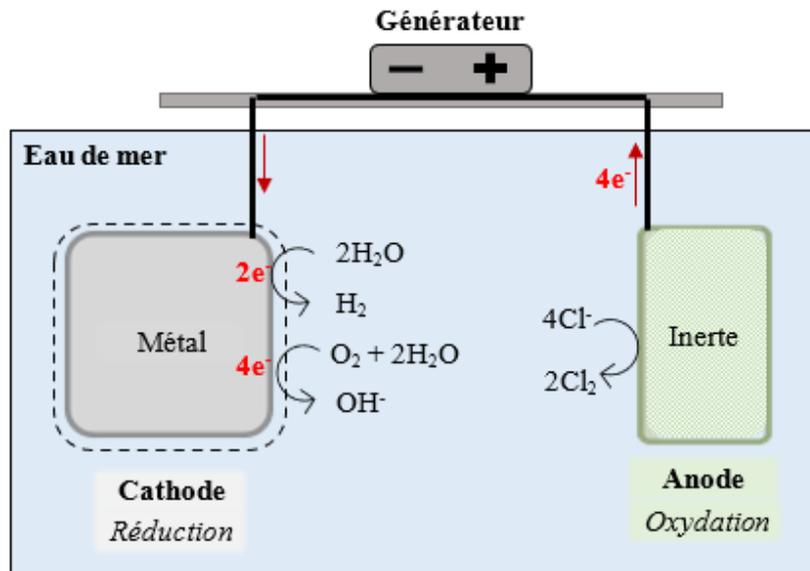
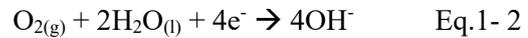
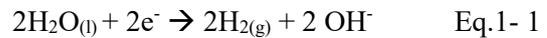


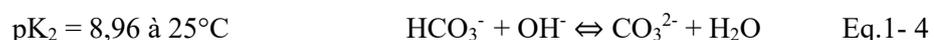
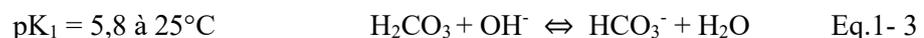
Figure 1- 2 : Principe de la protection cathodique par courant imposé d'une structure métallique immergée dans l'eau de mer.

Outre sa fonction première de préservation du métal, cette approche électrochimique revêt une importance particulière dans la formation d'un agglomérat. En effet, elle génère localement une augmentation du pH à l'interface métal/eau de mer, ce qui conduit à la précipitation du dépôt calcomagnésien à la surface du métal à partir des ions  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  et  $\text{HCO}_3^-$  présents dans l'eau de mer.

## 1.1.2. Dépôt calcomagnésien

### 1.1.2.1. Précipitation

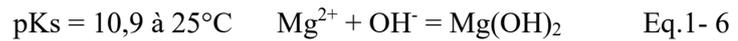
La formation du dépôt calcomagnésien est la conséquence de la libération d'ions hydroxydes ( $\text{OH}^-$ ) causée par la réduction de l'eau (**Eq.1-1**) et de l'oxygène (**Eq.1-2**) à la surface du métal (cathode). Cela conduit à une augmentation du pH interfacial métal/eau de mer, dont les valeurs sont fonction du potentiel (E), et par conséquent, à un déplacement de l'équilibre calco-carbonique vers la formation d'ions carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) (**Eq.1-3** et **Eq.1-4** (2,3)).



L'augmentation de la concentration en ions carbonates ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) permet, par association avec les ions calcium présents dans l'eau mer, la précipitation de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) pour un pH supérieur à 8,4 (4), selon l'Eq. 1-5 (4):



De même, les ions magnésium présents dans l'eau de mer peuvent précipiter sous la forme d'hydroxyde de magnésium ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ), communément appelé brucite, pour des valeurs de pH supérieures à 9,3 (5) (Eq.1-6 (6))



Le carbonate de calcium et l'hydroxyde de magnésium forment le dépôt calcomagnésien. Leur proportion respective dans la composition du dépôt est intimement dépendante du pH interfacial induit par la réduction de l'eau et de l'oxygène. D'un point de vue cinétique et si le pH est suffisamment élevé (supérieur à 9,3), la précipitation du  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  est favorisée par rapport à celle du  $\text{CaCO}_3$  car elle est directe alors que celle conduisant au  $\text{CaCO}_3$  est contrôlée par l'équilibre calco-carbonique.

#### 1.1.2.2. Composition chimique

##### 1.1.2.2.1. Carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ )

Le carbonate de calcium  $\text{CaCO}_3$  peut précipiter selon 3 formes allotropiques anhydres en fonction du milieu dans lequel il se forme : aragonite, calcite et vatérite. On le retrouve également sous forme hydratée, comme le carbonate de calcium amorphe (ACC), hexahydraté ( $\text{CaCO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) et monohydraté ( $\text{CaCO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). Les formes hydratées sont peu stables thermodynamiquement sous condition atmosphérique et évoluent rapidement vers les formes anhydres (7–10). À contrario, les formes anhydres sont relativement stables thermodynamiquement et peu solubles, exceptées la vatérite qui cristallise sous des conditions particulières (11,12).

##### A. Formes anhydres

- La calcite

La calcite est le polymorphe le plus stable à température ambiante et pression atmosphérique. Ses caractéristiques physico-chimiques en font l'un des minéraux le plus utilisé (matériaux de construction, pharmaceutique...) et le plus abondant dans l'environnement. En effet, on le retrouve habituellement dans la composition des roches sédimentaires et métamorphiques (marbre) ou encore les dépôts hydrothermaux. Ces derniers sont des formations géologiques se produisant lorsque de l'eau de mer pénètre dans la croûte terrestre, est chauffée par l'énergie géothermique de la Terre, puis remonte sous forme de jets chargés de minéraux dissous (sulfures métallique (pyrite, galène...)) (13,14). De même, la calcite constitue le polymorphe majoritaire dans les cas de biominéralisation par des organismes vivants marins (coraux, nacres, perles...) (15). La calcite cristallise dans le système rhomboédrique (16) et ses paramètres de maille sont  $a=6,361 \text{ \AA}$  et  $\alpha = 46^\circ 6'$  (17). Au Microscope Electronique à Balayage (MEB), ce polymorphe adopte une forme cubique bien spécifique (**Figure 1-3**).

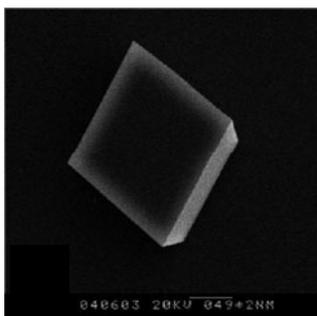


Figure 1- 3 : Image MEB de la morphologie rhomboédrique de cristaux de calcite précipités en solution (18).

Dans des milieux riches en magnésium, les ions  $Mg^{2+}$  peuvent venir s'insérer dans la structure cristalline de la calcite et substituer partiellement les ions  $Ca^{2+}$  pour former de la « calcite magnésienne », de formule chimique  $(Ca_{(1-x)}Mg_x)CO_3$ .

- L'aragonite

Composant principal des coquilles de certains mollusques ou les perles de culture, l'aragonite se présente sous la forme cristallisée orthorhombique, avec des paramètres de maille :  $a = 4,94\text{Å}$ ,  $b = 7,94\text{Å}$  et  $c = 5,72\text{Å}$  (17,19). Il est considéré comme moins stable que la calcite. L'aragonite se dissocie de la calcite par son cristal pouvant être aciculaire ou sous forme de « choux-fleurs », comme illustré sur la **Figure 1-4**.

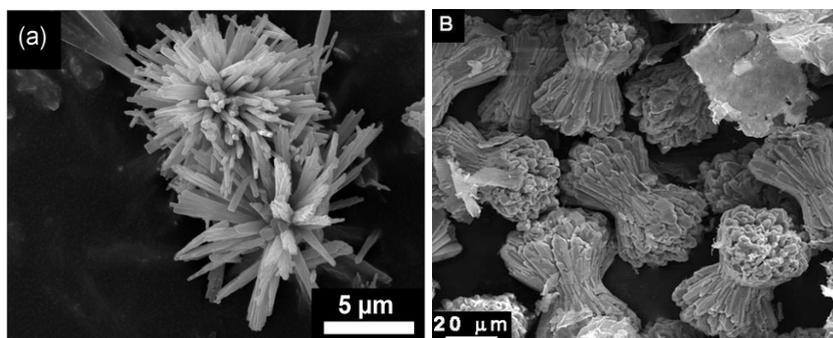


Figure 1- 4: Images MEB de cristaux d'aragonite : a) cristaux aciculaires d'aragonite formés dans le lac Lisan (mer Morte, Israël)(20) et b) cristaux d'aragonite sous forme de « choux-fleurs » (21).

La température et la pression sont des facteurs déterminants dans la précipitation de l'aragonite. Le polymorphe est thermodynamiquement stable à haute pression et basse température. John L. *et al.* ont mis en évidence la précipitation d'aragonite à pression atmosphérique pour des températures supérieures à  $45^\circ\text{C}$  (22). Sa précipitation est, par ailleurs, favorisée dans des milieux où la teneur en ions  $Mg^{2+}$  est élevée par rapport aux ions  $Ca^{2+}$  comme l'eau de mer (23).

- La vaterite

La vaterite, aussi connue sous l'appellation  $\mu\text{-CaCO}_3$ , est le polymorphe le moins stable des carbonates de calcium anhydres en conditions ambiantes. Très soluble dans l'eau, la vaterite est rarement présente à l'état naturel et recristallise généralement sous forme de calcite (24,25). La vaterite est fréquemment

impliquée dans certains cas de biominéralisation telle que les oreilles de saumon ou les coquilles d'œufs, (10,26,27). Deux structures cristallographiques sont retrouvées dans ce polymorphe : les structures hexagonales et rhomboédriques (28). Ces structures se présentent sous forme de « fleurs », « rosettes » ou « lentilles » (**Figure 1-5**).

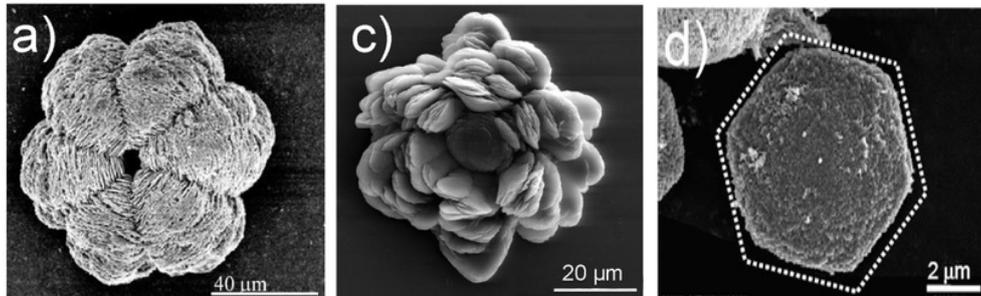


Figure 1- 5 : Images MEB de la vaterite sous forme de « fleurs » (a), « rosette » (c) et « lentilles » (d) (29).

#### B. Formes hydratées

- Carbonate de calcium amorphe (ACC)

La forme de carbonate de calcium amorphe signifie qu'elle n'a pas de structure cristalline ordonnée. Elle est généralement impliquée dans le cas des biominéraux en tant qu'intermédiaire amorphe pendant les premiers stades de développement, puis cristallise en formant des biominéraux de calcite (spicules de l'oursin) ou d'aragonite (nacre des huitres perlières) (7,30). En dehors de la biominéralisation, l'ACC est considéré comme un précurseur essentiel dans la germination du  $\text{CaCO}_3$  lorsque son produit de solubilité est dépassé, il se transforme rapidement en une phase anhydre (31).

- Carbonate de calcium hexahydraté

Le carbonate de calcium hexahydraté, communément appelé ikaïte, se caractérise par sa capacité à absorber l'eau. Sa formule chimique est  $\text{CaCO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  et se retrouve sous la forme cristalline monoclinique. Cette phase est généralement synthétisée (32,33) (**Figure 1-6**) car sa présence à l'état naturel est très limitée dans les conditions rencontrées à la surface de la Terre. Il est stable à des hautes pressions et des basses températures (fjords (34), bassins polaires (35), fosses sous-marines profondes (86)).

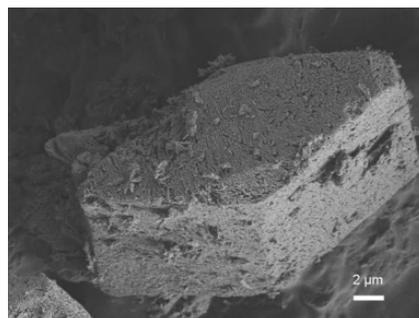


Figure 1- 6 : Image MEB de l'Ikaïte synthétisé à 35°C (37).

- Carbonate de calcium monohydraté

Plus connu sous l'appellation monohydrocalcite (MHC), le carbonate de calcium monohydraté, de formule chimique  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , fait partie des formes hydratées métastables thermodynamiquement de carbonate de calcium. Il est favorisé en présence de magnésium et peut se retrouver comme intermédiaire dans le cas de biominéraux (30,38) mais aussi comme précurseur de l'aragonite, cristallisant dans le système hexagonal. La MHC a également été observée dans les travaux de Rousseau *et al.* (39) à la surface d'acier sous protection cathodique dans des sédiments marins riches en matière organique en tant que constituant du dépôt calcomagnésien. La MHC est facilement identifiable par sa morphologie sphérique (**Figure 1-7**).

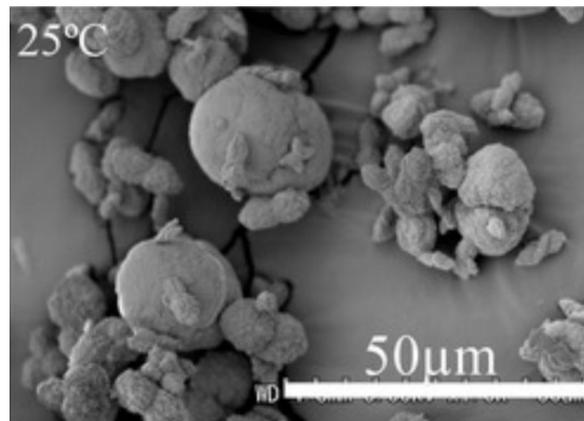


Figure 1- 7 : Image MEB de la MHC précipité à 25°C (40).

1.1.2.2.2. Hydroxyde de magnésium ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ )

L'hydroxyde de magnésium,  $\beta\text{-Mg}(\text{OH})_2$ , communément appelé « brucite », est un composé inorganique qui cristallise dans une structure hexagonale avec comme paramètres de maille,  $a=3,147\text{Å}$  et  $c=4,769\text{Å}$  [JCPDS no.7-239]. La brucite se caractérise par sa structure hexagonale avec des cristaux lamellaires en feuillet (**Figure 1-8**).

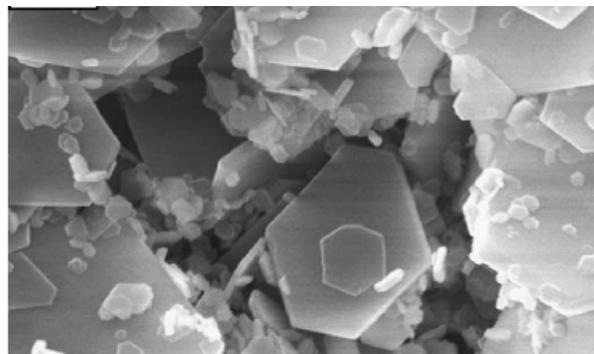


Figure 1- 8 : Image MEB de cristaux de brucite (41).

1.1.2.3. Stabilité des composés carbonatés dans l'eau de mer

Dans l'eau de mer, trois types de carbonate de calcium peuvent exister : l'aragonite, la calcite et la calcite magnésienne (Mg-calcite). La stabilité thermodynamique de ces composés carbonatés en eau de mer est essentiellement contrôlée par la température de l'eau et la teneur en ions  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$ . Morse *et al.* (42) ont représenté l'influence de la température de l'eau et du ratio Mg/Ca sur les formes polymorphiques du carbonate de calcium (**Figure 1-9**).

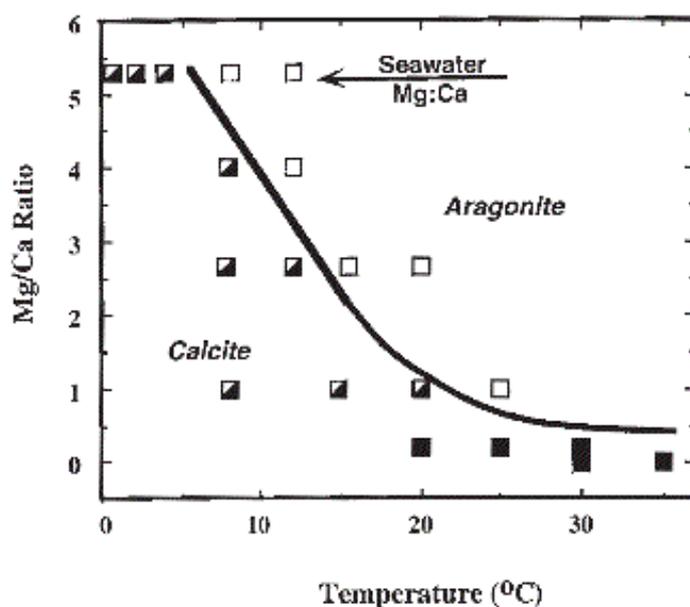


Figure 1- 9: Influence du ratio Mg/Ca et de la température sur la formation des formes polymorphiques du carbonate de calcium. Les carrés blancs représentent l'aragonite et les carrés noirs représentent la calcite. La précipitation d'aragonite au sein de la structure calcite correspond aux carrés hachurés (42).

Ces auteurs prédisent que, pour des milieux riches en calcium (rapport Mg/Ca faible) et des températures basses, la forme calcite est prédominante par rapport à l'aragonite. Plus particulièrement, Burton et Walter (43) ont montré que, pour des températures inférieures à 5°C et une saturation en calcium élevée ( $Mg/Ca < 1$ ), la calcite est le polymorphe le plus thermodynamiquement stable dans ces conditions. Au-delà de 5°C, une augmentation de la température favorise la précipitation de l'aragonite au détriment de la calcite, conduisant rapidement à la prédominance de l'aragonite pour des températures élevées (42,43). Dans certaines conditions, les ions  $Mg^{2+}$  peuvent s'insérer dans la structure cristalline de la calcite et substituer partiellement les ions  $Ca^{2+}$  pour former de la calcite magnésienne ( $Ca_{(1-x)}Mg_xCO_3$ ). Plusieurs études ont mis en évidence le lien étroit entre l'incorporation du magnésium dans la calcite et la température. Mucci (44) a démontré qu'une augmentation de la température de 5 à 40°C favorisait l'insertion du magnésium, avec « x » allant de  $5,8 \pm 0,6$  à  $12,3 \pm 0,6$  %. Ces résultats concordent avec ceux de Morse *et al.* (42) et Burton et Walter (42,43) qui ont mis en évidence que le taux d'insertion du  $Mg^{2+}$  était au plus bas pour des températures inférieures à 6°C. D'un point de vue thermodynamique, Plummer *et al.* (45) ont prédit qu'un taux d'insertion de 2 à 7% est la plus stable dans l'eau de mer mais qu'au-

delà de 8,5%, la calcite magnésienne est considérée instable par rapport à la précipitation de l'aragonite. La concentration en ions carbonate ne semble pas affecter la composition de la calcite magnésienne ainsi que la compétition de précipitation entre l'aragonite et la calcite (43).

#### 1.1.2.4. Facteurs et paramètres électrochimiques influençant la précipitation du dépôt calcomagnésien

Tel qu'il a été décrit précédemment, le pH interfacial métal/eau de mer joue un rôle déterminant dans la composition du dépôt calcomagnésien (DC). Fondièrément dépendante des réactions électrochimiques, cette valeur de pH tient compte de la réduction de l'oxygène et de l'eau se déroulant à la surface du métal. Parmi les facteurs intervenant dans ces réactions, on peut citer les paramètres électrochimiques (le potentiel ou le courant imposé), la composition chimique de l'eau de mer ( $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$ ) ainsi que les conditions expérimentales de polarisation (immersion/écoulement du substrat). Ces paramètres sont essentiels dans le contrôle du ratio  $CaCO_3/Mg(OH)_2$  dans notre étude.

##### 1.1.2.4.1. Paramètres électrochimiques

###### A. Protection cathodique par potentiel imposé

Les réactions cathodiques (réductions) se produisant à la surface du métal sont régulées par les valeurs de potentiel choisies. D'un point de vue cinétique, la réduction de l'eau se produit à des potentiels plus cathodiques que celle de l'oxygène, qui survient à la surface de l'acier généralement à des potentiels cathodiques entre -1,0 et -1,1 V/ECS (5,46,47) à température ambiante ( $\sim 20^\circ C$ ).

Entre -0,9 et -1,1V/ECS, Deslouis *et al.* (5,46) obtiennent, dans l'eau de mer artificielle dépourvue de  $Mg^{2+}$ , un dépôt constitué de cristaux de morphologie en « choux-fleur » caractéristique de l'aragonite (20). En présence de  $Mg^{2+}$ , Sarlak *et al.* (47) constatent la présence majoritaire d'aragonite sur un acier inoxydable 316L, à  $E=-0,950$  V/ECS, ainsi qu'une faible quantité de brucite. Une diminution du potentiel vers des valeurs plus cathodiques favorise la réduction de l'eau et donc une augmentation du pH interfacial conduisant à la précipitation du  $Mg(OH)_2$  sur la surface de l'acier, comme l'ont attesté Sarlak *et al.* (47) et Barbiche *et al.* (48) pour des potentiels entre -1,15 et -1,3 V/ECS. A -1,3V/ECS, à  $20^\circ C$ , Bardiche *et al.* (48) obtiennent un dépôt seulement composé d'une couche homogène de brucite ( $Mg(OH)_2$ ), tout comme l'ont observé Sarlak *et al.* (47) alors que pour un potentiel intermédiaire, -1,2 V/ECS, le dépôt est recouvert de cristaux d'aragonite dispersés dans la couche homogène de brucite. Les travaux de thèse de Zanibellato (49) ont porté sur l'étude de la précipitation du dépôt calcomagnésien sur un acier en eau de mer artificielle et naturelle (prélevée à La Rochelle) pour des potentiels imposés allant de -0,8 à -1,2 V/AgCl. Entre -0,8 et -0,9 V/AgCl, les analyses Raman et DRX ont montré que l'aragonite est la phase systématiquement observée dans le dépôt, que ce soit dans l'eau de mer artificielle ou naturelle, alors qu'entre -1,0 et -1,1 V/AgCl, l'apparition de la brucite est observée pour les deux milieux. Enfin à -1,2V/AgCl, la brucite devient la phase dominante avec, seulement dans

l'eau de mer artificielle, la présence de zones riches d'aragonite (49). La prédominance de la brucite ne survient qu'à partir de  $-1,3\text{V/ECS}$  dans les travaux de Carré (50) sur un acier galvanisé. À  $-1,2\text{V/ECS}$ , seule la phase aragonite est observée.

Travailler en potentiel imposé permet de choisir ou du moins d'orienter la composition chimique du dépôt calcomagnésien. Cependant, cette approche peut être limitée lorsqu'il s'agit de faire croître le dépôt en volume. Yan *et al.* (51) se sont intéressés à l'influence du potentiel sur la précipitation du dépôt en eau de mer. Les résultats ont montré que la formation de dépôt calcomagnésien conduisait à une décroissance de la densité de courant cathodique, résultant d'une diminution du transport de l'oxygène sur la surface active disponible pour les réactions électrochimiques. De même, Lee *et al.* (52) ont constaté le lien entre la précipitation du DC et la diminution du courant, en particulier à  $-0,8\text{ V/ECS}$  avec une décroissance plus importante par rapport à  $-1\text{V/ECS}$ . Ces résultats suggèrent que le dépôt, formé par potentiel imposé, limite la réduction de l'oxygène en jouant le rôle de barrière au transport de l'oxygène par rapport à la réduction de l'eau. Il en résulte ainsi la formation d'une couche fine de dépôt à la surface du métal, ce qui dans notre étude qui vise à la croissance en volume du dépôt, suppose l'application d'un courant imposé.

#### B. Protection cathodique par courant imposé

La protection cathodique ainsi que la formation du dépôt calcomagnésien peuvent également être réalisées en utilisant la méthode du courant imposé. Cette approche consiste à forcer les réactions électrochimiques à se produire à la surface du métal en appliquant un courant électrique. Pour des densités de courant faibles, la réduction de l'oxygène sera prépondérante et donnera lieu à la formation d'aragonite à la surface du métal. La surface métallique disponible pour cette réduction cathodique diminuant progressivement le potentiel du métal devient de plus en plus cathodique pour permettre au courant imposé de circuler. Il atteint alors le domaine de réduction de l'eau. Il y a alors précipitation de brucite (49)(1). Le dépôt est alors composé de brucite et de carbonate de calcium. Pour des densités plus importantes, le potentiel pris par l'acier est alors directement très cathodique et la réduction de l'eau est immédiatement dominante. La brucite précipite alors en couche épaisse transpercée par de petits cratères dus aux bulles d'hydrogène résultant de la réduction de l'eau (équation 1.1). Le maintien du courant entraînera alors une croissance continue du dépôt au fil du temps.

En seulement 5 jours, Luo *et al.* (53) ont formé une couche hétérogène de DC (couche riche en magnésium en interne et riche en calcium en externe) sur un acier 710L dans l'eau de mer naturelle, pour une densité de courant fixée à  $-35\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et pour un potentiel de  $-0,9\text{ V/ESH}$ . Pour des densités de courant allant de  $-54\mu\text{A}/\text{cm}^2$  à  $430\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , les travaux réalisés par Humble (54) ont conduit à la précipitation d'un dépôt calcomagnésien à la surface d'un acier microsablé, avec un ratio Mg/Ca 1:5 au plus faible courant et 5:1 au plus élevé. À  $-0,185\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , la proportion de magnésium et de calcium est équivalente (1:1). Akamine *et al.* (55) ont obtenu une précipitation maximale en  $\text{CaCO}_3$  pour  $i=-50\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et en  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  pour  $i=-700\mu\text{A}/\text{cm}^2$ .

En ce qui concerne l'adhérence du dépôt sur le substrat métallique, Park *et al.* (56) observent, au bout de 24h d'immersion d'un acier dans de l'eau de mer naturelle et artificielle pour des courants imposés allant de  $-100$  à  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , un détachement partiel du dépôt, majoritairement composé de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  à la plus forte densité de courant. Cette délamination est associée à une production importante de  $\text{H}_2$  (réduction de l'eau à la cathode). De plus, les auteurs émettent l'hypothèse d'une corrélation entre l'adhérence du dépôt sur le métal et le ratio  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$ . En effet, au plus fort courant, le film de brucite se caractérise par une faible adhésion (norme ISO 2409 (taping test)) alors qu'à  $-300\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , la précipitation d'aragonite et de calcite a conduit à une amélioration des propriétés adhérentes du dépôt.

Au bout de 30 jours de polarisation d'un acier à  $-300\mu\text{A}/\text{cm}^2$  dans l'eau de mer naturelle, Carré (50) observe la formation d'un dépôt composé d'aragonite et de brucite avec un rapport quasiment égal à 1. Au bout de 2 mois de polarisation à  $-1\text{mA}/\text{cm}^2$ , Zanibellato (49) obtient un dépôt calcomagnésien majoritairement composé de brucite à hauteur de  $93\pm 1\%$  en moyenne contre  $7\pm 1\%$  de carbonate de calcium. Ces proportions concordent avec ceux observés dans les travaux de thèse de Prévot (57) où dans le cadre de la formation de conglomerats à base de scories, cet auteur trouve, pour un courant imposé de  $-880\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , 95% massique de brucite et 5% massique de carbonate de calcium dans le DC au bout de 12 semaines de polarisation.

#### 1.1.2.4.2. Influence de la composition chimique de l'eau de mer sur le dépôt calcomagnésien

La structure et les propriétés du dépôt calcomagnésien peuvent être associées à la composition chimique de l'eau de mer, en particulier les ions  $\text{Mg}^{2+}$  et  $\text{Ca}^{2+}$  à partir desquels le dépôt se forme. L'effet inhibiteur des  $\text{Mg}^{2+}$  sur la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  a souvent été étudié. Par exemple, Barchiche *et al.* (48) démontrent, pour un potentiel de  $-1 \text{ V/ECS}$  (600rpm) dans l'eau de mer artificielle, qu'une augmentation de la concentration en  $\text{Mg}^{2+}$  allant de  $1,3 \times 10^{-2}$  à  $2,73 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$  ( $[\text{Mg}^{2+}]_{\text{refEDMA}}(\text{eau de mer artificielle}) = 5,46 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$  fixée par la norme ASTM) conduit progressivement à la disparition de la calcite à la surface de l'acier. À  $25\%[\text{Mg}^{2+}]_{\text{refEDMA}}$ , l'aragonite commence à apparaître et recouvre totalement la surface de l'acier à  $50\%[\text{Mg}^{2+}]_{\text{refEDMA}}$  ( $2,73 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ ) alors que la calcite a disparu. À  $[\text{Mg}^{2+}] = 10,9 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$  ( $200\%[\text{Mg}^{2+}]_{\text{refEDMA}}$ ), la proportion d'aragonite a considérablement diminué par rapport à celle retrouvée pour des concentrations en  $\text{Mg}^{2+}$  inférieures. Ces résultats attestent que le magnésium affecte la croissance de la calcite. À l'inverse, la présence de magnésium semble contribuer à la précipitation de l'aragonite, comme l'ont montré Deslouis *et al.* (46) où, en l'absence de magnésium, seule la calcite se formait sur l'acier alors qu'en présence de  $\text{Mg}^{2+}$ , l'aragonite était présente (48). De même, Möller (58) constate dans une eau de mer artificielle, qu'en présence d'ions  $\text{Mg}^{2+}$ , un dépôt d'aragonite s'est formé à la surface de l'acier alors qu'en absence d'ions  $\text{Mg}^{2+}$ , le dépôt est constitué uniquement de calcite. Aussi, Dan *et al.* (59) démontrent ce phénomène en comparant les polymorphes de  $\text{CaCO}_3$  par ajout de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  ou de  $\text{NaOH}$ . Ils constatent que l'ajout d'ions  $\text{Mg}^{2+}$  (poudre de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ), à

différentes concentrations (1,1 à 5 g/L) en solution, favorise la croissance d'aragonite alors qu'en présence d'une base forte sans ions  $Mg^{2+}$  (poudre NaOH), la vatérite et la calcite précipitent majoritairement.

Lin *et al.* (60) établissent une corrélation entre la cinétique de formation du  $CaCO_3$  et la présence d'ions magnésium. Pour un potentiel constant de -0,9V/ECS, la précipitation de  $CaCO_3$  à la surface de l'acier a été plus rapide dans une solution dépourvue d'ions magnésium (NaCl/Ca) que dans une solution contenant du magnésium (NaCl/Ca/Mg).

À partir de différents morceaux de dépôt calcomagnésien récupérés sur une grille polarisée à -1mA/cm<sup>2</sup> pendant deux mois, Zanibellato (49) a étudié les mécanismes de dissolution/précipitation du dépôt en les immergeant dans l'eau de mer naturelle à différents intervalles de temps et suivant leur masse et leur composition chimique. En milieu agité, il observe une augmentation significative du pH jusqu'à 9 en seulement 12h, témoignant de la dissolution de la brucite, et d'une augmentation du taux d'aragonite entre 14 et 20% massique en 5 jours d'immersion. À l'inverse, le taux de calcite reste globalement inchangé.

Bien que l'aragonite soit favorisée par la présence de magnésium, à l'inverse les ions sulfate semblent inhiber sa précipitation. En effet, Ketrane *et al.* (61) ont observé que dans une solution d'eau pure contenant des ions  $Ca^{2+}$ ,  $CO_3^{2-}$  et  $HCO_3^-$ , l'ajout d'ions sulfate ( $MgSO_4$  ( $10^{-2}$  mol/L)) pour un potentiel à -1V/ECS empêchait la précipitation de l'aragonite, même en présence de  $Mg^{2+}$ , alors que dans une solution sans sulfate contenant du  $MgCl_2$ , la présence d'aragonite a été observée. Cette théorie reste cependant controversée par plusieurs auteurs qui, à l'inverse, indiquent que les ions sulfate pouvaient favoriser ou du moins n'avoir aucun effet sur la précipitation de l'aragonite (62–65). Plutôt que l'aragonite, certains auteurs considèrent les ions sulfate comme des inhibiteurs de dissolution de la calcite (66–68).

#### 1.1.2.4.3. Immersion/Ecoulement

Les études citées précédemment sur la formation du dépôt calcomagnésien ont toutes été réalisées dans le cas d'une structure métallique (électrode, plaque, grille, ...) immergée dans l'eau de mer, donc en situation d'immersion permanente. Dans ces conditions, il est généralement admis que les mécanismes de formation du dépôt sous courant imposé impliquent, dans un premiers temps, la précipitation d'une couche homogène gélatineuse et poreuse de  $Mg(OH)_2$  générée par l'association des ions  $OH^-$  (réduction de l'eau et l'oxygène) et des ions  $Mg^{2+}$  de l'eau de mer (48) (**Figure 1-10-étape 1**).

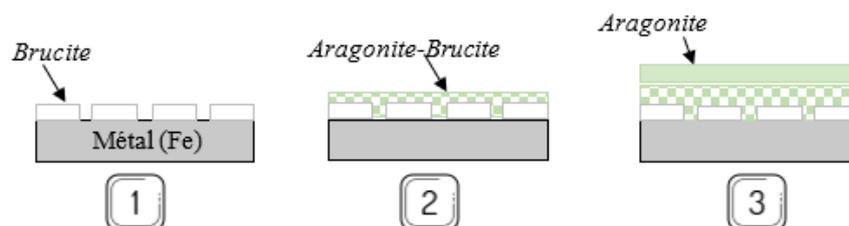


Figure 1- 10 : Etapes de précipitation du dépôt calcomagnésien sur une surface métallique placée sous courant cathodique imposé (fortes densités) et en immersion dans de l'eau de mer.

En précipitant, la quantité d' $\text{OH}^-$  à l'interface métal/solution diminue et entraîne, par abaissement local du pH, la germination d'îlots riches en  $\text{Ca}^{2+}$  (calcite et aragonite) dans la couche de brucite (**Figure 1-10-étape 2**). La couche de brucite en contact avec l'eau de mer à  $\text{pH}=8$  peut alors se dissoudre, libérant des ions  $\text{OH}^-$  favorisant la formation d'une couche extérieure de  $\text{CaCO}_3$ , généralement de l'aragonite (**Figure 1-10-étape 3**) (69). Pour un courant imposé de  $-1\text{mA}/\text{cm}^2$ , la croissance du dépôt sur une grille s'effectue en strates successives de brucite, alternées par de fines couches de  $\text{CaCO}_3$  (49). Peu d'études ont été faites sur l'influence du temps sur la composition du dépôt. Neville et Morizot (69) ont tenté de décrire la croissance du dépôt pour un potentiel de  $-1\text{V}/\text{ECS}$  en fonction du temps. Ils indiquent que la couche de brucite précipite au bout 5 min sur la surface de l'acier et celle du  $\text{CaCO}_3$  à partir de 3 jours. Néanmoins, le facteur temps est difficile à évaluer car il fluctue selon les paramètres électrochimiques imposés, le milieu ou encore la température (69).

En situation d'écoulement ou quasi-écoulement, c'est-à-dire lorsque la cathode n'est pas en contact avec l'eau de mer (écoulement permanente) ou partiellement (alternance écoulement/immersion), un écoulement d'eau de mer assurant le passage du courant à la surface de l'électrode peut amener à des modifications sur la croissance et la composition du dépôt calcomagnésien. Okstad *et al.* (70) ont étudié la précipitation du dépôt, sur un acier, sous différentes vitesses d'écoulement d'eau de mer naturelle, allant de 1 à 10 cm/s, en fonction du potentiel ( $-0,8$  à  $1,2$  V/ECS). Les résultats ont montré que la cinétique de précipitation du DC est devenue plus lente entre  $-0,8$  et  $-1,1$  V/ECS avec l'augmentation du débit et que la composition du dépôt dépendait du débit, en plus du potentiel appliqué. Le  $\text{CaCO}_3$  a précipité à des potentiels de plus en plus cathodiques à mesure que le débit augmentait, par exemple,  $-0,9$  V/ECS à 1 cm/s et  $-1,0$  V/ECS à 10 cm/s. À  $-1,2$  V/ECS et 1 cm/s, une couche épaisse de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  a précipité et aucune phase de  $\text{CaCO}_3$  n'était présente. Le rapport Ca/Mg au sein du dépôt augmentait avec l'augmentation du débit à  $-1,1$  V/ECS et  $-1,2$  V/ECS alors qu'à l'inverse à  $-0,9$  V/ECS et  $-1,0$  V/ECS, le rapport Ca/Mg diminuait avec l'augmentation du débit (70) (**Figure 1-11**).

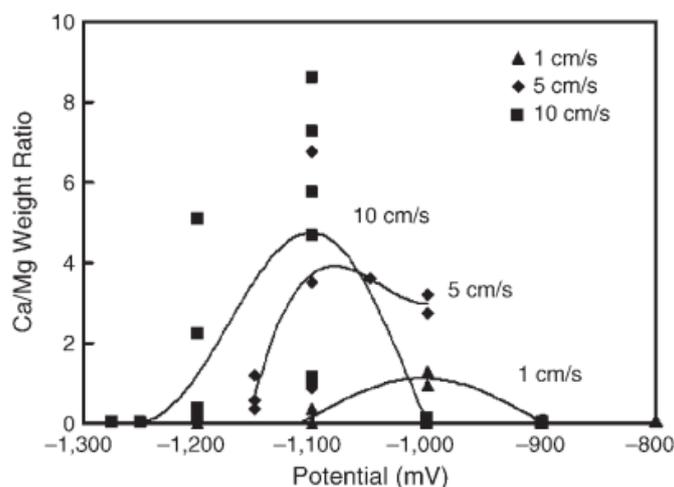


Figure 1- 11 : Evolution du ratio Ca/Mg dans le dépôt calcomagnésien en fonction du potentiel appliqué et de la vitesse d'écoulement d'eau de mer naturelle (70).

À un écoulement d'eau de mer donné, l'augmentation du potentiel amène à une augmentation des ions  $\text{OH}^-$  à la surface du substrat et la précipitation de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ . Gartland *et al.* (71) ont émis une théorie sur l'effet de la vitesse d'écoulement et de l'augmentation du courant imposé sur la concentration en  $\text{OH}^-$  générée par les réactions de réduction près de la surface de la cathode. Cette théorie, illustrée sur la **Figure 1-12**, indique que pour un courant imposé donné, une augmentation de la vitesse d'écoulement conduit à une réduction de l'épaisseur de la couche de diffusion qui a pour conséquence d'augmenter la concentration d' $\text{OH}^-$  et donc d'élever le pH à la surface.

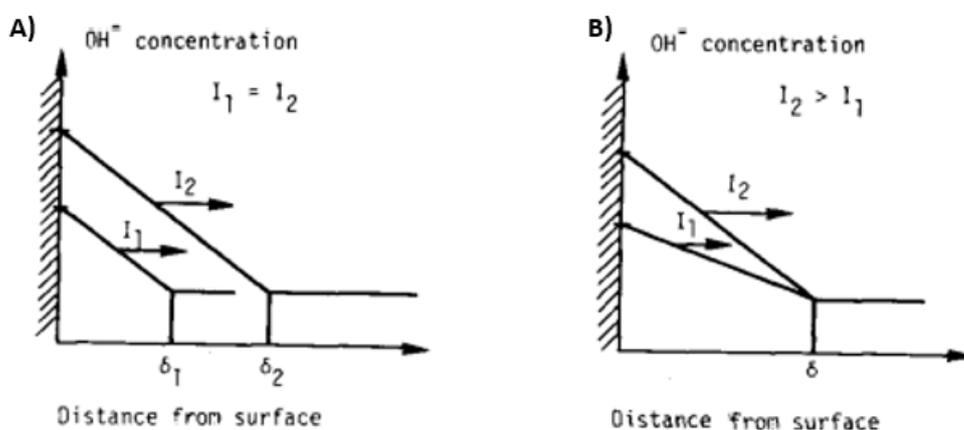


Figure 1- 12 : Schémas des concentrations d' $\text{OH}^-$  près de la surface nue dans différentes conditions. A) même densité de courant, mais différents débits (longueurs de diffusion  $\delta$ ) et B) même débit, mais densités de courant différentes (gradients de concentration en  $\text{OH}^-$  différents) (71).

Cette augmentation de la concentration en  $\text{OH}^-$  se retrouve également dans le cas d'un débit fixe et d'une augmentation du courant imposé. Cette théorie concorde avec l'étude de Li *et al.* (72) portant sur l'évolution de la morphologie du dépôt, sur 168h, en fonction de la vitesse d'écoulement d'eau de mer naturelle allant de 5 à 40 cm/s (température ambiante = 25°C), pour un courant appliqué de  $-0,3 \text{ A/m}^2$  sur un acier. À une vitesse d'écoulement de 5 cm/s, les dépôts étaient principalement composés d'aragonite avec une structure typique en forme de chou-fleur. À des vitesses d'écoulement de 10 et 20 cm/s, le dépôt était composé de plus gros cristaux d'aragonite accompagnés d'une couche de brucite. Lorsque la vitesse d'écoulement était supérieure à 30 cm/s, seule la brucite constituait le dépôt. À un potentiel cathodique de  $-1 \text{ V/Ag-AgCl}$  en conditions statiques, Knudsen *et al.* (73) observent qu'une double couche de brucite et de carbonate de calcium couvrait toute la surface de la cathode, mais qu'avec un débit de 0,5 et 1 mm/s, des dépôts discontinus de carbonate de calcium se formaient. À  $-1,1 \text{ V/Ag-AgCl}$ , en conditions statiques, les dépôts étaient plus épais que les dépôts formés à  $-1 \text{ V/Ag-AgCl}$ . Au même potentiel cathodique, la couche double de dépôt présentait une couche plus épaisse de carbonate de calcium à un débit de 0,5 mm/s par rapport à 1 mm/s (73).

### 1.1.3. Formation de l'agglomérat calcomagnésien (AG)

En présence de sédiments, le dépôt calcomagnésien, formé sous protection cathodique d'un support métallique, va jouer le rôle de liant et assurer la cohésion entre les grains pour former une concrétion calcomagnésienne, encore appelée agglomérat calcomagnésien (AG). Ce procédé électrochimique visant à cimenter les sédiments marins en immersion a été développé et breveté sous le nom de Géocorail® par l'entreprise française SEACURE. L'objectif est de renforcer les structures traditionnelles de protection côtière et de réduire les coûts liés à leur maintenance. Cette solution alternative qui implique l'enfouissement d'une grille métallique dans le sable a fait et fait toujours l'objet de plusieurs études notamment en ce qui concerne les propriétés physico-chimiques du dépôt et l'optimisation de sa composition chimique sur la résistance mécanique de l'agglomérat (49,50,74). Les travaux de thèse de Louis Zadi (74) ont notamment porté sur l'étude de la formation d'un Géocorail. La **Figure 1-13** illustre un échantillon de Géocorail formé après 24 mois de polarisation d'une grille métallique enfouie dans du sable.



Figure 1- 13 : Echantillon de matériau Geocorail formé après 24 mois de polarisation, la position des trous correspond à la position de la grille de polarisation (74).

Les analyses du dépôt calcomagnésien ont indiqué qu'au plus proche de la grille, dans la zone compacte, le rapport Mg/Ca varie entre 9 et 12, tandis qu'il varie entre 7 et 12 dans les couches intermédiaires. La porosité du matériau varie entre 26 et 34% (74). Il obtient au bout de 10 mois d'immersion, une porosité de ces matériaux variant entre 25% et 35% alors que la porosité initialement des sédiments était de 43%. Zadi (74) remarque également que l'augmentation de la porosité est corrélée à l'augmentation de la densité de courant. Carré *et al.* (75) ont polarisé à 3 et 5 W/m<sup>2</sup>, une grille d'acier enfouie dans les sédiments marins pendant plus de deux 2 ans (Châtelailon-Plage (17)). La **Figure 1-14** montre la grille enfouie et certains agglomérats calcomagnésiens extraits et formés sur plusieurs mois.

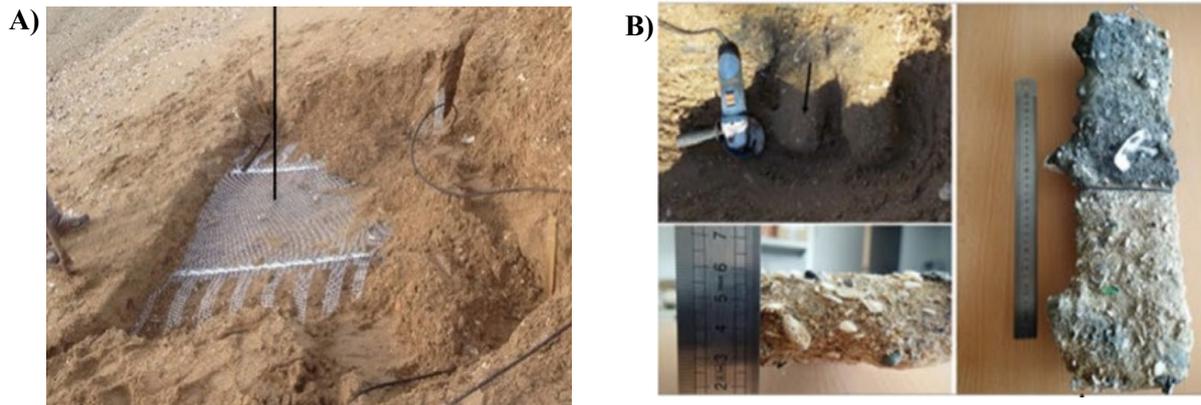


Figure 1- 14 : A) Grille en métal galvanisé (40cm) utilisée pour former un agglomérat calcomagnésien et B) agglomérats calcomagnésiens extraits et formés sur plusieurs mois (75).

Une série de caractérisation a été réalisée sur ces agglomérats pour évaluer la composition chimique du dépôt calcomagnésien, leurs propriétés mécaniques et physiques. Le dépôt calcomagnésien, composé de brucite et d'aragonite, croit en volume de la grille métallique vers l'extérieur avec des taux de croissance proportionnels à la densité surfacique de courant appliquée (3 W/m<sup>2</sup> et 5 W/m<sup>2</sup>) (75). Ces taux de croissance sont restés linéaires après 32 mois de suivi, suggérant que la croissance en volume du dépôt n'est pas limitée par le courant électrique. Les agglomérats obtenus présentent des caractéristiques mécaniques qui évoluent avec le temps, devenant moins friables et plus résistants à la compression axiale, atteignant une résistance autour de 10 MPa après 15 mois, indépendamment de la polarisation choisie. La porosité intergranulaire, bien que non homogène autour de la grille, a également diminué avec le temps et semble se stabiliser autour de 16% après 27 mois (75).

Du fait d'une immersion permanente de la grille, le pH interne peut devenir relativement élevé, ne favorisant pas la dissolution de la brucite en aragonite. La brucite étant moins favorable à un agglomérat solide mécaniquement, L'écoulement d'eau de mer en continue permettrait de résoudre ce problème de pH interne ainsi que favoriser la dissolution de la brucite par lessivage et ainsi privilégier le carbonate de calcium. Sous de telles conditions, la formation d'un agglomérat calcomagnésien sous écoulement d'eau de mer, autrement dit en « écoulement », pourrait permettre d'améliorer la stabilité chimique du DC et donc le maintien de la structure des AG aussi et surtout, de permettre une consolidation intégrale des infrastructures et non plus uniquement en base (immersion permanente et marnage). Jusqu'à aujourd'hui, la formation d'une concrétion calcomagnésienne sous un écoulement d'eau de mer n'a pas été étudiée, et aucune synthèse d'AG n'a encore été réalisée que ce soit à l'échelle du laboratoire ou *ex-situ*. Cette approche constitue l'objet d'étude principal de mes travaux de thèse.

## 1.2. Valorisation des déchets inertes du BTP : les granulats recyclés

Parmi les priorités environnementales de l'Union Européenne visant à engager l'ensemble des secteurs d'activités dans la voie de la transition écologique, celle de la politique des déchets demeure aujourd'hui un levier capital pour tendre vers une économie neutre en carbone et compétitive dans l'utilisation des ressources.

Dans ce contexte, le secteur du Bâtiment et des Travaux Publics (BTP) joue un rôle actif dans la hausse des émissions de CO<sub>2</sub>. Entre l'extraction de ressources, la fabrication et l'acheminement des matériaux, la filière se place à la deuxième position du secteur le plus émetteur de Gaz à Effet de Serre (GES) en France (76). Avec un rejet de 23% soit 98 MtCO<sub>2</sub> en 2019 (77) en France sur l'ensemble des émissions liées à l'énergie, le secteur du bâtiment doit se résoudre à diminuer son bilan par deux d'ici 2030 pour parvenir à un bilan sans carbone à l'horizon 2050 [*Pacte Vert pour l'Europe et Ajustement à l'objectif 55*]. En plus des GES, le secteur du BTP remporte la première place dans la répartition annuelle des déchets produits par les activités économiques, avec une production en déchets de près de 3/4 de l'ensemble des déchets produits (78). En 2020, la production des déchets du BTP s'est élevée à 213 Millions de tonnes (Mt) sur les 315 Mt produits sur l'ensemble du territoire français (79). Les déchets du BTP proviennent de divers chantiers, principalement associés aux travaux publics, au génie civil, ainsi qu'aux phases de construction, d'entretien et de déconstruction des bâtiments. Ces déchets sont classés selon leur dangerosité afin de faciliter leur recyclage et leur valorisation. La **Figure 1-15** illustre les différentes catégories des déchets du BTP.

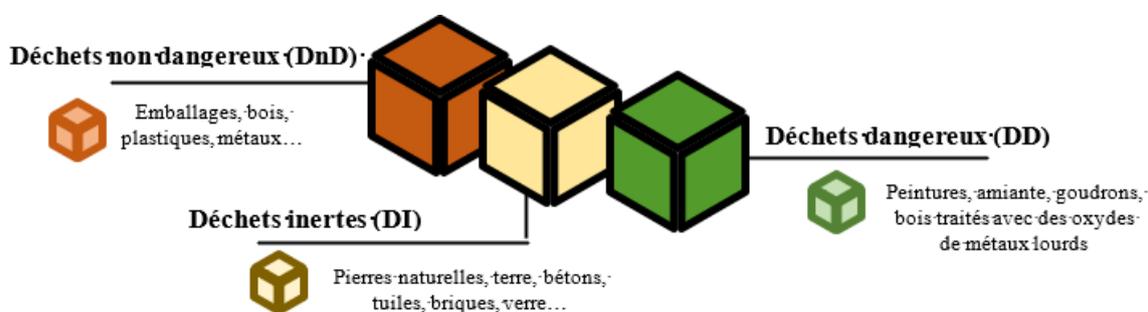


Figure 1-15 : Catégories des déchets du BTP

On distingue les déchets non dangereux (DnD), s'agissant de déchets non toxiques et non inertes, les déchets dangereux (DD), contenant des substances toxiques et/ou nocives et enfin, les déchets inertes (DI), qui par définition ne constituent pas un risque de pollution pour l'environnement ni pour la santé humaine, ils ne brûlent pas, ne se décomposent pas et ne subissent aucune modification physique, chimique ou biologique importante [Définition donnée par la *Directive 1999/31/CE du Conseil du 26 avril 1999*] (en dehors du plâtre et de la laine de verre).

Au niveau national, une étude réalisée pour le compte de l'ADEME en 2021 (80) indique que les déchets du BTP se composent généralement de 75% en masse de DI, 23% de DnD et jusqu'à 2% de DD. Ainsi,

les déchets inertes qui sont essentiellement composés de matériaux d'origine minérale représentent la grande majorité des déchets produits par le secteur. Toutefois, leur transport et leur stockage ont un impact significatif en termes d'émissions de CO<sub>2</sub> et d'utilisation des sols. Dans ce contexte, le secteur du BTP, étant l'un des principaux contributeurs aux déchets et émetteurs de GES en France, est encouragé à réduire la production de déchets et à accroître les possibilités de recyclage. La valorisation de ces déchets inertes est devenue une préoccupation majeure dans le domaine de la gestion des déchets et de l'utilisation responsable des ressources naturelles d'autant que cette approche permettrait également d'offrir des avantages tels que la réduction de l'empreinte carbone liée aux transports des matières premières.

### **1.2.1. Les déchets inertes du BTP : un enjeu éco-environnemental**

Les déchets inertes peuvent être de nature variable : graves et matériaux rocheux, terres, bétons déferrailés issus des chantiers de démolition des bâtiments, briques, tuiles et céramiques, matériaux bitumineux. En 2020, d'après les données transmises par le Ministère de l'Environnement à Eurostat (79), 217 Mt de déchets inertes du BTP ont été générés sur le territoire français.

La valorisation de ces déchets, via le recyclage ou le réemploi, offre des opportunités significatives tant sur le plan économique, en réduisant les coûts de gestion des déchets et contribuant à la préservation des ressources naturelles limitées, que sur le plan environnemental en diminuant leur empreinte carbone. De manière globale, la valorisation des déchets inertes du BTP atténue les GES, notamment le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) lié aux transports.

Sur l'ensemble du secteur du BTP, plus de la moitié (59%) des déchets inertes du BTP produits en 2020 a été recyclée sous forme de granulats, 14% ont été utilisés comme remblai et 27% ont été acheminés vers des installations de stockage spécifiques des déchets inertes. À titre de comparaison, la part de déchets inertes du BTP recyclés en 2014 avait été estimée entre 21 et 44% du volume de déchets générés (81,82).

Concrètement, les déchets inertes peuvent être réutilisés en tant que matériau de remblai dans les carrières ou directement sur un autre chantier, ou transformés en granulats, dits « recyclés », employés pour les soubassements de route, le terrassement ou les bétons. En cas de non-recyclage, ces déchets sont acheminés vers des Installations de Stockage de Déchets Inertes (ISDI). La valorisation des déchets inertes sous la forme de granulats recyclés constitue une ressource complémentaire à la ressource naturelle. En effet, les granulats font partie des principales matières premières utilisées dans le secteur du BTP que ce soit pour la fabrication du béton, les enrobés ou plus majoritairement pour les travaux routiers et ferroviaires. En 2020, la consommation des granulats recyclés s'est élevée à 28% du total des besoins en granulats en France, soit 1% de plus qu'en 2019 (**Figure 1-16**) (83,84).

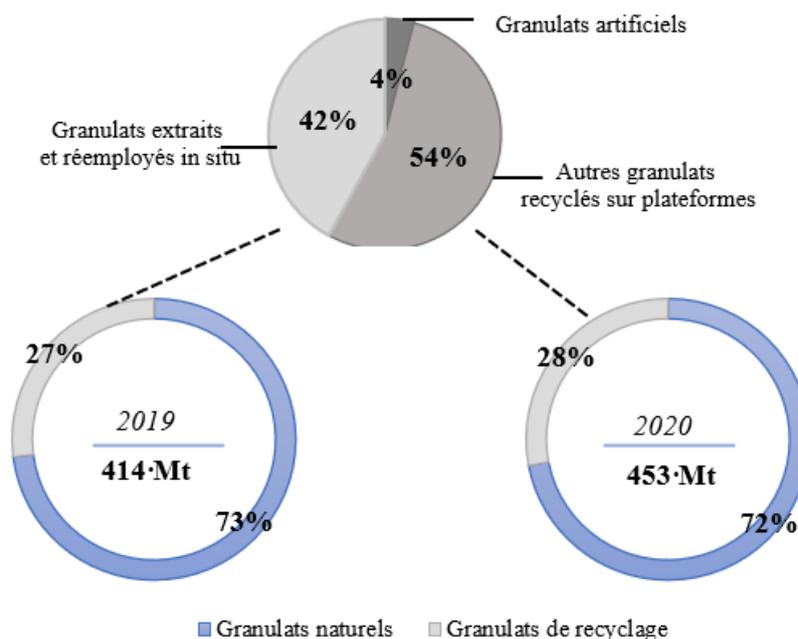


Figure 1- 16 : Besoins de granulats en France en 2019 et 2020 (83,84).

Plus de la moitié (54%) des granulats de recyclage utilisés sur la période 2019-2020 concernait les granulats recyclés sur plateformes, 42% sont attribués aux granulats réemployés directement sur site et seulement 4% pour les granulats artificiels. En 2020, la production des granulats de recyclage a connu une décroissance de 11% par rapport à 2019 alors qu'elle a augmenté de 4,4% entre 2018 et 2019 (83,84) (Tableau 1-1). Cette décroissance, notamment au niveau des granulats recyclés (-11,4%), peut, entre autres, être liée au ralentissement/arrêt d'activité du secteur pendant la pandémie de Covid-19.

Tableau 1- 1 : Production de granulats naturels et de recyclage (en millions de tonnes) sur la période 2018-2020 (83,84).

Granulats	2018	2019	2020
Granulats naturels (extraits de carrières et marins)	319	326	302
Granulats de recyclage	31,9	33,3	29,6
dont granulats recyclés*	27,3	28,1	24,9
dont granulats artificiels	4,6	5,2	4,7
<b>Total</b>	350,9	359,3	331,6

\*Issus de déchets inertes du BTP, produits sur plateformes équipées d'une installation de traitement fixe.

Dans tous les cas, la part de granulats recyclés produits sur la période 2018/2020 représente un peu moins de 8% du total de granulats produits. Ce taux se positionne loin derrière la production de granulats naturels encore prédominante dans le secteur même si la consommation des granulats recyclés augmente un peu plus chaque année. Le secteur du BTP représente aujourd'hui le plus grand consommateur de granulats naturels. En privilégiant le recyclage et la valorisation des déchets inertes, notamment sous la forme de granulats recyclés, le secteur devrait pouvoir prolonger la durée de vie des gisements dont la disponibilité et l'accessibilité s'amenuisent de plus en plus chaque année.

Si cette approche contribuait à limiter la pression exercée sur les ressources naturelles limitées, d'un point de vue environnemental, l'utilisation de granulats recyclés devrait également permettre de réduire l'empreinte carbone liée aux émissions de CO<sub>2</sub> relatives au transport et à la production des matériaux. Le transport est le secteur émettant le plus de GES en France, avec 136 Mt CO<sub>2</sub> eq émis en 2019. La quasi-totalité (94%) de ces émissions est générée par le transport routier, dont 22% (2<sup>ème</sup> position) correspondent au transport de marchandises et aux poids-lourds (85). Selon le dernier Bilan National du Recyclage (BNR) qui présente les données chiffrées du recyclage de différents matériaux sur la décennie 2010-2019, le recyclage des déchets inertes du BTP en granulats recyclés a permis d'éviter les émissions de 100 ktCO<sub>2</sub> eq en 2018 (86) (à titre d'exemple, 1 français équivaut à une empreinte carbone en 2019 de 9 tCO<sub>2</sub> eq (87)).

L'utilisation de granulats recyclés dans les matériaux de construction, en particulier à l'échelle locale, permettrait non seulement de réduire la consommation d'énergie nécessaire au transport des matières premières sur les chantiers de construction mais aussi de contribuer à l'optimisation des ressources naturelles.

### **1.2.2. Des déchets inertes à l'élaboration de granulats recyclés (GR)**

#### **1.2.2.1. Les étapes d'élaboration des GR en plateforme de recyclage**

Le processus de transformation des déchets inertes du BTP en granulats recyclés est une étape cruciale dans la gestion durable des déchets de construction et de démolition.

Les déchets inertes entrants non réemployés sur site sont pris en charge par des plateformes de recyclage spécialisées. À réception, ces déchets sont, dans un premier temps, contrôlés et pesés pour qu'ils puissent répondre aux critères d'admissibilité. Les déchets dangereux et non-inertes comme les hydrocarbonés (envoyés en centrale d'enrobés), l'asbeste-ciment (amiante) et le plâtre sont refusés.

Les matériaux acceptés sont le verre, les briques, les tuiles et les céramiques, le béton, la terre non végétale, les pierres ou encore le ballast de chemin de fer. Sous forme de mono-matériaux ou de mélanges, ces déchets sont ensuite soumis au même processus d'élaboration que celui des granulats naturels à savoir des étapes de concassage et de criblage (88), comme identifiées sur la **Figure 1-17**.

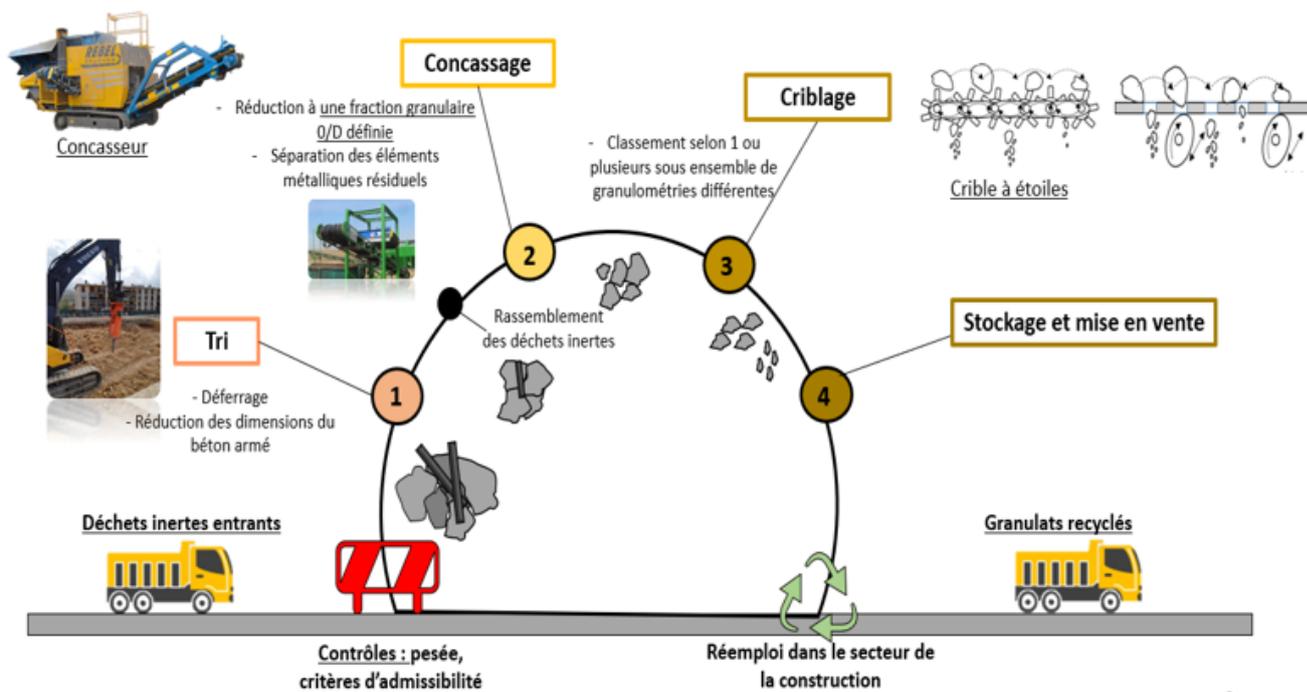


Figure 1- 17: Etapes d'élaboration des granulats recyclés en plateforme de recyclage.

En raison de la nature multiple de ces matériaux, une étape préalable de tri (**Figure 1-17-étape 1**) est nécessaire pour éliminer les contaminants et les déchets non inertes tels que les éléments métalliques et, éventuellement le plâtre, le bois, le plastique ou le carton. Cela garantit que seuls les matériaux adéquats seront utilisés pour la production de GR. Il s'agit aussi de réduire la dimension des éléments en béton armé tout en séparant la ferraille (déferrage) au moyen d'un brise-roche ou d'une pince hydraulique. Il s'en suit une étape où les éléments de béton déferrés réduits sont mélangés avec les autres déchets inertes pour y être concassés selon une fraction granulaire 0/D ( $0 \text{ mm} / D = \text{dimension maximale en mm}$ ) définie (**Figure 1-17-étape 2**). Un séparateur magnétique est par ailleurs utilisé lors de cette étape pour séparer les éléments métalliques résiduels. En sortie de concasseur, les granulats recyclés de dimension maximale 0/150 mm sont criblés selon un ou plusieurs sous-ensembles granulométriques, préalablement choisis selon les besoins du marché (**Figure 1-17-étape 3**). Des tests de contrôle qualité (durabilité, granulométrie, analyse environnementale, ...) sont effectués sur les GR pour s'assurer qu'ils répondent aux normes et aux spécifications requises pour leur utilisation dans différents projets (89). Enfin, les GR sont stockés avant leur utilisation future (**Figure 1-17-étape 4**).

1.2.2.2. Classification des granulats recyclés

Avant d'être valorisés, les granulats recyclés font l'objet de prélèvements et de contrôles réguliers pour répondre aux exigences européennes en matière de sécurité, de santé et de protection de l'environnement. Etant donné que les caractéristiques des granulats recyclés sont très dépendantes de la nature des matériaux dans le mélange, un essai de tri manuel est imposé pour déterminer la composition des GR. Cet essai, fixé par la norme NF EN 933-11, consiste à trier manuellement une prise d'essai représentative (fraction granulaire 4/D mm) et de déterminer les proportions massiques de chaque constituant du mélange. Six groupes de constituant (**Tableau 1-2** et **Figure 1-18**) sont proposés dans cette norme.

Tableau 1- 2 : Constituants des granulats recyclés non flottants selon la norme NF EN 933-11.

Constituant	Description
Rc	Béton, produits à base de bétons, mortier et éléments de maçonnerie en béton
Ru	Graves non traitées, pierre naturelle et granulats traités aux liants hydrauliques
Rb	Éléments en terre cuite (briques et tuiles), éléments de maçonnerie en béton et béton cellulaire non-flottant
Ra	Matériaux bitumineux
Rg	Verre
X	Bois, plastique, métaux ferreux ou non, caoutchouc non flottant, gypse, plâtre

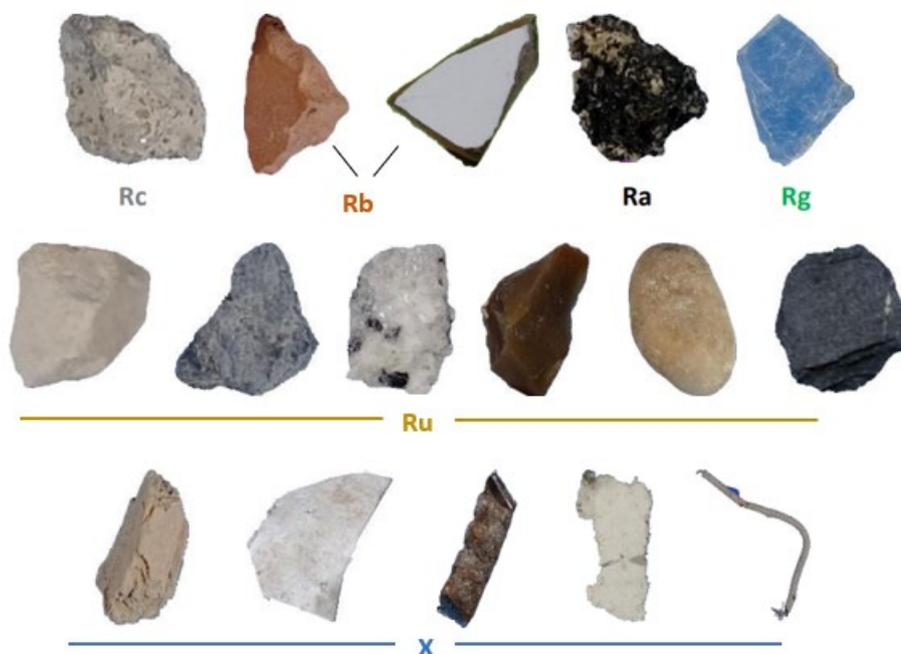


Figure 1- 18: Exemple de granulats recyclés de coupure 4/31,5 mm présents dans chaque classe [Photo tirée de la thèse de Lau Hui Hong (90)].

Des analyses environnementales basées sur des essais de lixiviation sont par ailleurs effectuées sur les granulats recyclés pour s'assurer qu'ils ne présentent pas un risque pour l'environnement ou pour la santé humaine par relargage de composés toxiques. Ces essais sont expliqués dans la partie **Chapitre 1-1.2.5.1.**

### 1.2.3. Propriétés et caractéristiques des granulats recyclés

#### 1.2.3.1. Physiques

Les caractéristiques physiques des granulats recyclés dépendent largement des déchets entrants sur les plateformes de recyclage. La variabilité de la nature des déchets provient de plusieurs facteurs, notamment la localisation géographique, la méthode de déconstruction ainsi que les processus de recyclage, qui peuvent différer d'une plateforme de recyclage à une autre. Par exemple, les granulats recyclés provenant de chantiers urbains peuvent différer de ceux provenant de chantiers ruraux en raison des types de déchets générés et des matériaux de construction utilisés. En conséquence, la composition des granulats recyclés peut changer d'une campagne de concassage à l'autre, ce qui influence directement leurs propriétés physiques.

A ce titre, une étude réalisée par Turcry *et al.* (91) entre 2013 et 2015 dans le cadre du projet RECYMENT, témoigne de la composition minérale multiphasique des GR au sein d'une même plateforme de recyclage pour différentes dates de prélèvement. Les résultats, rapportés sur la **Figure 1-19**, reflètent la variabilité des déchets entrants ainsi que la prédominance des bétons dans la composition des GR.

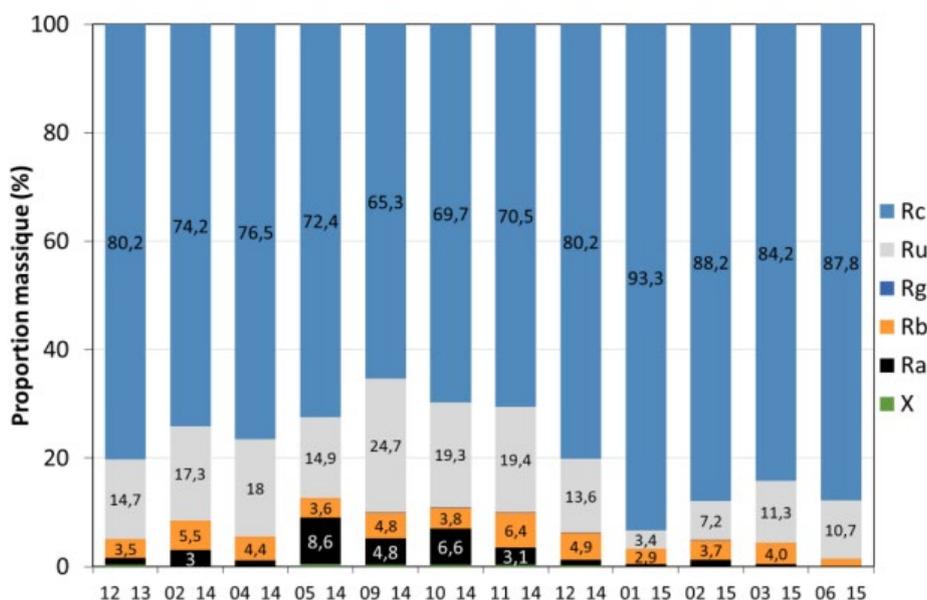


Figure 1- 19 : Composition des granulats recyclés étudiée sur un an et demi (décembre 2013 à juin 2015). Les granulats recyclés proviennent d'une plateforme de recyclage de déchets de démolition (Planète Recyclage, filiale de l'entreprise Charier) (91).

D'après cette étude, il est possible de constater la variabilité minérale de la composition des GR au cours du temps. Dans tous les cas, nous remarquons que la proportion de matériaux à matrice cimentaire (Rc) est largement majoritaire dans la composition minéralogique de ces matériaux recyclés. En effet, les Rc représentent entre 70 et 90% du mélange, suivi des pierres naturelles (Ru) qui comptent pour 10 à 25%, tandis que les terres cuites (Rb) et matériaux bitumineux (Ra) constituent environ 5% en masse.

En plus de la diversité des composants, les caractéristiques physiques des GR, telles que la masse volumique, la porosité et l'absorption en eau, peuvent également présenter une grande variabilité par rapports aux granulats naturels (GN). D'après les données de la littérature relatives aux propriétés des granulats recyclés et des granulats naturels (92–95), il est admis que la masse volumique des GR est plus faible que celle observée par les GN, en raison de la quantité de matrice cimentaire qu'ils contiennent (92,93). En effet, la matrice cimentaire étant moins dense que les granulats, plus il y a de pâte de ciment adhérente dans les granulats recyclés, plus la masse volumique des GR est faible (96,97). Elle se situe généralement entre 2 550 et 2 700 kg/m<sup>3</sup> pour les GN et entre 2 200 et 2 400 kg/m<sup>3</sup> pour les GR (92,94,95), se rapprochant des valeurs observées pour un béton classique [NF EN 206+A2/CN : 2022]. L'absorption d'eau des GR est également influencée par la quantité de matrice cimentaire. Les travaux de De Juan et Gutiérrez (98) ainsi que ceux de González Taboada *et al.* (99) démontrent que l'absorption d'eau dépend de la quantité de matrice cimentaire, cette dernière étant d'autant plus significative lorsque la fraction granulaire est fine (100). Dans l'étude réalisée par De Juan et Gutiérrez (98) qui a examiné l'influence de la teneur en mortier adhérente sur les propriétés des granulats recyclés, ils ont constaté que l'absorption d'eau est favorisée à mesure que la quantité de pâte de ciment augmente (**Figure 1-20.b**). Au contraire, la masse volumique évolue de manière inversement proportionnelle à l'absorption. Plus l'absorption d'eau augmente, plus la masse volumique diminue (**Figure 1-20.a**).

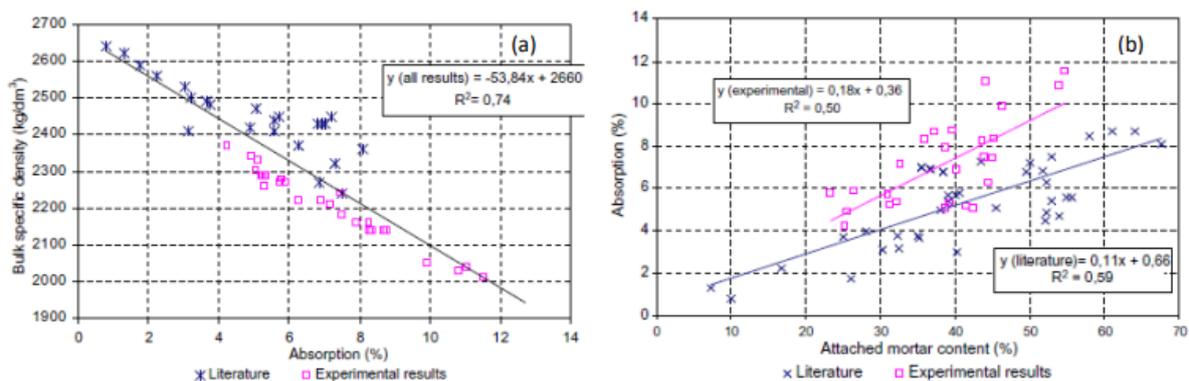


Figure 1- 20 : (a) Relation entre la masse volumique et l'absorption d'eau ; (b) Relation entre la teneur en mortier attaché et l'absorption d'eau (98).

En tenant compte de cela, on peut s'attendre à ce que la masse volumique des granulats recyclés fins soit inférieure à celles des GR grossiers de même origine (101).

### 1.2.3.2. Caractéristiques chimiques et minéralogiques

Comme évoqué précédemment, les matériaux à matrice cimentaire (Rc), couramment désignés sous l'appellation de Granulats de Béton Recyclés (GBR) (*en anglais* : Recycled Concrete Aggregates (RCA)), constituent la part prédominante des granulats recyclés. Dans la littérature, ces GBR sont largement étudiés dans un contexte de substitution partielle ou totale des granulats naturels dans le béton (102–105).

Dans le cadre du projet national RECYBETON 2012-2018, terminé en 2018, les GBR issus de quatre plateformes de recyclage, de géographie et géologie différentes, ont été analysés et étudiés. Les informations fournies par Larrard et Colina (106) sur la composition chimique et minéralogique des GBR sont présentées dans les **Figures 1-21** et **1-22**.

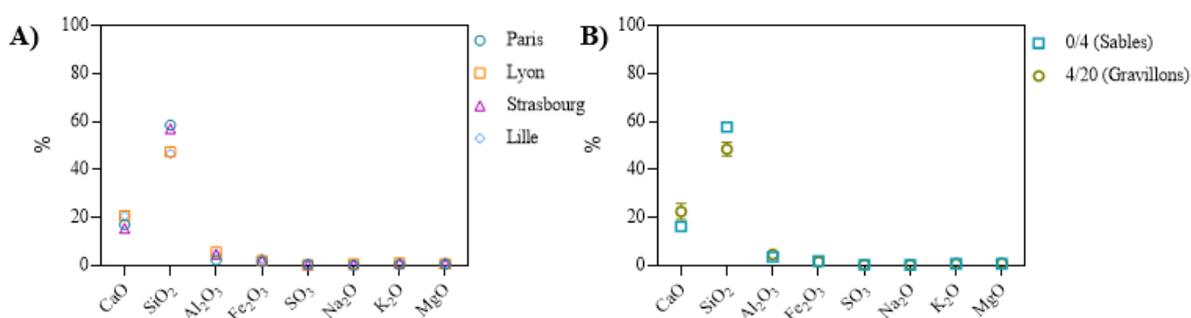


Figure 1- 21 : Composition chimique des fines de GBR : A) issues de quatre plateformes industrielles de recyclage du béton, et B) de sables et gravillons, produites sur une même plateforme (106).

D'après la **Figure 1-21**, les GBR sont des matériaux riches en oxydes de calcium (CaO), de silice (SiO<sub>2</sub>) et dans une moindre mesure d'aluminium (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) et d'oxyde de fer (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). Cette composition chimique est néanmoins dépendante du contexte géologique et géographique des matériaux entrants (**Figure 1-21.A**). Excepté pour le SiO<sub>2</sub> et le CaO, la composition chimique n'est pas affectée par la taille des grains comme nous pouvons le constater sur la **Figure 1-21.B** où elle est sensiblement la même pour les sables et les gravillons. Les différences notables de composition s'observent à travers la composition minéralogique des GBR. La **Figure 1- 22** nous apprend que les GBR sont caractérisés par la présence de calcite (CaCO<sub>3</sub>), de quartz (SiO<sub>2</sub>) et de minéraux tels que les Feldspaths (Albite) et les micas (muscovite généralement) qui sont des composants majoritaires des roches magmatiques (Granite, Diorite, Basalte)(107,108). Les terres cuites contiennent également des feldspaths. Le quartz peut provenir des roches comme des matériaux naturels utilisés dans le béton, des roches magmatiques ou encore des terres cuites. Quant au CaCO<sub>3</sub>, il peut résulter de la carbonatation du béton et/ou des pierres calcaires. En dehors de la calcite, les autres minéraux dépendent du contexte géologique et géographique. Ainsi, d'une zone géographique à une autre, la nature des minéraux peut changer et ainsi modifier la composition minéralogique des GBR (109–111).

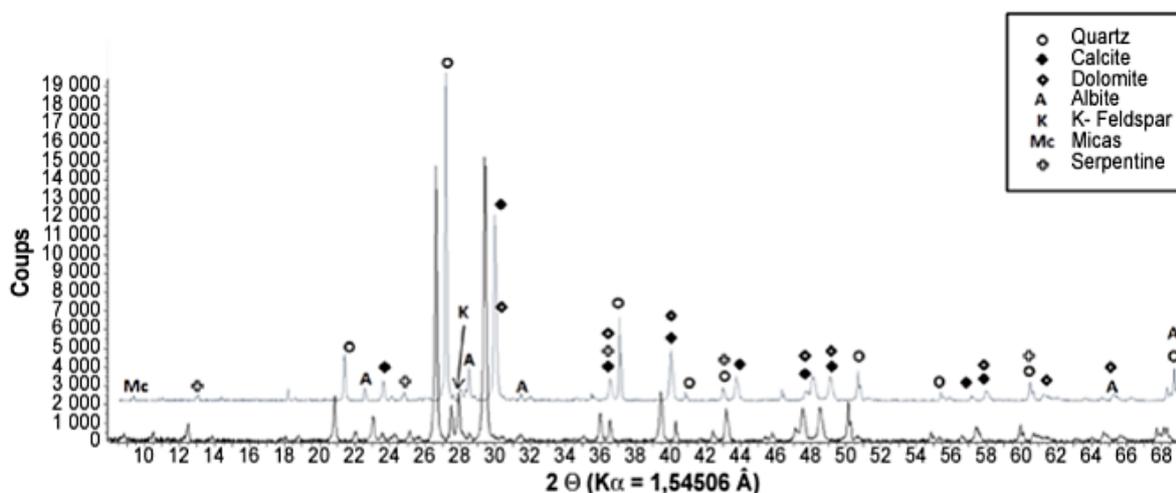


Figure 1- 22 : Analyse DRX des sables (0/4) (courbe bleue en haut) et de gravillons (10/20) (courbe noire en bas) de GBR (106).

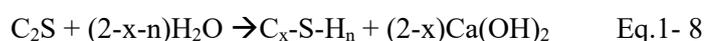
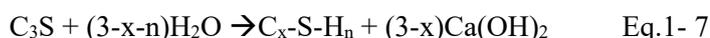
Par définition, les GBR sont constitués de béton et donc d'une pâte de ciment et de granulats. La matrice cimentaire correspond à la phase liante du béton. Elle est responsable de la cohésion des agrégats (comme le sable et les granulats) dans le béton, conférant au matériau sa résistance mécanique et sa durabilité. Elle est formée par la réaction chimique entre le ciment, généralement le ciment Portland (autres ciments : ciment blanc, ciment à maçonner...) et l'eau lors du processus de mélange et de durcissement. Les réactions d'hydratation se produisant au cours de ce processus conduisent à la formation de phases hydratées telles que la Portlandite (CH), les silicates de calcium hydratés (C-S-H) et les aluminates et sulfoaluminates de calcium hydratés (AFm et AFt).

## 1.2.4. Hydratation et processus de carbonatation des matrices cimentaires

### 1.2.4.1. Hydratation du ciment

Le ciment est un liant hydraulique composé en majeure partie des quatre phases minérales du clinker ( $2\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$  ( $C_2S$ ),  $3\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$  ( $C_3S$ ),  $3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$  ( $C_3A$ ) et  $4\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$  ( $C_4AF$ ))<sup>1</sup>, de gypse et d'additions minérales (variables selon la nature du ciment élaboré) telles que les cendres volantes ou la fumée de silice. En présence d'eau, ces phases minérales s'hydratent pour former de nouveaux composés métastables.

Les réactions d'hydratation des silicates tri- ( $C_3S$ ) et dicalciques ( $C_2S$ ), exprimées par les **Eq. 1-7** et **Eq. 1-8** (112,113), entraînent la formation de silicates de calcium hydratés (C-S-H) et d'hydroxyde de calcium (CH ou  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) communément appelée Portlandite.



<sup>1</sup> Notation cimentaire : C=CaO, S=SiO<sub>2</sub>, A=Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, F=Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>,  $\bar{S}$  = SO<sub>3</sub> et H=H<sub>2</sub>O

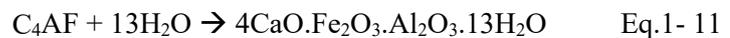
L'hydratation de l'aluminate tricalcique (C<sub>3</sub>A) forme un hydrogénat d'aluminate de calcium hydraté de type C<sub>3</sub>AH<sub>6</sub>. En présence de gypse (sulfate de calcium dihydraté), la phase C<sub>3</sub>A forme un trisulfoaluminate de calcium hydraté, aussi appelé ettringite (AFt ou C<sub>6</sub>A $\bar{S}$ <sub>3</sub>H<sub>32</sub>), selon la réaction exprimée par l'C<sub>3</sub>A + 3CaSO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O + 26H<sub>2</sub>O → 6CaO.Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.3SO<sub>3</sub>.32H<sub>2</sub>O Eq.1- 9 (113,114) :



Une fois le gypse épuisé, l'ettringite devient instable et réagit avec le C<sub>3</sub>A restant pour former un monosulfoaluminate de calcium hydraté (AFm ou 3C<sub>4</sub>A $\bar{S}$ H<sub>12</sub>) (Eq.1-10).



L'hydratation du ferroaluminate de calcium (C<sub>4</sub>AF), bien plus lente, est semblable à celle du C<sub>3</sub>A. Elle conduit à la formation d'un aluminoferrite de calcium hydraté (C<sub>4</sub>AFH<sub>6</sub>) (114,115) (Eq.1-11).



Les hydrates de la matrice cimentaire (CH, C-S-H, AFm et AFt) sont des composés instables qui interagissent avec leur environnement. En effet, ces composés sont particulièrement sensibles aux valeurs de pH du milieu environnant. Le pH d'équilibre de CH et des C-S-H sont respectivement 12,5 et 10 (116–118). Quant aux phases AFt et AFm, elles sont stables pour des valeurs de pH entre 10,5 et 13 (118,119). Ainsi, ces composés peuvent, dans certaines conditions, se dissoudre et modifier la composition ionique du milieu.

#### 1.2.4.2. Processus de carbonatation des matrices cimentaires

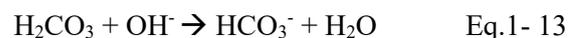
La carbonatation est un processus naturel de vieillissement des matrices cimentaires qui se traduit par la précipitation de carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>) par dissolution des hydrates de ciment au contact avec le CO<sub>2</sub> atmosphérique partiellement dissous en solution. Ce phénomène consiste en la diffusion du CO<sub>2</sub> atmosphérique dans les pores de la matrice cimentaire qui, en présence d'humidité, se dissout sous sa forme acide. Selon le pH de la solution, le CO<sub>2</sub> se dissocie selon trois formes : l'acide carbonique (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), l'ion bicarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) et l'ion carbonate (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>). Les réactions de dissociation s'établissent comme suit ((Eq.1-12, Eq.1-13 et Eq.1-14) (120,121)).

Dans l'eau pure, à 20°C,

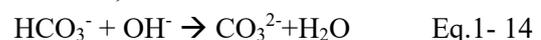
- À pH<5,86, l'acide carbonique est prédominant en solution,



- Entre 5,86 et 8,95, se sont les ions bicarbonate qui prédominent,



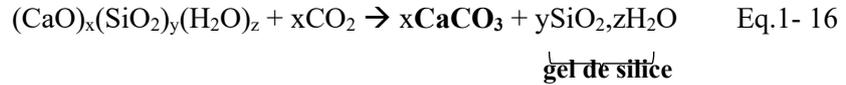
- À pH>8,95, les ions carbonate sont majoritaires en solution,



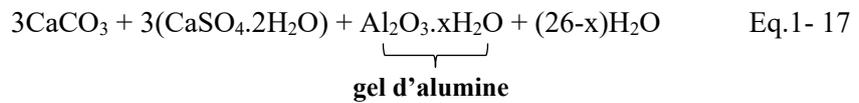
Ainsi, selon l'acidité du milieu, la dissolution de la CH conduit à la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  et la libération d'eau selon la réaction suivante (Eq.1-15) :



La carbonatation des C-S-H donne naissance à la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  et d'un gel de silice (113) (Eq.1-16).



Les aluminates hydratés (AFm et AFt) sont aussi sensibles à la carbonatation. L'ettringite se carbonate en produisant des carbonates de calcium, du gypse et un gel d'alumine (122,123) (Eq.1-17).



Quant au monosulfoaluminate de calcium hydraté (AFm), il se carbonate en libérant du gypse qui, en présence de portlandite, s'associe pour former de l'ettringite (124,125). La carbonatation de ces aluminates hydratés est généralement négligée par rapport à celle des C-S-H et de la Portlandite du fait de leur faible quantité dans la matrice cimentaire. Ce phénomène naturel, qui intervient au cours de la vie du béton, amène progressivement à une diminution de la teneur en hydrates au sein du matériau. Ceci peut donc entraîner des variations de composition d'un GBR à un autre, selon l'état carbonaté du béton dont il est issu.

## 1.2.5. Vers la valorisation des GR

### 1.2.5.1. Analyse environnementale : essais de lixiviation

Sur le plan environnemental, les granulats recyclés, comme tout type de déchets, doivent attester de leur conformité au regard de la norme européenne NF EN 12457-2 (126) en termes de relargage d'éléments polluants. Ces émissions de polluants, de nature inorganique, doivent être compatibles avec le milieu dans lequel ils seront valorisés. Pour cela, les granulats recyclés sont soumis, en amont du stockage, à des essais de lixiviation en eau distillée dont la méthodologie est normalisée au niveau européen (NF EN 12457). Ces essais visent à évaluer les potentiels rejets de métaux lourds et de contaminants dans le milieu et vérifier si les seuils d'acceptabilité de ces polluants imposés par la filière sont respectés.

Les granulats recyclés, d'une granularité inférieure à 4 ou 10 mm (fonction des normes NF EN 12457-2, 2002 (126) et NF EN 12457-4, 2002 (127)), sont immergés dans un volume d'eau distillée (déméralisée, déionisée ou eau de pureté) de pH compris entre 5 et 7,5 sous agitation pendant 24 heures et à température ambiante ( $20 \pm 5^\circ\text{C}$ ). Le rapport liquide-solide pour ces essais est fixé à 10L/kg de matière sèche. À la fin de l'essai, le liquide, appelé le lixiviat ou éluât, est récupéré pour être dosé en terme d'éléments anioniques (chlorure, fluorure et sulfate), soufre, métaux lourds, traces métalliques et

hydrocarbures. Les éléments anioniques et le soufre sont dosés par analyse chimique (attaque acide, complexation ou oxydo-réduction...) définie par la norme [NF EN 1744-1+A1,2014 (128)], et les teneurs sont exprimées en %. Les teneurs en hydrocarbures, exprimées en mg/kg de matière sèche, sont obtenues par chromatographie en phase gazeuse selon la norme [NF EN 14039, 2005 (129)]. Les valeurs limites pour les traces métalliques (Cr, Ba, Co, Ni, Mo, Sb...), exprimées en mg/L, sont définies par les normes [NF EN 12457-2, 2002 (126)] et [NF EN 12457-4, 2002 (127)].

Les réactions physico-chimiques susceptibles d'intervenir lors de la lixiviation du déchet dans le milieu d'exposition sont multiples : dissolution/précipitation, oxydo-réduction acide-base... La cinétique de ces réactions est d'autant plus rapide et totale que les conditions de stabilité du déchet dans son milieu d'origine sont éloignées de celles dans son milieu d'exposition. Ces analyses environnementales et les seuils de référence en relargage de polluants s'appliquent aussi en cas de valorisation des GR en milieu marin. Malgré un pH moins acide que l'eau utilisée en tant que lixiviant pour ces essais ( $\text{pH}_{\text{eau de mer}} = 8,1$  contre  $\text{pH}_{\text{lixiviant}} = 5-6$  pour l'eau utilisée dans ces essais), la composition chimique de l'eau de mer, riche en minéraux et sels peut, sous certaines conditions, entraîner des déstabilisations des phases hydratées contenues dans les matrices cimentaires et conduire à des relargages en espèces cationiques en solution. Les expériences et résultats portant sur ces essais de lixiviations en eau de mer seront détaillées et décrits dans le **Chapitre 3**.

#### 1.2.5.2. Secteurs de valorisation

En 2020, plus de 50% des déchets inertes ont été valorisés dans le cadre de réaménagement de carrières ou sous forme recyclés en tant que matériaux alternatifs pour la construction (130). Les granulats recyclés sont également utilisés pour le remblaiement de tranchées techniques ou bien en sous couches routières. Dans une moindre mesure, les gravillons recyclés peuvent être utilisés en substitution aux granulats naturels pour le béton prêt à l'emploi [NF EN 206+A2/CN, béton spécification production et conformité, complément national à la norme NF EN 206+A2 (131)].

Outre le milieu terrestre, la valorisation de granulats recyclés dans le cadre de travaux côtiers ou plus généralement, dans des zones soumises aux embruns marins, reste limitée voire quasi-absente. Ce constat peut s'expliquer selon deux hypothèses : le recyclage et la valorisation relativement récente des déchets inertes sous forme de granulats recyclés et la méconnaissance des propriétés physico-chimiques de ce matériau en milieu marin. À ce titre, nous étudions dans ces travaux de thèse la réactivité des granulats recyclés, plus particulièrement les matériaux à matrice cimentaire (Rc), dans l'eau de mer naturelle (**Chapitre 3**). Les résultats expérimentaux devraient permettre ainsi d'apporter une visibilité sur leur comportement à la lixiviation en milieu marin au niveau de la composition de l'eau de mer pour pouvoir ensuite les cimenter par un dépôt calcomagnésien afin de former des concrétions calcomagnésiennes. L'autre aspect consiste également à étudier le comportement des GR à la lixiviation en milieu marin pour évaluer leur effet sur la microflore bactérienne environnante susceptible d'intervenir dans la formation de ces concrétions calcomagnésiennes (bactéries biocalcifiantes).

### 1.3. Les bactéries marines biocalcifiantes

Chez les organismes vivants, le processus de biominéralisation conduit, selon différents mécanismes, à la précipitation de biominéraux, le plus abondant étant le carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ). Au sein des microorganismes, les bactéries se positionnent en première place dans la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . Les mécanismes impliqués dans le phénomène de biocalcification des bactéries sont généralement le résultat de réactions métaboliques. Parmi elles, l'hydrolyse de l'urée catalysée par l'enzyme uréase et l'interconversion du  $\text{CO}_2$  en  $\text{HCO}_3^-$  par l'anhydrase carbonique (AC) font partie des voies métaboliques les plus connues. Bien que l'hydrolyse de l'urée représente le processus le plus productif en  $\text{CaCO}_3$ , elle nécessite un apport supplémentaire en urée et conduit à la libération d'ammoniaque ( $\text{NH}_3$ ), composé néfaste pour les organismes aquatiques et la santé humaine. En revanche, l'intérêt d'étudier et de comprendre le rôle de l'anhydrase carbonique sur la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  est double puisque ce métabolisme permettrait d'une part, d'éviter les impacts toxiques de l'ammoniac sur l'environnement marin et d'autre part, de contribuer au piégeage du  $\text{CO}_2$  via son interconversion en  $\text{HCO}_3^-$ .

Les bactéries marines biocalcifiantes et leur rôle dans la précipitation du  $\text{CaCO}_3$  ont été jusqu'à présent peu étudiés à part les travaux récents de J. Vincent (219) qui ont permis d'isoler 14 souches bactériennes issues d'un dépôt calcomagnésien, de l'eau de mer de la vase marine (voir § 1.3.3). Dans le cadre de ces travaux de thèse, la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  par voie microbienne, en particulier par les bactéries marines, est explorée au niveau de son rôle dans les premières étapes de la précipitation du dépôt calcomagnésien. Ces travaux s'inscrivant dans un contexte environnemental de piégeage du  $\text{CO}_2$ , nous nous intéressons tout particulièrement à la voie métabolique impliquant l'interconversion enzymatique du  $\text{CO}_2$  par l'AC.

#### 1.3.1. La biominéralisation

La biominéralisation est un processus physiologique largement employé par les organismes vivants pour former leur squelette interne ou externe. Que cela soit sous la forme de carbonates, de phosphates ou encore de silicates, les structures minéralisées engendrées par la biominéralisation sont intimement liées à l'activité biologique des organismes à partir desquels elles se forment (132–135). Les mécanismes biologiques impliqués dans ce processus sont généralement de nature contrôlée ou induite.

La minéralisation biologiquement contrôlée (MBC) implique que les organismes contrôlent le site de nucléation, la composition, la localisation et la morphologie des biominéraux conduisant ainsi à la formation de structures aux fonctions bien spécifiques telles que les dents, les os ou la coquille (136). Ce type de minéralisation se distingue par une association du minéral avec une matrice organique (protéines, lipides, polysaccharides...) (137) contrôlant la nucléation et la croissance des cristaux des biominéraux.

Par opposition, la minéralisation biologiquement induite (MBI) provoque une précipitation indirecte des biominéraux. En effet, la précipitation d'un minéral inorganique résulte dans ce cas de l'interaction entre le métabolisme de l'organisme et son environnement (138). La formation de biominéraux de façon induite est dépendante et sensible aux conditions environnementales dans lesquelles se trouve l'organisme (139). La MBI est apparue très tôt (plusieurs milliards d'années) avec l'apparition des fameux stromatolithes (roches cimentées de sédiments marins) (140,141). Elle se rencontre essentiellement chez les bactéries, en particulier les cyanobactéries photosynthétiques (142,143), mais aussi chez des algues brunes et vertes (144) et certains mollusques (*i.e.* bec du Nautilé) (145).

Le carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) est le biominéral le plus abondant induit par la biominéralisation. La précipitation spécifique du  $\text{CaCO}_3$  de façon contrôlée (MBC) se fait essentiellement chez les macroorganismes eucaryotes, alors que la précipitation induite (MBI) du  $\text{CaCO}_3$  a lieu essentiellement chez les procaryotes (bactéries et archées) (146). Ce type de biominéralisation est appelé communément la biocalcification, ou précipitation de  $\text{CaCO}_3$  induite biologiquement. La biocalcification réalisée par les bactéries marines est influencée par plusieurs paramètres : le nombre de sites de nucléation disponibles sur la paroi cellulaire (c'est-à-dire des lieux de cristallisation primaire de la phase solide du minéral), le pH, la concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  et la teneur en  $\text{CO}_3^{2-}$  dans le milieu environnant (l'eau de mer), dépendant notamment du  $\text{CO}_2$  dissous (147).

### 1.3.2. Bio-précipitation de $\text{CaCO}_3$ chez les bactéries

La formation des carbonates chez les bactéries, ou carbonatogénèse bactérienne, peut se faire à partir de deux sources de carbones :

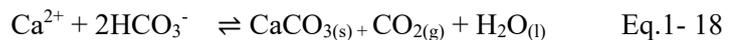
- le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ), c'est-à-dire le carbone d'origine minérale ; on parle ainsi de bactéries autotrophes c'est-à-dire qu'elles sont capables de fabriquer elles-mêmes leur propre matière organique ;
- la matière organique préexistante ; on parle de bactéries hétérotrophes qui par opposition avec les bactéries autotrophes sont dans l'incapacité de synthétiser elles-mêmes leur matière organique et ont recours à des constituants organiques déjà préformés dans l'environnement.

Les voies métaboliques mises en jeu par les bactéries autotrophes pour précipiter le carbonate de calcium sont multiples (148,149) :

- La méthanogénèse non méthylotrophe, une réaction anaérobie qui consiste à produire du méthane ( $\text{CH}_4$ ) à partir du dihydrogène ( $\text{H}_2$ ) et du dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) présents dans l'environnement. Cela concerne essentiellement les archées méthanogènes (150) ;
- La photosynthèse oxygénique réalisée par les cyanobactéries dont le processus consiste à fixer le  $\text{CO}_2$  en hydrates de carbone (sucres) et libérer du dioxygène ( $\text{O}_2$ ) par absorption de l'énergie de la lumière et oxydation de l'eau ;

- La photosynthèse anoxygénique qui se résume à l'utilisation de composés soufrés tels que le sulfure d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{S}$ ), le thiosulfate ( $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ), via des pigments photosynthétiques, en tant que donneurs d'électrons (au lieu de l'eau) pour fixer le  $\text{CO}_2$ . Les bactéries pourpres ou vertes, sulfureuses ou non, sont concernées par ce mécanisme (151).

L'ensemble de ces voies métaboliques impliquent la consommation directe de  $\text{CO}_2$  dissous provenant, entre autres, de l'atmosphère ou de la respiration, pour précipiter le  $\text{CaCO}_3$ . L'utilisation du  $\text{CO}_2$  entraîne une diminution de la pression partielle et conduit à un déplacement de l'équilibre calco-carbonique vers la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ , en présence d'ions calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), selon la réaction suivante (Eq.1-18) (152) :



Concernant les bactéries hétérotrophes, la biocalcification résulte de l'utilisation de la matière organique. Elle peut être active ou passive. La précipitation active mise en jeu par des bactéries aérobies hétérotrophes résulte d'échanges membranaires, en particulier au niveau des pompes à calcium. Ces bactéries produisent des ions carbonates  $\text{CO}_3^{2-}$  qui vont venir s'associer aux ions  $\text{Ca}^{2+}$  transitant dans la membrane bactérienne pour former du  $\text{CaCO}_3$  (153). À l'inverse, la précipitation passive découle d'une alcalinisation du milieu induite par certaines voies métaboliques, qui conduit à la production d'ions carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) et d'hydrogénocarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) favorisant la précipitation de carbonate de calcium (148,152,154,155). Les voies métaboliques employées par ces organismes hétérotrophes sont souvent impliquées dans le cycle du soufre et de l'azote (152) comme les voies de dégradation de l'urée ou l'acide urique catalysée par l'enzyme uréase (156). L'interconversion du  $\text{CO}_2$  en  $\text{HCO}_3^-$ , catalysée par l'enzyme anhydrase carbonique (AC), est une autre voie métabolique souvent mise aussi en avant dans la production de  $\text{CaCO}_3$ . Ces mécanismes enzymatiques sont illustrés dans la **Figure 1-23**.

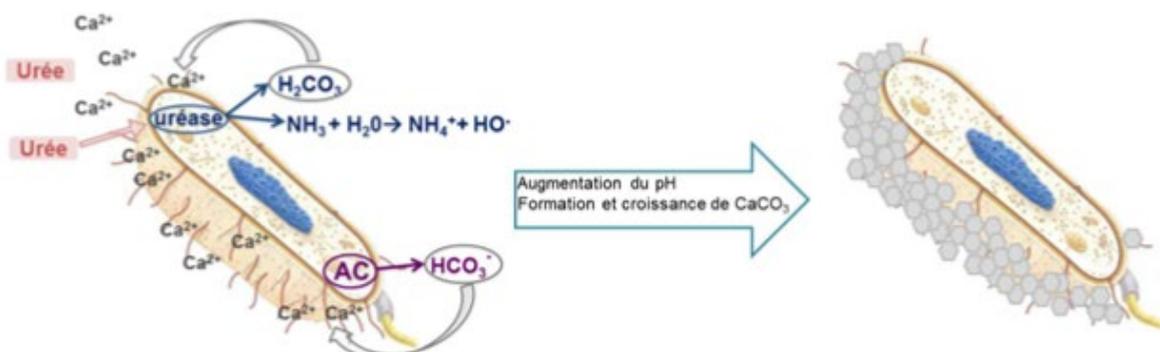


Figure 1- 23 : Schéma résumant le processus de biocalcification bactérienne. AC = Anhydrase carbonique (157).

Les formes allotropiques du CaCO<sub>3</sub> majoritairement retrouvées dans le cadre de la biocalcification bactérienne induite sont le carbonate de calcium amorphe (CCA), la calcite, la calcite magnésienne et l'aragonite (147,158). L'hydrolyse de l'urée ainsi que l'interconversion du CO<sub>2</sub> et du HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> conduisent essentiellement à la formation de la calcite bien qu'en milieu marin ou fortement salinisé, le magnésium présent en solution peut venir s'insérer dans sa structure pour former de la calcite magnésienne (159). L'aragonite peut également être mise en évidence suite à l'action de ces métabolismes bactériens (159–163).

### 1.3.2.1. Principales voies enzymatiques impliquées dans le processus de biocalcification induite par les bactéries (MBI)

#### 1.3.2.1.1. L'hydrolyse de l'urée

Chez les bactéries hétérotrophes, l'hydrolyse de l'urée (H<sub>2</sub>N-CO-NH<sub>2</sub>) est le métabolisme le plus fréquemment retrouvé dans l'environnement naturel, mais aussi le plus étudié et utilisé pour la biocalcification bactérienne en raison de sa production élevée en CaCO<sub>3</sub> (164,165).

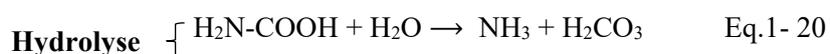
La précipitation de CaCO<sub>3</sub> interagissant avec le cycle biogéochimique de l'azote est largement répandue et étudiée notamment via les mécanismes de dégradation de l'urée ou de l'acide urique. En effet, ces deux composés azotés sont considérés comme des déchets de l'organisme chez les espèces urotéliques comme les mammifères. Leur dégradation par les bactéries, catalysée par l'enzyme uréase (présente chez certaines bactéries), se traduit par la transformation de l'urée en dioxyde de carbone et ammoniac aboutissant finalement à la production de CaCO<sub>3</sub> (156).

L'enzyme uréase est une métalloenzyme qui a pour rôle de catalyser la réaction d'hydrolyse de l'urée. Elle se rencontre chez de nombreuses bactéries uréolytiques hétérotrophes dont la plus connue, parmi les bactéries biocalcifiantes, est la bactérie d'origine terrestre *Sporosarcina pasteurii* (166). L'activité de l'uréase est fortement dépendante du pH. Elle s'active généralement pour des valeurs comprises entre 4,5 et 10 et atteint son optimum à pH 7-8 (167).

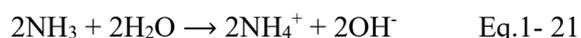
L'hydrolyse de l'urée catalysée par l'enzyme uréase se traduit, au niveau intracellulaire, par la formation de carbamate (H<sub>2</sub>N-COOH) et d'ammoniac (NH<sub>3</sub>) en condition stœchiométrique (Eq.1-19)(156,167).

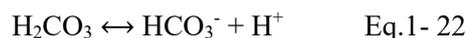


À l'extérieur de la cellule, le carbamate est hydrolysé spontanément en présence d'eau, ce qui produit de l'acide carbonique (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) et de l'ammoniac supplémentaire (Eq.1-20).

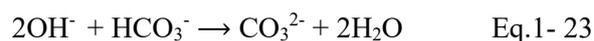


En s'équilibrant dans l'eau, ces produits amènent à la formation d'ions bicarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), des ions ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) et des ions hydroxyde (OH<sup>-</sup>) (Eq.1-21 et Eq.1-22).





Les ions  $\text{OH}^-$  réagissent avec les ions bicarbonate ce qui conduit à la production d'ions carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) selon l'Eq.1-23 (168,169). Les ions calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), présents dans l'environnement et/ou issus du métabolisme bactérien, se lient au niveau des sites de nucléation présents à la surface de la paroi cellulaire chargée négativement, formant ainsi un complexe Cellule- $\text{Ca}^{2+}$  (170) (Figure 1-24.A). Les ions  $\text{CO}_3^{2-}$  formés précédemment viennent se lier avec les ions calcium pour finalement précipiter sous la forme de  $\text{CaCO}_3$  (Figure 1-24.B) (Eq.1-24) (171).



La précipitation de  $\text{CaCO}_3$ , principalement sous la forme de calcite, forme une couche autour de la cellule, qui augmente jusqu'à la consommation complète des ions carbonate (172). L'observation au microscope présentée sur Figure 1-24.C permet de visualiser la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  autour d'une cellule bactérienne.

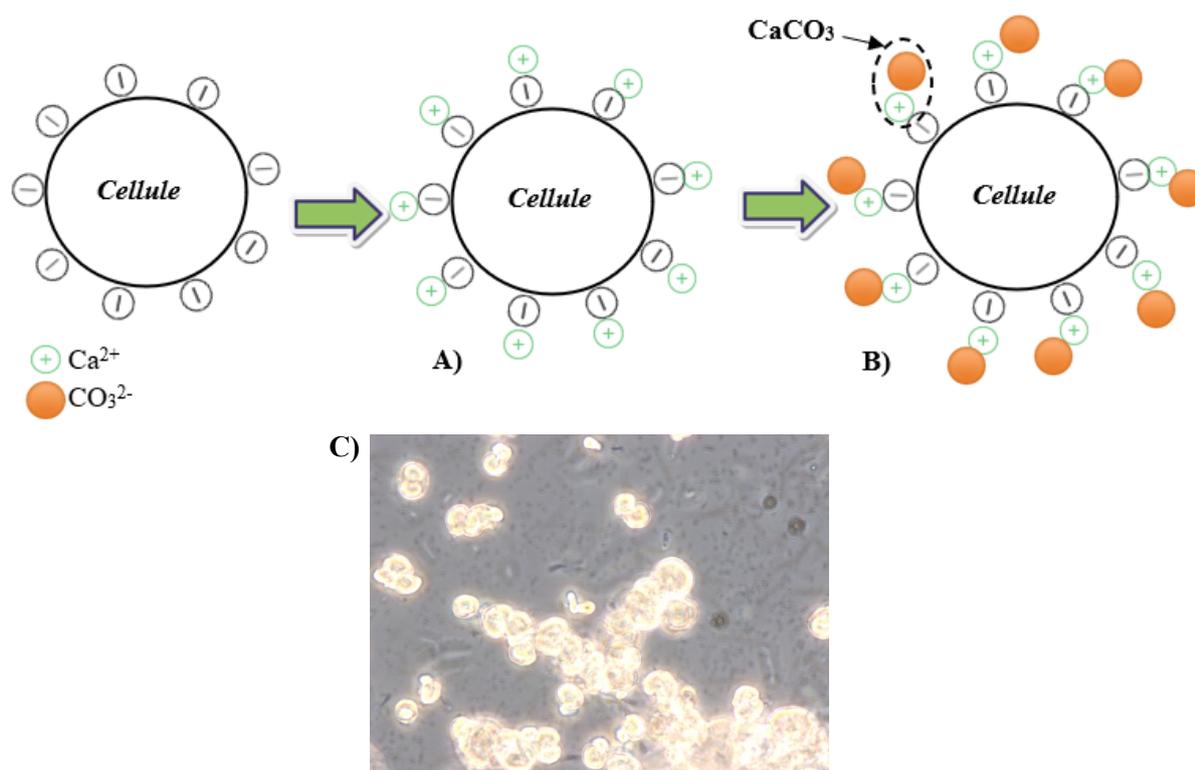


Figure 1- 24 : Précipitation de  $\text{CaCO}_3$  à la surface d'une cellule bactérienne chargée négativement. A) formation d'un complexe Cellule- $\text{Ca}^{2+}$  puis B) précipitation de  $\text{CaCO}_3$  par association des ions  $\text{CO}_3^{2-}$  autour de la cellule bactérienne. C) Bactéries *Sporosarcina Pasteurii* DSM33 entourées d'une gangue de  $\text{CaCO}_3$ , observées au microscope optique (grossissement x 1000) [Photo Margaux Macaud, 2017].

Si l'efficacité de ce métabolisme dans la biocalcification a largement été prouvée pour la souche terrestre *Sporosarcina pasteurii*, les études sont plus restreintes chez les bactéries marines. Nous pouvons toutefois citer l'étude menée par Imran *et al.* (173) où la quantité de  $\text{CaCO}_3$  bio-précipitée dans la

formation de bio-briques (pour 16 mL de solution de culture bactérienne (*ZoBell2216E*) et 20 mL de solution de consolidation (urée, CaCl<sub>2</sub>, bouillon nutritif, NH<sub>4</sub>Cl, NaHCO<sub>3</sub>) par les espèces marines *Micrococcus*, *Pseudoalteromonas* et *Virgibacillus*, se situe entre 0,6 et 0,14g au bout de 21 jours, pour une concentration bactérienne croissante allant de OD<sub>600</sub>=0,1 à 1,5. Les souches bactériennes *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus epidermidis*, isolées de sédiments marins et d'algues, ont montré également une précipitation élevée de CaCO<sub>3</sub>, respectivement de 40 et 36% (par rapport à leur production d'uréase) (174).

Bien que largement utilisée dans de nombreux domaines (stabilisation des sols, restauration de monuments, élimination de métaux lourds...), la biocalcification par l'hydrolyse de l'urée présente des inconvénients non négligeables sur l'environnement et son application en conditions réelles. L'ammoniaque libéré est un composé ayant une odeur désagréable et toxique pour la santé humaine ainsi que pour les organismes aquatiques [FDS- 18040-59915-25066-019035, 2017] (175,176). En raison de sa forte solubilité dans l'eau et son effet nocif pour l'environnement marin, la libération d'ammoniaque induit par l'hydrolyse de l'urée constitue un risque environnemental conséquent. L'application de l'hydrolyse de l'urée en condition réelle c'est-à-dire directement en contact avec l'environnement marin et les écosystèmes présents semble compromis. Par ailleurs, cette voie enzymatique nécessite un apport en urée largement supérieur à la quantité contenue dans l'eau de mer (0,1 µatg(atome-gramme)-N-urée/L d'eau de mer au large et 0,3 à 0,4µatg-N-urée/L d'eau de mer près des côtes françaises, contre 20g/L d'urée pour le mécanisme biologique) (177). Ainsi, pour favoriser cette voie métabolique, un apport substantiel d'urée dans l'environnement marin serait requis.

#### 1.3.2.1.2. L'interconversion du CO<sub>2</sub> en HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>

L'interconversion du CO<sub>2</sub> en HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> peut compléter ou se combiner à l'hydrolyse de l'urée. Cette voie métabolique est catalysée par l'anhydrase carbonique, une métalloenzyme à base de zinc au niveau de son site actif (EZn<sup>2+</sup>). Cette enzyme joue un rôle catalytique dans la réaction réversible du CO<sub>2</sub> et du HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (**Eq.1-25**) (178,179).



L'anhydrase carbonique, découverte depuis un peu moins d'un siècle, est une enzyme généralement retrouvée dans les tissus des mammifères, les plantes, les algues vertes unicellulaires mais aussi chez les bactéries. Elle participe à plusieurs processus biologiques aussi bien chez les eucaryotes que chez les procaryotes, comme la régulation du pH des cellules, le transport ionique et le transport du CO<sub>2</sub>, la photosynthèse ou encore la respiration (180,181). Cette enzyme contribue également à l'équilibre acide-base (180,181). Trois principales classes distinctes d'anhydrase carbonique ont été identifiées chez les procaryotes (bactéries et archées) : α, β et γ (182). Les deux dernières classes β et γ sont majoritaires dans les domaines *Bacteria* (bactéries) et *Archaea* (archées), la classe β est majoritaire dans les

chloroplastes des algues et des plantes alors que la classe  $\alpha$  se rencontre au niveau des isoenzymes des mammifères.

En condition normale, l'hydratation du  $\text{CO}_2$  est lente avec un coefficient de conversion de seulement 0,13 par seconde (183) alors qu'en présence de l'AC, ce coefficient est multiplié par  $10^7$ , atteignant un coefficient de conversion de  $1,0 \cdot 10^6$  par seconde (184). Cependant, l'activité de l'AC est affectée par plusieurs facteurs tels que la température, les valeurs de pH ou encore la concentration en ions calcium (185–187). Zheng *et al.* (188) ont étudié certains de ces paramètres sur la croissance bactérienne et l'activité de l'AC contenue chez une bactérie de type *Bacillus mucilaginosus* (GLRT202Ca) dans le cadre de la précipitation du  $\text{CaCO}_3$ . Ils ont observé que la température est un paramètre essentiel dans la croissance de la bactérie ainsi que sur l'activité de l'AC. À des basses températures ( $<5^\circ\text{C}$ ), l'activité de l'AC est absente et la bactérie croît difficilement. Une augmentation de la température conduit à un accroissement de l'activité de l'AC et contribue à la croissance bactérienne. Une température de culture fixée à  $30^\circ\text{C}$  permet d'atteindre un seuil optimal de l'activité enzymatique. Au-delà de  $35^\circ\text{C}$ , l'activité de l'enzyme décroît bien que la croissance bactérienne atteint son optimal. Cet effet de la température a par ailleurs été observé par Sharma *et al.* (189) où ils constatent une nette diminution de la stabilité et de l'activité enzymatique de l'AC issue de quatre souches bactériennes isolées (*E.gergoviae*, *A. hydrophila*, *A.caviae* et *E.taylorae*) à partir de  $40^\circ\text{C}$ . En ce qui concerne le pH, ces auteurs (188,189) ont observé que l'activité de l'AC est sérieusement affectée pour des valeurs très alcalines ( $> 9,5$ ). La **Figure 1-25**, tirée des résultats de l'étude menée par Zheng *et al.* (188), présente l'évolution de l'activité de l'AC en fonction du pH et de la concentration en  $\text{Ca}^{2+}$ .

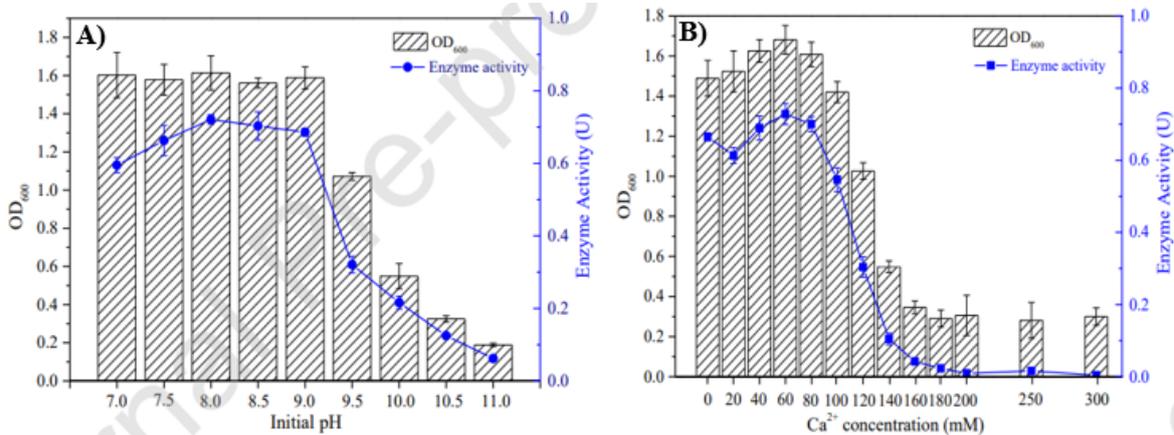
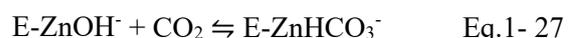
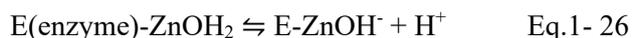


Figure 1- 25 : A) Effet de différentes valeurs de pH initiales sur la croissance et l'activité enzymatique de l'anhydrase carbonique chez une bactérie *Bacillus mucilaginosus*. Les pH initiaux étaient de 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, et 11. B) Effet de la concentration de  $\text{Ca}^{2+}$  sur la croissance et l'activité enzymatique de l'AC chez la bactérie. La concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  a été ajustée de 20 mM de 0 à 200 mM et de 50 mM sur la plage 200-300 mM (188). L'activité de l'AC est mesurée par colorimétrie via l'absorbance  $\text{DO}_{600}$  du *p*-nitrophénol (protocole issu de (190)). En présence de l'enzyme AC, l'hydratation de *p*-nitrophenyl-acétate en *p*-nitrophénol et acétate, produit une coloration jaune dont l'opacité dépend de l'activité de l'enzyme.

Les valeurs de pH optimales pour la croissance et l'activité enzymatique sont comprises entre 7 et 9 (**Figure 1-25.A**). La teneur en ions  $\text{Ca}^{2+}$  a de même été étudiée vis-à-vis de l'activité de l'AC (**Figure 1-25.B**). Entre 0 et 100 mM de  $\text{Ca}^{2+}$ , l'activité enzymatique et la croissance bactérienne ne semblent pas perturbées. 60 mM de  $\text{Ca}^{2+}$  correspond à la teneur où l'activité de l'AC et la croissance bactérienne sont optimales. Le temps d'incubation est un paramètre essentiel dans la croissance et l'activité de l'enzyme. Sharma *et al.* (189) remarquent que la croissance des souches bactériennes atteint un optimum entre cinq et six jours d'incubation dans du bouillon nutritif à 37°C et pH =7,5.

Plusieurs études ont montré que l'AC sécrétée par les cellules de sang des bovins et certaines bactéries du genre *Bacillus* pourrait favoriser la cristallisation du carbonate de calcium (182, 190). Bien que les facteurs influençant cette minéralisation, à savoir les sources de nutriments ou les conditions opératoires, ont été largement investigués (192,193), les mécanismes de précipitation du  $\text{CaCO}_3$  induit par l'AC n'ont jusqu'alors pas pu être établis. L'étape limitante affectant la production de  $\text{CaCO}_3$  est principalement l'hydratation du  $\text{CO}_2$  en  $\text{H}_2\text{CO}_3$ . À partir d'une étude réalisée sur l'activité enzymatique de l'AC, Zheng *et al.* (188) ont proposé des mécanismes fonctionnels de l'enzyme chez les bactéries hétérotrophes du genre *Bacillus*, dans le cadre de la biocalcification. Ces mécanismes enzymatiques sont les suivants (**Eq.1-26**, **Eq.1-27** et **Eq.1-28**) :



Une fois l'enzyme AC (E-En) sécrétée par la cellule bactérienne, elle va former un complexe au niveau de son site actif  $\text{Zn}^{2+}$  avec l'eau présente dans le milieu environnant (**Eq.1-26**). Cette association va induire une déprotonation de la molécule d'eau, libérant des protons ( $\text{H}^+$ ), et permettant au  $\text{CO}_2$  de s'adsorber temporairement à l'enzyme sous sa forme ionisée  $\text{HCO}_3^-$  (**Eq.1-27**), avant de se libérer en solution sous cette même forme ionique (**Eq.1-28**). En milieu alcalin, les ions bicarbonate vont s'ioniser de nouveau pour former les ions carbonate (**Eq.1-23**). Comme pour l'hydrolyse de l'urée, ces ions carbonate vont venir se lier aux ions calcium pour former le  $\text{CaCO}_3$  (**Eq.1-24**).

Chez les bactéries marines, une récente étude réalisée par Abdelsamad *et al.* (194) sur la mise en évidence du rôle de l'AC sur la formation de  $\text{CaCO}_3$  chez les espèces marines *Vibrio alginolyticus*, *Exiguobacterium arantiacum*, *Psychrobacter* (isolées à partir de sédiments marins) et *Virgibacillus* (isolée à partir d'un environnement supratidal), a établi une corrélation entre la formation de  $\text{CaCO}_3$  et les activités spécifiques intracellulaires en estérases et en hydratases de l'AC. Dans cette étude, les espèces *Vibrio alginolyticus*, *Psychrobacter* et *Virgibacillus* se sont montrées particulièrement performantes dans la production de  $\text{CaCO}_3$ , sous la forme de calcite magnésienne et de monohydrocalcite, au bout de 20 jours d'incubation. A ce titre, les résultats obtenus ont indiqué que les souches formant des minéraux ont des activités estérases et hydratases significativement plus élevées que les souches ne formant pas de minéraux. De même, *Virgibacillus*, dont la performance a été la plus

élevée, a enregistré des activités d'hydratation intracellulaires et extracellulaires les plus élevées par rapports aux autres souches étudiées. Le rôle des activités d'hydratation de l'AC dans la biominéralisation a d'ailleurs été soulevé par d'autres auteurs (195–197).

### 1.3.2.2. Facteurs influençant la formation de CaCO<sub>3</sub> bio-précipité

Plusieurs facteurs influencent la biocalcification par ces différentes voies métaboliques, à savoir le pH du milieu, la teneur en Ca<sup>2+</sup> et la disponibilité des sites de nucléation. La concentration en CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> étant intimement liée au pH du milieu et à l'équilibre calco-carbonique (détaillée dans le **Chapitre 1-1.1.2**), son influence sur la précipitation du CaCO<sub>3</sub> est indéniable et n'est pas développée ici.

#### 1.3.2.2.1. Le pH

Tant sur la croissance bactérienne que sur l'activité enzymatique, le pH représente un paramètre important à contrôler pour optimiser la précipitation du CaCO<sub>3</sub>. En effet, une étude réalisée par Stocks-Fisher *et al.* (198) sur la biocalcification induite par *Sporosarcina pasteurii* (anciennement *Bacillus pasteurii*) a montré l'effet du pH sur l'activité de l'uréase. Ils observent, comme montrée sur la **Figure 1-26.A**, que l'activité enzymatique croît rapidement jusqu'à atteindre une valeur optimale de pH à 8, puis décroît pour les valeurs les plus basiques.

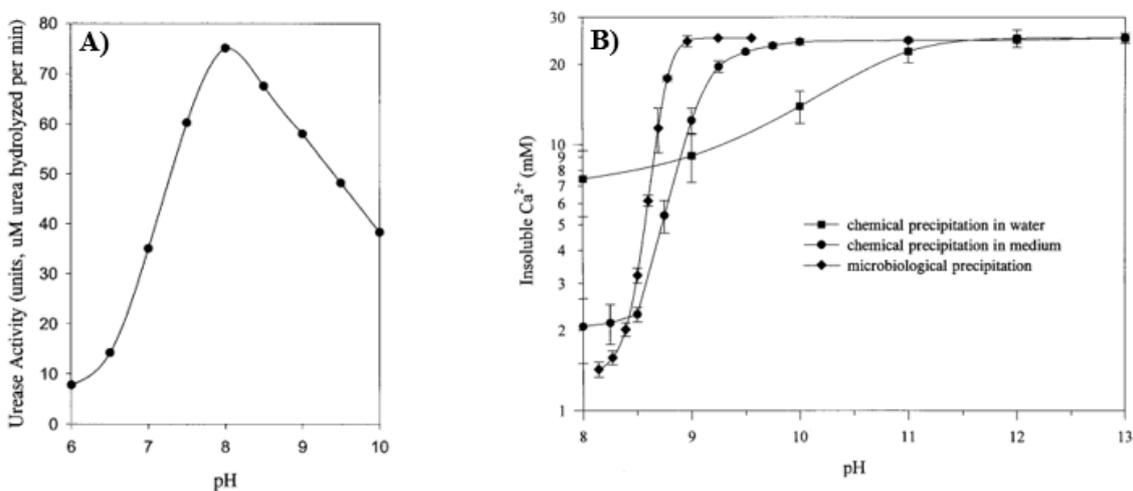


Figure 1- 26: A) Effet du pH sur l'activité de l'uréase extraite de *Sporosarcina pasteurii* et B) Relation entre le pH et la précipitation de CaCO<sub>3</sub> induit chimiquement et microbiologiquement. Toutes les expériences sont réalisées avec 25,2 mM de CaCl<sub>2</sub> et NaHCO<sub>3</sub> respectivement, à 25°C. Chaque point représente la moyenne des duplicats (198).

Par ailleurs, en comparant la quantité de CaCO<sub>3</sub> induite chimiquement et microbiologiquement, Stocks-Fisher *et al.* (198) montrent que sa précipitation est contrôlée par le pH et survient à partir de pH=8,3 quels que soient les mécanismes impliqués (sauf dans l'eau distillée) (**Figure 1-26.B**).

Quant à l'interconversion du CO<sub>2</sub> catalysée par l'AC, Wei Li *et al.* (199) ont étudié, à différentes teneurs en Ca<sup>2+</sup>, l'effet de l'enzyme issue de la bactérie *Bacillus cereus* sur la précipitation de CaCO<sub>3</sub>. La **Figure**

1-27, tirée de cette étude, montre qu'en présence de l'anhydrase carbonique, le pH augmente de manière constante régulièrement jusqu'à la fin de l'expérience (**Figure 1-27.B**) alors qu'en l'absence de cette enzyme, le pH augmente par fluctuation (**Figure 1-27.A**).

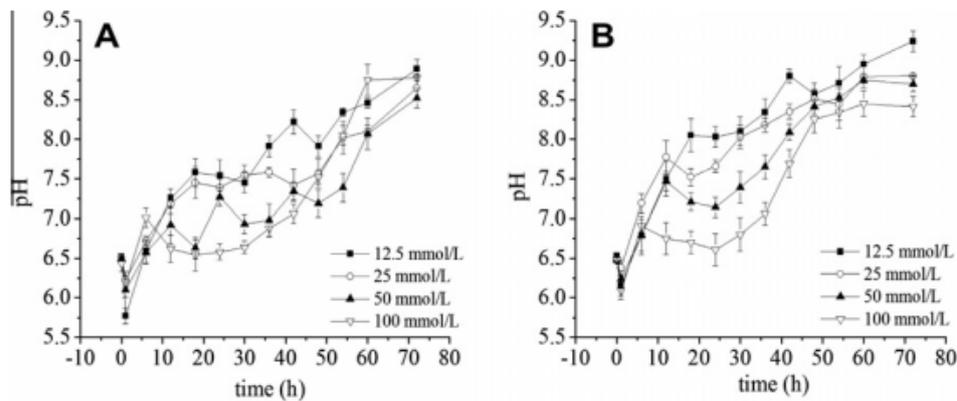


Figure 1- 27 : Variations du pH durant la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  à différentes concentrations de  $\text{Ca}^{2+}$  : A) sans AC et (B) avec AC (199).

Les auteurs justifient ce comportement par le potentiel régulateur de l'enzyme qui, dans le cadre de l'interconversion du  $\text{CO}_2$  et des  $\text{HCO}_3^-$ , peut venir contrôler et ajuster les concentrations de  $\text{CO}_2$  dissous, des ions bicarbonate et  $\text{H}^+$  au travers des échanges gazeux et de l'équilibre acide-base (200). Cet effet régulateur a notamment été observé et modélisé par Hulikova *et al.* (201) sur des cellules cancéreuses *in vitro* et *in situ* où ils montrent que l'activité de l'AC augmente avec le pH conduisant ainsi à un accroissement du taux d'hydratation du  $\text{CO}_2$  par cette enzyme. Cette augmentation du taux de l'hydratation du  $\text{CO}_2$ , toujours liée à des valeurs de pH élevées, s'accompagne de la production massive d'ions  $\text{H}^+$  ( $\text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$  Eq.1- 22) qui vont venir contrebalancer les ions  $\text{OH}^-$  en solution. À l'inverse, lorsque le pH diminue, l'activité de l'AC décline limitant ainsi la production d'ions  $\text{H}^+$  pour neutraliser les  $\text{OH}^-$  (201). Ces résultats rentrent en contradiction avec ceux de Zheng *et al.* (188) qui montrent que l'activité de l'AC diminue à partir de  $\text{pH}=9$ . Cette différence peut s'expliquer (i) d'une part en raison de l'origine de l'enzyme qui dans le cas d'Hulikova *et al.* (201) provient de cellules cancéreuses (organismes eucaryotes) alors que pour Zheng *et al.* (188), l'enzyme est directement issue d'une bactérie (organisme procaryote), et (ii) d'autre part par la méconnaissance des valeurs de pH observées dans l'étude de Hulikova *et al.* (201).

L'effet du pH sur la production et la stabilité de l'AC a par ailleurs été étudié par Sharma *et al.* (189). Cette étude réalisée sur quatre souches bactériennes (*A. caviae*, *E. gergoviae*, *E. taylorae* et *A. hydrophila*) a mis en évidence, pour des valeurs de pH allant de 7,5 à 9,5, que l'activité et la stabilité de l'enzyme diminuaient à mesure que le pH augmente. Pour l'ensemble des souches concernées, les valeurs de pH optimales sont comprises entre 8 et 8,5. Au-delà, l'activité et la stabilité des enzymes décroissent.

1.3.2.2.2. Influence de la concentration en ions  $\text{Ca}^{2+}$

La disponibilité des ions calcium en solution agit non seulement sur la production de  $\text{CaCO}_3$  mais aussi sur l'activité enzymatique. Les résultats obtenus par Wei Li *et al.* (199) dans la même étude que détaillée précédemment (cf. **Figure 1-27**) met en avant l'effet des ions  $\text{Ca}^{2+}$  sur la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . L'évolution de la concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  (12,5 à 100 mmol/L) se traduit par un ralentissement de l'augmentation du pH au cours du temps avec une phase de stabilisation entre 10 et 30h, d'autant plus marquée que la concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  est élevée. Ce plateau de pH peut témoigner de la précipitation du  $\text{CaCO}_3$ , dont le taux augmente avec la disponibilité des ions calcium. Une fois les ions  $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{CO}_3^{2-}$  consommés, le pH n'est plus contrôlé par la réaction et finit par réaugmenter. Le **Tableau 1-3** présente les constantes de précipitation du  $\text{CaCO}_3$  en fonction de la teneur en calcium, allant de 12,5 à 100 mmol/L, et complète la **Figure 1-27**.

Tableau 1- 3: Constante de précipitation du  $\text{CaCO}_3$  ( $k$ ) à différentes concentrations en  $\text{Ca}^{2+}$  en présence de l'AC ( $k_{CA}$ ) et sans AC ( $k_W$ ), dans l'eau (199).

Initial $\text{Ca}^{2+}$ concentration (mmol/L)	12.5	25	50	100
$K_{CA}$ ( $\times 10^{-2} \text{h}^{-1}$ )	6.27±0.52	8.65±0.45	14.25±0.78	10.52±0.72
$K_W$ ( $\times 10^{-2} \text{h}^{-1}$ )	4.58±0.13	4.80±0.18	7.02±0.58	8.62±0.61

Les résultats indiquent que le taux de précipitation de  $\text{CaCO}_3$  est amélioré avec l'augmentation de la concentration de  $\text{Ca}^{2+}$  en solution et que le rôle catalytique de l'AC est à son optimum à 50 mmol/L de  $\text{Ca}^{2+}$  en solution. Par ailleurs, il est possible d'observer que la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  est plus rapide avec l'enzyme que dans le témoin sans enzyme. À 100 mmol/L de  $\text{Ca}^{2+}$ , le taux de précipitation de  $\text{CaCO}_3$  décroît, passant de 0,014 à 0,011/h en présence de l'AC alors qu'il augmente sans l'AC. Ces données sont corrélées avec les résultats illustrés en **Figure 1-27**. En effet, bien que l'augmentation de la concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  notamment à 50 et 100 mmol/L, en présence de l'AC, entraîne une diminution visible du pH en solution, la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  est avantagée. La précipitation de  $\text{CaCO}_3$  catalysée par l'enzyme entraîne, par interconversion du  $\text{CO}_2$  et des  $\text{HCO}_3^-$ , la libération d'ions  $\text{H}^+$  dont la concentration est fonction du taux de précipitation du  $\text{CaCO}_3$  et qui pourrait conduire, par voie de conséquence, à une légère acidification du milieu (199). Néanmoins, pour des fortes teneurs en  $\text{Ca}^{2+}$ , comme ici à 100 mmol/L, la libération plus importante d'ions  $\text{H}^+$  pourrait inhiber l'hydratation du  $\text{CO}_2$  et ralentir la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . Ces résultats concordent avec les travaux de Zheng *et al.* (188) qui démontrent qu'à partir de 80 mM de  $\text{Ca}^{2+}$ , l'activité de l'AC diminue drastiquement.

En ce qui concerne l'hydrolyse de l'urée, plusieurs études ont montré que l'activité de l'uréase est certes améliorée en présence d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  mais qu'elle ne semble pas dépendre de sa concentration en solution pour la plupart des bactéries du genre *Bacillus* (147,202,203), à part peut-être pour *Bacillus pasteurii* (= *Sporosarcina pasteurii*).

Outre les ions  $\text{Ca}^{2+}$ , la concentration d'urée dans le milieu a un effet sur la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  par les bactéries uréolytiques. Okwadha et Li (193) ont montré que l'hydrolyse de l'urée dépend davantage de la concentration en cellules bactériennes que de la concentration initiale en urée mais que cette dernière influence la quantité de  $\text{CaCO}_3$  précipité. L'augmentation de la concentration en urée de 333 à 666 mmol/L s'est traduite par une plus grande quantité de  $\text{CaCO}_3$  produite par l'espèce *S. pasteurii*. De Muynck *et al.* (205,206) ont optimisé la concentration d'urée et de  $\text{Ca}^{2+}$  nécessaire pour la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  chez la souche *Bacillus sphaericus* et ont obtenu un bon compromis de 10g/L d'urée et 25g/L de  $\text{CaCl}_2$ . Hao *et al.* (204) ont montré que la concentration en urée avait un impact important sur les propriétés mécaniques d'un sable calcaire traité par MICP avec la souche *S. pasteurii* avec différentes concentrations en urée allant de 0,25 à 1,5 mol/L. La résistance à la compression de l'échantillon a augmenté puis diminué avec l'augmentation de la concentration en urée. Ils estiment une concentration optimale en urée de 1,0 mol/L.

En ce qui concerne la salinité, Rivadenevra *et al.* (207) ont étudié la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  par la souche *Nesterenkonia halobia* à différentes salinités (NaCl) dans le milieu et n'obtiennent pas de  $\text{CaCO}_3$  à une concentration en sel de 20%. Dans une autre étude (208), ces mêmes auteurs ont observé que le temps nécessaire à la précipitation du  $\text{CaCO}_3$  augmentait avec la concentration en sel.

#### 1.3.2.2.3. Les sites de nucléation

Au niveau de l'enveloppe cellulaire, les bactéries sont constituées d'une membrane cytoplasmique et d'une paroi cellulaire. Cette dernière est composée, chez les bactéries dites Gram positives (**Gram+**), d'une multicouche de peptidoglycane (environ 25 nm d'épaisseur) alors que les bactéries Gram négatives (**Gram-**) ne possèdent qu'une fine couche de peptidoglycane (environ 4 nm d'épaisseur) entourée d'une membrane externe (double couche de phospholipides contenant des lipopolysaccharides (LPS) sur la surface externe de la cellule) (**Figure 1-28**) (209).

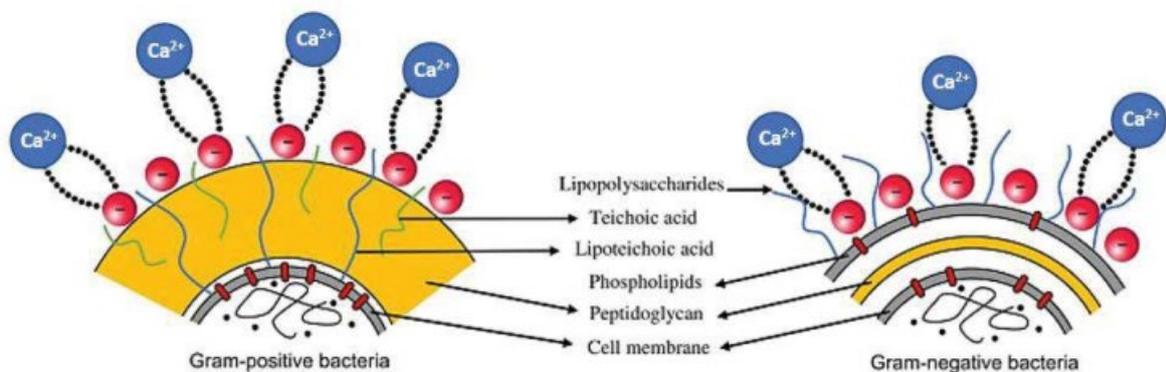


Figure 1- 28 : Enveloppe cellulaire des bactéries Gram positives et Gram négatives comprenant la membrane cytoplasmique et la paroi cellulaire, attirant des ions calcium en surface des cellules. Schéma extrait de (210).

Dans les deux cas, la surface cellulaire est chargée négativement. En raison de cette électronégativité, les ions  $\text{Ca}^{2+}$  peuvent venir interagir avec la paroi et ces zones constituent des sites de nucléation pour le  $\text{CaCO}_3$ . Néanmoins, la disponibilité de ces sites de nucléation varie en fonction du type d'enveloppe cellulaire des bactéries. En effet, chez les bactéries Gram-, la zone accessible pour les liaisons cationiques est réduite par rapport à celle des Gram+ (209). Par ailleurs, les ions calcium ne sont pas les seuls à venir se lier à la surface cellulaire. Les ions  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  et  $\text{Au}^{3+}$  entre autres peuvent former des liaisons cationiques.

Dans le cadre de la biocalcification induite, Stocks-Fischer *et al.* (198) estiment que la présence de nombreux sites de nucléation à la surface cellulaire n'est pas un facteur clé dans la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  puisque les bactéries se comportent elles-mêmes comme des sites de nucléation.

### 1.3.3. Applications de la bio-précipitation de $\text{CaCO}_3$

#### 1.3.3.1. Généralités

De nombreux domaines portent un intérêt particulier au phénomène de la biocalcification. Du génie civil au traitement des eaux usées, en passant par la dépollution de contaminants inorganiques, la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  par des microorganismes offre des avantages intéressants tant sur le plan économique qu'environnemental. La capacité de certaines bactéries à produire du  $\text{CaCO}_3$  est aujourd'hui considérée comme une solution alternative prometteuse dans la résolution de problèmes majeurs et actuels.

Les microorganismes peuvent être utilisés dans un contexte de bioremédiation des contaminants inorganiques, en éliminant, par précipitation de biominéraux, des composés tels que le strontium 90 ( $\text{Sr}^{2+}$ ) ( biominéraux  $90\text{SrCO}_3$ ) ou encore le  $\text{Ca}^{2+}$  afin de réduire le risque d'entartrage des pipelines (211).

Ces microorganismes biocalcifians peuvent également être employés pour améliorer la récupération du pétrole en colmatant les roches perméables (212) ou encore pour restaurer et protéger les monuments en pierre grâce à la création d'un « ciment biologique » (158). Ce « ciment biologique » qui correspond au  $\text{CaCO}_3$  est généralement induit par des bactéries uréolytiques comme *Sporosarcina pasteurii*, au niveau des fissures et des pores, ralentissant ou stoppant la détérioration du monument concerné (213–215).

Les ouvrages hydrauliques ainsi que les sols peuvent être renforcés par minéralisation bactérienne induite où la cimentation des grains par le  $\text{CaCO}_3$ , c'est-à-dire le remplissage des espaces intergranulaires des grains par le liant, permet d'améliorer leurs propriétés mécaniques et leur résistance à l'érosion, tout en réduisant légèrement leur perméabilité (216).

1.3.3.2. Focus sur la formation de bio-briques pour la limitation de l'érosion côtière

L'utilisation de la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  pour la consolidation des sols granulaires est également répandue. Dans un contexte d'érosion du littoral, plusieurs études se sont intéressées à l'utilisation de la minéralisation bactérienne induite (MBI), notamment via l'hydrolyse de l'urée, pour former des beachrock (grès de plage) ou des récifs artificiels visant à consolider les côtes (173,217,218). Les souches bactériennes uréolytiques utilisées dans ces études ont été isolées à partir de prélèvements de beachrock retrouvés sur les côtes du Japon et de la Grèce. Dans des colonnes de cémentation (structure géotechnique faisant intervenir des processus biologiques visant à la consolidation des sols) contenant du sable d'une granulométrie inférieure à 2 mm (**Figure 1-29.A**), des bactéries uréolytiques marines (*Pararhodobacter* sp.) ont été injectées puis l'ensemble est conservé pendant 28 jours à température ambiante (218). Une solution composée de  $\text{CaCl}_2$  et d'urée est injectée chaque jour. À la fin de l'expérience, des bio-briques solides d'environ 10 cm de long ont été obtenues (**Figure 1-29.B**).

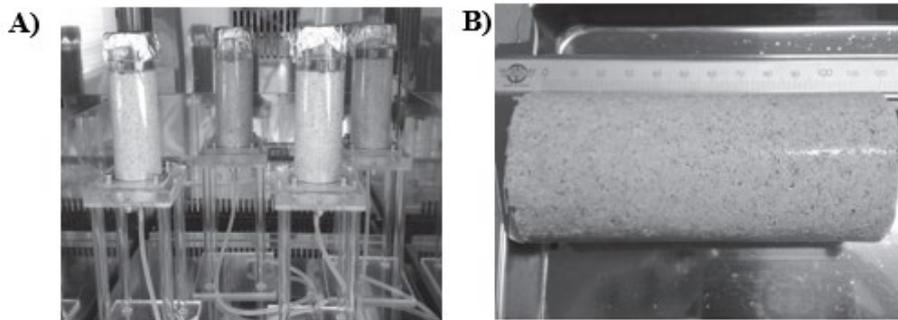


Figure 1- 29 : A) Colonne test de cémentation et B) bio-brique obtenue après 28 jours d'expérience (217)

Danjo *et al.* (218) ont observé la présence de  $\text{CaCO}_3$  entre les grains de sable. En présence de  $\text{Mg}^{2+}$ , le  $\text{CaCO}_3$  était sous la forme d'aragonite alors qu'en absence de  $\text{Mg}^{2+}$ , la calcite était majoritaire.

Plus récemment, dans le cadre de la thèse de Julia Vincent (219), 14 souches bactériennes marines biocalcifiantes ont été isolées à partir d'un dépôt calcomagnésien formé par polarisation cathodique dans le port de plaisance de La Rochelle (Océan Atlantique). L'ensemble des souches possède l'enzyme anhydrase carbonique et seulement six souches contiennent l'enzyme uréase (220). Elles sont présentées dans le Tableau 1-4.

Tableau 1- 4 : Souches utilisées dans les travaux de Vincent (219). \* = souches possédant l'enzyme uréase (uréase positive) et l'enzyme anhydrase carbonique (anhydrase carbonique positive) et \*\*= souches ne possédant pas l'enzyme uréase (uréase négative) mais possèdent l'enzyme anhydrase carbonique.

Appellation Souches	Caractéristiques mEDMN+ranaires	Espèces
CD1*	Gram-	<i>Epibacterium mobile</i>
CD2**	Gram+	<i>Bhargavaea ginsengi</i>
CD3**	Gram-	<i>Pseudidiomarina maritima</i>
CD4**	Gram-	<i>Epibacterium mobile</i>
CD5**	Gram-	<i>Epibacterium mobile</i>
CD6*	Gram+	<i>Virgibacillus Halodenitrificans</i>
CD7**	Gram+	<i>Bhargavaea beijingensis</i>
CD8**	Gram+	<i>Planococcus maritimus</i>
CD9*	Gram-	<i>Pseudoalteromonas</i>
CD10*	Gram-	<i>Pseudoalteromonas</i>
MD1*	Gram-	<i>Pseudoalteromonas</i>
SW1**	Gram-	<i>Pseudoalteromonas</i>
SW2*	Gram-	<i>Pseudoalteromonas</i>
SW3**	Gram-	<i>Pseudoalteromonas</i>

Avant d'envisager l'utilisation des souches pour la consolidation d'un sable, Vincent (219) s'est dans un premier temps intéressée à leur capacité à bio-précipitation du  $\text{CaCO}_3$ . Parmi les souches uréase positive (Gram+), la souche *Virgibacillus halodenitrificans* CD6 s'est montrée la plus efficace dans la production de  $\text{CaCO}_3$ , elle possède notamment l'activité uréase la plus intense. En présence d'urée, elle induit un taux élevé de  $\text{CaCO}_3$  de l'ordre de 5 mg/mL de  $\text{CaCO}_3$  en l'espace de 7 jours, comparable à celui obtenu par *Sporosarcina pasteurii* DSM33 (5,3 mg/mL) (4). *Sporosarcina pasteurii* est une souche uréolytique efficace, d'origine terrestre, largement étudiée dans les mécanismes de production de  $\text{CaCO}_3$  et dans diverses applications de biominéralisation (5–7). La souche CD10 compte parmi celles induisant le plus de  $\text{CaCO}_3$  chez les bactéries marines Gram négative étudiées. Dans les cas des souches uréases négatives, CD8 (Gram+) a produit environ 1,5 mg/mL de  $\text{CaCO}_3$  en 7 jours d'incubation en milieu Marine Broth (MB) en l'absence d'urée tandis que la souche CD4 (Gram-) a produit 0,5 mg/mL. Vincent (219) observe également qu'un enrichissement du milieu de culture en  $\text{CaCl}_2$  et en urée a permis d'augmenter la production de  $\text{CaCO}_3$ .

La formation de bio-briques a été menée, sur 30 jours, en utilisant les bactéries marines biocalcifiantes (souches utilisées CD1 à CD10), un sable sablo-calcaire de granulométrie inférieure à 4 mm, ainsi qu'une solution de cimentation à base de bouillon nutritif (BN), supplémentée de  $\text{CaCl}_2$  et d'urée (219,220). Un schéma du dispositif expérimental ainsi que quelques exemples d'agglomérats sablo-calcaires formés par les espèces *Epibacterium mobile* (appellation CD4), *Virgibacillus Halodenitrificans* (CD6), *Planoccus maritimus* (CD8) et *Pseudoalteromonas* (CD10) sont présentés sur la **Figure 1-30**.

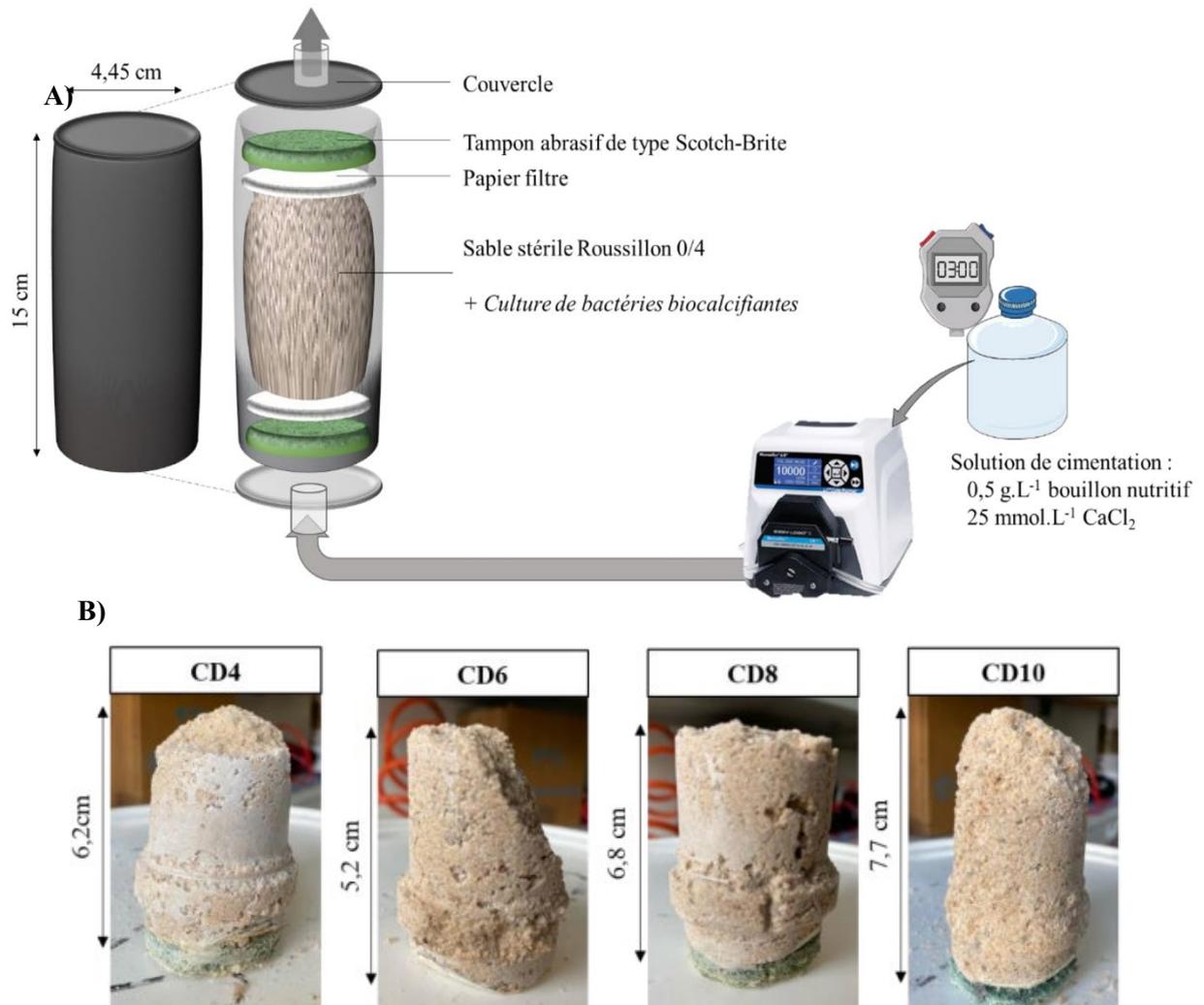


Figure 1- 30 : A) Montage expérimental de biocimentation en colonne pour la formation d'un agglomérat sablo-calcaire et B) Agglomérats sablo-calcaire formés par les espèces *Epibacterium mobile* (appellation CD4), *Virgibacillus Halodenitrificans* (CD6), *Planoccus maritimus* (CD8) et *Pseudoalteromonas* (CD10) en 30 jours en condition marines (219).

En seulement 30 jours, la plupart des souches ont biocalcifié le squelette sablo-calcaire pour former des agglomérats de près de 6 cm de hauteur. Ces agglomérats ont été caractérisés en termes de résistance mécanique et de porosité (accessible à l'eau). Avec une porosité initiale du sable de 41%, la biocalcification des souches a conduit à une diminution entre 15 et 20% en 30 jours. Les propriétés mécaniques (résistance à la compression uniaxiale) des bio-briques fluctuent entre 0,5 et 3,8 MPa selon la souche employée. Les souches CD4 et CD8 se sont montrées les plus performantes dans la consolidation du sable avec des résistances à la compression axiale, respectivement de 3,8 MPa et 3,4 MPa (219). En plus des propriétés mécaniques, ces souches CD8 et CD4 ont permis de produire une proportion massique de  $\text{CaCO}_3$ , plus précisément de la calcite, entre 9 et 12%, par rapport à celle du sable. Cela dit, la solution de cémentation utilisée dans ces expériences contient de l'urée. Or, les souches CD8 et CD4, qui se sont montrées les plus efficaces dans la consolidation du sable, sont uréases négatives, synonyme de l'absence de l'enzyme uréase, et donc ne sont pas censées intervenir dans l'hydrolyse de l'urée. A cet effet, nous pouvons nous demander si l'enzyme anhydrase carbonique, n'a pas joué un rôle dans leur processus de biocalcification, auquel cas son action dans l'hydratation du  $\text{CO}_2$  susciterait un vif intérêt pour la capture du carbone, en contribuant à la réduction des émissions de gaz à effet de serre (221).

Ainsi, le processus de formation du  $\text{CaCO}_3$  par ces bactéries marines biocalcifiantes offre un potentiel intéressant et innovant qui pourrait être combiné de manière synergique avec le processus électrochimique pour amorcer, voire accélérer la précipitation du dépôt calcomagnésien dans un contexte de prévention de l'érosion côtière, tout en limitant les émissions de  $\text{CO}_2$ , en privilégiant l'hydratation du  $\text{CO}_2$  par l'anhydrase carbonique.

#### 1.4. Objectifs de la thèse

Dans un contexte de protection des côtes contre l'érosion côtière et de limitation d'émissions de GES *via* le piégeage du  $\text{CO}_2$ , ma thèse s'inscrit dans une démarche écoenvironnementale visant à développer une solution alternative plus « douce » à faible empreinte carbone pour consolider les aménagements littoraux déjà présents et contribuer à la réduction des émissions de  $\text{CO}_2$ . Concrètement, ces travaux visent à la formation d'un agglomérat calcomagnésien à partir de l'économie des ressources locales, à savoir les granulats recyclés, issus d'une plateforme de recyclage locale des déchets inertes du BTP, et des bactéries marines biocalcifiantes initialement isolées dans le port de plaisance de La Rochelle et dont le métabolisme a été caractérisé dans la thèse de Julia Vincent (2018-2022) (219). La **Figure 1-31** schématise les objectifs principaux de ma thèse.

L'objectif principal de mon travail de thèse consiste à précipiter pour la première fois un dépôt calcomagnésien sous un écoulement d'eau de mer, à la surface d'un acier placé sous polarisation cathodique, pour venir agglomérer les granulats recyclés avoisinant et former une concrétion

calcomagnésienne dédiée à la consolidation des systèmes de protection ou bien falaises au niveau des zones partiellement immergées

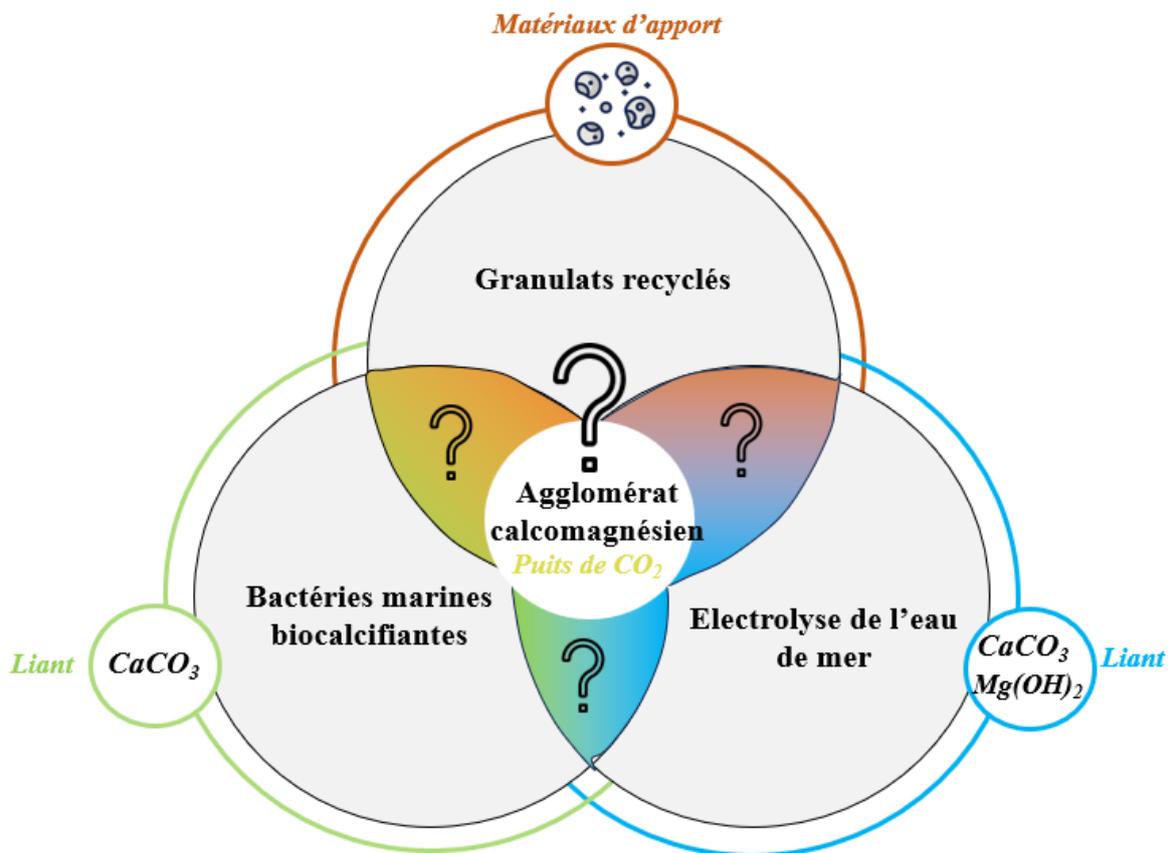


Figure 1-31 : Objectifs principaux de ces travaux de thèse.

Le second objectif est d'étudier des bactéries marines biocalcifiantes de la collection du laboratoire afin de sélectionner et de déterminer les souches possédant une anhydrase carbonique, potentiellement adaptées pour capter du CO<sub>2</sub> et efficaces pour précipiter le CaCO<sub>3</sub> en présence des granulats recyclés. L'objectif ultime est d'associer de façon synergique les procédés électrochimique et microbiologique, pour forcer la précipitation du calcium et du magnésium naturellement présents dans l'eau de mer sous la forme de dépôts calcomagnésiens, en substituant les matériaux naturels d'apport par des granulats recyclés issus des déchets inertes du BTP. Ces dépôts pourraient ainsi lier les matériaux d'apport pour former une bio-concrétion dans des temps très courts.

Notre démarche pour atteindre ces objectifs s'est décomposée en plusieurs étapes.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés aux propriétés du squelette granulaire de l'agglomérat, à savoir les granulats recyclés, en termes de composition minéralogique et de réactivité physico-chimiques dans l'eau de mer afin d'évaluer leur influence sur la précipitation du dépôt calcomagnésien. Une fois leur composition minéralogique caractérisée, les granulats recyclés, ainsi que les trois familles principales contenus dans le mélange, à savoir les matériaux à matrice cimentaire (Rc),

les terres cuites (Rb) et les pierres naturelles (Ru), ont été indépendamment immergées dans de l'eau de mer naturelle contenu dans un réacteur à double paroi pour y suivre l'évolution des propriétés caractéristiques de l'eau de mer, à savoir les paramètres pH/conductivité et sa composition chimique, en fonction du temps d'immersion. Nous nous sommes plus particulièrement intéressés à l'effet de la lixiviation des matériaux Rc dans l'eau de mer en raison de l'instabilité supposée de la matrice cimentaire vis-à-vis des hydrates. Pour cela, des dosages ioniques, en particulier des ions calcium, ont été réalisés lors des phénomènes de lixiviation des Rc dans l'eau de mer pour évaluer leur potentiel apport en  $\text{Ca}^{2+}$  pour la précipitation du  $\text{CaCO}_3$ .

Dans un second temps, nous avons cherché à étudier la précipitation du dépôt calcomagnésien par électrochimie sous un écoulement d'eau de mer à travers la mise en place et l'élaboration d'un dispositif d'écoulement et l'optimisation des paramètres électrochimiques tels que le débit d'écoulement et la densité de courant. À l'échelle de l'agglomérat, nous avons étudié le ratio  $\text{CaCO}_3/\text{Mg}(\text{OH})_2$  dans le dépôt sous polarisation cyclique et continue, en situation d'écoulement et d'immersion ainsi qu'en présence d'un empilement granulaire à base de granulats recyclés ou naturels. En se basant sur les mêmes conditions de formulation du béton, nous avons aussi cherché à optimiser la compacité du squelette granulaire en vue d'obtenir un matériau solide. À ce titre, les agglomérats ont été caractérisés en termes de compacité et de cinétique de croissance en volume apparent. Le dépôt calcomagnésien précipité entre les granulats a été analysé pour chaque agglomérat en vue d'obtenir des informations relatives à sa composition chimique et sa morphologie.

Dans une troisième partie, nous avons étudié la croissance et la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  induite par les bactéries dans différents milieux environnants (eau de mer, milieux de culture) puis en présence de lixiviat de granulats recyclés. En ce qui concerne le piégeage du  $\text{CO}_2$ , nous avons sélectionné des souches bactériennes marines biocalcifiantes en fonction de leurs caractéristiques enzymatiques, notamment par rapport à leur activité anhydrase carbonique, et des résultats recueillis par Julia Vincent dans ses travaux de thèse (219). Puis nous avons étudié l'influence du  $\text{CO}_2$  sur la capacité de ces bactéries à précipiter du  $\text{CaCO}_3$ . Enfin, les synergies électrochimie-biocalcification et électrochimie-biocalcification-granulats recyclés ont été abordées.

## 1.5. Références

1. Pourbaix M. Emploi de la thermodynamique et de la cinétique électrochimiques pour l'étude des phénomènes de passivation. *Zeitschrift für Elektrochemie, Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*. 1958;62(6-7):670-5.
2. Prieto F, Millero F. The values of  $pK_1 + pK_2$  for the dissociation of carbonic acid in seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. juill 2002;66:2529-40.
3. Millero F, Graham T, Huang F, Bustos-Serrano H, Pierrot D. Dissociation constants of carbonic acid in seawater as a function of salinity and temperature. *Marine Chemistry*. juin 2006;100:80-94.
4. Stumm W, Morgan JJ. *Aquatic Chemistry, chemical equilibria and rates in natural waters*. Vol. 3. New York: John Wiley & Sons; 1996.
5. Deslouis C, Festy D, Gil O, Maillot V, Touzain S, Tribollet B. Characterization of calcareous deposits in artificial sea water by impedances techniques: 2-deposit of  $Mg(OH)_2$  without  $CaCO_3$ . *Electrochimica Acta*. 2000;45(11):1837-45.
6. Sung-Tsuen L, Nancollas GH. The crystallization of magnesium hydroxide. *Desalination*. 1973;12(1):75-84.
7. Koga N, Nakagoe Y, Tanaka H. Crystallization of amorphous calcium carbonate. *Thermochemica Acta*. 1998;318(1):239-44.
8. Clarkson JR, Price TJ, Adams CJ. Role of metastable phases in the spontaneous precipitation of calcium carbonate. *J Chem Soc, Faraday Trans*. 1992;88(2):243-9.
9. Brooks R, Clark L m., Thurston EF, Freeth FA. Calcium carbonate and its hydrates. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series A, Mathematical and Physical Sciences*. 1950;243(861):145-67.
10. Volkmer D. CRYSTALLIZATION | Biomineralization. In: Wilson ID, éditeur. *Encyclopedia of Separation Science* [Internet]. Oxford: Academic Press; 2000. p. 940-50. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0122267702060312>
11. Kamhi SR. On the structure of vaterite  $CaCO_3$ . *Acta Crystallographica*. août 1963;16(8):770-2.
12. Turnbull AG. A thermochemical study of vaterite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1973;37(6):1593-601.
13. Melezhik VA, Roberts D, Fallick AE, Gorokhov IM, Kusnetzov AB. Geochemical preservation potential of high-grade calcite marble versus dolomite marble: implication for isotope chemostratigraphy. *Chemical Geology*. 2005;216(3):203-24.
14. Røyne A, Dalby KN, Hassenkam T. Repulsive hydration forces between calcite surfaces and their effect on the brittle strength of calcite-bearing rocks. *Geophysical Research Letters*. 2015;42(12):4786-94.
15. Ries JB, Stanley SM, Hardie LA. Scleractinian corals produce calcite, and grow more slowly, in artificial Cretaceous seawater. *Geology*. juill 2006;34(7):525-8.
16. Behrens G, Kuhn LT, Ubic R, Heuer AH. Raman Spectra of Vateritic Calcium Carbonate. *Spectroscopy Letters*. 1995;28(6):983-95.
17. Dědek J, Heitz F. Le carbonate de chaux [Internet]. Louvain : Librairie universitaire; 1966. Disponible sur: <http://lib.ugent.be/catalog/rug01:000156388>
18. Feng Q. Principles of Calcium-Based Biomineralization. *Progress in molecular and subcellular biology*. juill 2011;52:141-97.
19. Gražulis S, Chateigner D, Downs R, Yokochi A, Quirós M, Lutterotti L, *et al*. Crystallography Open Database - An Open-Access Collection of Crystal Structures. *Journal of applied crystallography*. août 2009;42:726-9.
20. Toffolo MB. The significance of aragonite in the interpretation of the microscopic archaeological record. *Geoarchaeology*. 2021;36(1):149-69.
21. Xiluan W, Hua B, Jia Y, Zhi L, Qu L, Xu Y, *et al*. Synthesis of  $CaCO_3$ /graphene composite crystals for ultra-strong structural materials. *RSC Adv*. févr 2012;2:2154-60.
22. Wray JL, Daniels F. Precipitation of Calcite and Aragonite. *J Am Chem Soc*. 1 mai 1957;79(9):2031-4.
23. Morse JW, Mackenzie FT. *Geochemistry of sedimentary carbonates*. 1<sup>re</sup> éd. 1990. (Developments in sedimentology).

24. Skinner HCW, Ehrlich H. 10.4 - Biomineralization. In: Holland HD, Turekian KK, éditeurs. Treatise on Geochemistry (Second Edition) [Internet]. Second Edition. Oxford: Elsevier; 2014. p. 105-62. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080959757008044>
25. Berdonosov SS, Znamenskaya IV, Melikhov IV. Mechanism of the Vaterite-to-Calcite Phase Transition under Sonication. *Inorganic Materials*. 1 déc 2005;41(12):1308-12.
26. Dupree R, Howes AP, Kohn SC. Natural abundance solid state  $^{43}\text{Ca}$  NMR. *Chemical Physics Letters*. 1997;276(5):399-404.
27. Tsai TWT, Chan JCC. Chapter 1 - Recent Progress in the Solid-State NMR Studies of Biomineralization. In: Webb GA, éditeur. Academic Press; 2011. p. 1-61. (Annual Reports on NMR Spectroscopy; vol. 73). Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080970745000013>
28. Gaines RV, Dana JD, Skinner HC, Foord EE, Mason B, Rosenzweig A. Dana's new mineralogy. In New York; 1997. (Wiley & Sons).
29. Trushina D, Bukreeva T, Kovalchuk M, Antipina M.  $\text{CaCO}_3$  vaterite microparticles for biomedical and personal care applications. *Materials science & engineering C, Materials for biological applications*. déc 2014;45:644-58.
30. Broughton PL. Microbial EPS-mediated amorphous calcium carbonate–monohydrocalcite–calcite transformations during early tufa deposition. *The Depositional Record*. 2023;9(3):647-74.
31. Elfil H, Roques H. Role of hydrate phases of calcium carbonate on the scaling phenomenon. *Desalination*. 2001;137(1):177-86.
32. Pelouze J. Sur la production artificielle du carbonate de chaux cristallise, et sur deux combinaisons de ce sel avec l'eau. In 1831. p. 301-7.
33. Becquerel A. Du carbonate de chaux cristallise, et de l'action simultanee des matieres surees ou mucilagineuses sur quelques oxides metalliques, par l'intermediaire des alcalis et des terres. *Annal Chim*. 1831;47:5-20.
34. Suess E, Balzer W, Hesse KF, Müller P, Ungerer C t, Wefer G. Calcium carbonate hexahydrate from organic-rich sediments of the Antarctic shelf: precursors of glendonites. *Science*. 1982;216(4550):1128-31.
35. Bucharth B, Seaman P, Stockmann G, Vous M, Wilken U, Düwel L, *et al*. Submarine columns of ikaite tufa. *Nature*. 1997;390(6656):129-30.
36. Stein C, Smith A. Authigenic carbonate nodules in the Nankai Trough, Site 583. Initial reports of the deep sea drilling project. 1986;
37. Tollefsen E, Balic-Zunic T, Mörth CM, Brüchert V, Lee C, Skelton A. Ikaite nucleation at 35 °C challenges the use of glendonite as a paleotemperature indicator. *Scientific Reports*. mai 2020;10.
38. Pan J, Zhao H, Tucker ME, Zhou J, Jiang M, Wang Y, *et al*. Biomineralization of Monohydrocalcite Induced by the Halophile *Halomonas Smyrnensis* WMS-3. *Minerals* [Internet]. 2019;9(10). Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2075-163X/9/10/632>
39. Rousseau C, Baraud F, Leleyter L, Jeannin M, Gil O. Calcareous deposit formed under cathodic protection in the presence of natural marine sediments: A 12 month experiment. *Corrosion Science*. 2010;52(6):2206-18.
40. Kimura T, Koga N. Monohydrocalcite in comparison with hydrated amorphous calcium carbonate: precipitation condition and thermal behavior. *Crystal growth & design*. 2011;11(9):3877-84.
41. Kumari L, Li W, v C, Leblanc R, Wang D. Synthesis, characterization and optical properties of magnesium hydroxide micro-/nanostructures. janv 2009;
42. Morse JW, Wang Q, Tsio MY. Influences of temperature and Mg:Ca ratio on  $\text{CaCO}_3$  precipitates from seawater. *Geology*. janv 1997;25(1):85-7.
43. Burton EA, Walter LM. Relative precipitation rates of aragonite and Mg calcite from seawater: Temperature or carbonate ion control? *Geology*. févr 1987;15(2):111-4.
44. Mucci A. Influence of temperature on the composition of magnesian calcite overgrowths precipitated from seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1987;51(7):1977-84.
45. Berner RA. The role of magnesium in the crystal growth of calcite and aragonite from sea water. *\gca*. avr 1975;39(4):489,IN3,495-494,IN3,504.

46. Deslouis C, Festy D, Gil O, Rius G, Touzain S, Tribollet B. Characterization of calcareous deposits in artificial sea water by impedance techniques—I. Deposit of  $\text{CaCO}_3$  without  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ . *Electrochimica Acta*. 1998;43(12):1891-901.
47. Sarlak M, Shahrabi T, Zamanzade M. Investigation of calcareous deposits formation on copper and 316L stainless steel under cathodic polarization in artificial seawater. *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*. 1 mars 2009;45(2):216-22.
48. Barchiche C, Deslouis C, Festy D, Gil O, Refait P, Touzain S, *et al.* Characterization of calcareous deposits in artificial seawater by impedance techniques: 3—Deposit of  $\text{CaCO}_3$  in the presence of  $\text{Mg}(\text{II})$ . *Electrochimica Acta*. 2003;48(12):1645-54.
49. Alaric Zanibellato. Synthèse et études physico-chimiques d'un agglomérat calcomagnésien formé sur acier en milieu marin: un éco-matériau pour la protection du littoral. La Rochelle; 2016.
50. Carré C. Utilisation du dépôt calcomagnésien comme outil de décontamination de l'eau de mer. 2017.
51. Yan JF. Parametric Studies of the Formation of Calcareous Deposits on Cathodically Protected Steel in Seawater. In 2013.
52. Lee RU, Ambrose JR. Influence of Cathodic Protection Parameters on Calcareous Deposit Formation. *Corrosion*. déc 1988;44(12):887-91.
53. Luo JS, Lee RU, Chen TY, Hartt WH, Smith SW. Formation of Calcareous Deposits Under Different Modes of Cathodic Polarization. *Corrosion*. mars 1991;47(3):189-96.
54. Humble RA. Cathodic Protection of Steel in Sea Water With Magnesium Anodes. *Corrosion*. 1948;4:358-70.
55. Akamine K, Kashiki I. Corrosion Protection of Steel by Calcareous Electrodeposition in Seawater (Part 2): Mechanism of Growth. *Zairyo to Kankyo/ Corrosion Engineering*. janv 2002;51:496-501.
56. Park JM, Lee MH, Lee SH. Characteristics and Crystal Structure of Calcareous Deposit Films Formed by Electrodeposition Process in Artificial and Natural Seawater. *Coatings [Internet]*. 2021;11(3). Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2079-6412/11/3/359>
57. Prevot J. Etude du conglomérat dépôt calcomagnésien, scories : formation, propriétés et applications. Nouvelle-Calédonie; 2020.
58. Möller H. The influence of  $\text{Mg}^{2+}$  on the formation of calcareous deposits on a freely corroding low carbon steel in seawater. *Corrosion Science*. 2007;49(4):1992-2001.
59. Nguyen Dang D, Gascoin S, Zanibellato A, G. Da Silva C, Lemoine M, Riffault B, *et al.* Role of Brucite Dissolution in Calcium Carbonate Precipitation from Artificial and Natural Seawaters. *Crystal Growth & Design*. 5 avr 2017;17(4):1502-13.
60. Lin SH, Dexter SC. Effects of Temperature and Magnesium Ions on Calcareous Deposition. *Corrosion*. sept 1988;44(9):615-22.
61. Ketrane R, Leleyter L, Baraud F, Jeannin M, Gil O, Saidani B. Characterization of natural scale deposits formed in southern Algeria groundwater. Effect of its major ions on calcium carbonate precipitation. *Desalination*. 2010;262(1):21-30.
62. Cuesta Mayorga I, Astilleros JM, Fernández-Díaz L. Precipitation of  $\text{CaCO}_3$  Polymorphs from Aqueous Solutions: The Role of pH and Sulphate Groups. *Minerals [Internet]*. 2019;9(3). Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2075-163X/9/3/178>
63. Bots P, Benning LG, Rickaby REM, Shaw S. The role of  $\text{SO}_4$  in the switch from calcite to aragonite seas. *Geology*. avr 2011;39(4):331-4.
64. Walter LM. Relative Efficiency of Carbonate Dissolution and Precipitation During Diagenesis: A Progress Report on the Role of Solution Chemistry. In: *Roles of Organic Matter in Sediment Diagenesis [Internet]*. SEPM Society for Sedimentary Geology; 1985. Disponible sur: <https://doi.org/10.2110/pec.86.38.0001>
65. Busenberg E, Plummer LN. Kinetic and thermodynamic factors controlling the distribution of  $\text{SO}_3^{2-}$  and  $\text{Na}^+$  in calcites and selected aragonites. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1985;49(3):713-25.
66. Sjöberg EL. Kinetics and mechanism of calcite dissolution in aqueous solutions at low temperatures [Internet] [PhD Thesis]. Stockholm University, Faculty of Science; 1978. (Stockholm contributions in geology). Disponible sur: <https://pubs.sub.su.se/65.pdf>
67. Gledhill D, Morse J. Calcite solubility in  $\text{Na}-\text{Ca}-\text{Mg}-\text{Cl}$  brines. *Chemical Geology*. oct 2006;233:249-56.

68. Buhmann D, Dreybrodt W. Calcite dissolution kinetics in the system  $H_2O-CO_2-CaCO_3$  with participation of foreign ions. *Chemical Geology*. 1987;64(1):89-102.
69. Neville A, Morizot AP. Calcareous scales formed by cathodic protection—an assessment of characteristics and kinetics. *Journal of Crystal Growth*. 2002;243(3):490-502.
70. Okstad T, Rannestad Ø, Johnsen R, Nisancioglu K. Significance of Hydrogen Evolution during Cathodic Protection of Carbon Steel in Seawater. *Corrosion*. sept 2007;63(9):857-65.
71. Gartland PO, Bardal E, Andresen RE, Johnsen R. Effects of Flow on the Cathodic Protection of a Steel Cylinder in Seawater. *Corrosion*. mars 1984;40(3):127-33.
72. Li C, Du M, Cui X. Influence of Seawater Flow Velocity on the Morphological Characteristics of Calcareous Deposits Formed by Cathodic Protection. In 2015.
73. Knudsen OØ, Hesjevik SM, Briskeby ST, Okstad CM, Aspnes MG. Formation of calcareous deposits under various exposure conditions [Internet]. EUROCORR 2017 - The Annual Congress of the European Federation of Corrosion, 20th International Corrosion Congress and Process Safety Congress 2017. 2017. Disponible sur: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85052283380&partnerID=40&md5=0a9b50d8993415383d64a6d099f8d2f9>
74. Zadi L. Mécanismes physico-chimiques impliqués dans la formation et l'évolution à l'abandon d'un matériau sédimentaire innovant généré en milieu marin par polarisation cathodique. [La Rochelle]: La Rochelle; 2022.
75. Carré C, Zanibellato A, Achgare N, Mahieux PY, Turcry P, Jeannin M, *et al.* Electrochemical limestone synthesis in seawater binds metal grids and sediments for coastal protection. *Environmental Chemistry Letters*. 1 sept 2020;18(5):1685-92.
76. Ian Hamilton HK, Oliver Rapf JK, Sheikh Zuhaib. Launched : 2020 global status report for buildings and construction. 2020 déc.
77. Ministère de la transition écologique. Construction et performance environnementale du bâtiment. 2020 sept.
78. ADEME. Déchets chiffres clés. ADEME. 2020;80.
79. ADEME. Déchets Chiffres clés. 2023 p. 84. Report No.: Edition 2023.
80. ADEME, TERRA, TBC Innovations, ELCIMAI Environnement, Au-Dev-Ant, E P. Etude de préfiguration de la filière REP Produits et Matériaux de Construction du secteur du Bâtiment. 2021 p. 29.
81. Ministère de l'environnement, de l'énergie et de la mer. Entreprises du BTP : 227,5 Mt de déchets en 2014. 2017 mars.
82. ADEME. Déchets des travaux publics. 2017.
83. UNICEM, UNPG. L'industrie française des granulats- Edition 2022 (Données 2020). 2022.
84. UNICEM, UNPG. L'industrie française des granulats-Editions 2021 (Données 2019). 2021.
85. Citepa. Données d'émission de polluants dans l'air extérieur. 2020.
86. ADEME, Devauze C, Koite A, Chretien A, Monier V. Bilan national du recyclage 2010-2019 : évolutions du recyclage en France de différents matériaux : métaux ferreux et non ferreux, papiers-cartons, verre, plastiques, inertes du BTP et bois. 2021 p. 99.
87. Ministère de la transition écologique et de la cohésion des territoires. L'empreinte carbone de la France de 1995 à 2021. 2022 nov.
88. UNPG. Module d'information environnementale du traitement de déchets de déconstruction en vue de produire des granulats-Conforme aux normes NF EN 15804+A1 et NF EN 15804/CN. 2017.
89. UNPG. Module d'information environnementale de la production de granulats recyclés-Conforme aux normes NF EN 15804+A1 et NF EN 15804/CN. 2017.
90. Thèse de LAU HIU HOONG JD. Contribution à la valorisation de granulats recyclés : développement d'une méthode d'identification et de quantification automatisée basée sur le deep learning et évaluation de leur capacité de stockage de CO<sub>2</sub>. La Rochelle; 2011.
91. Turcry P, Mahieux PY, Hamdoun H, Chateau L, Ferber V. Projet Recyment : Etude de la réactivité des bétons concassés : Application aux graves non traitées et au traitement des sols. ADEME. 2016.
92. Hasaba S, Kawamura M, Toriik K, Takemoto K. Drying shrinkage and durability of the concrete made of recycled concrete aggregate. *Transactions of the Japan Concrete Institute*. 1981;3:55-60.

93. Torben C. Hansen and Henrik Narud. Strength of Recycled Concrete Made From Crushed Concrete Coarse Aggregate. *Concrete International*. 1 janv 1983;5(1).
94. Omary S, Ghorbel E, Wardeh G. Relationships between recycled concrete aggregates characteristics and recycled aggregates concretes properties. *Construction and Building Materials*. 2016;108:163-74.
95. Silva RV, Brito J, Dhir R. Properties and composition of recycled aggregates from construction and demolition waste suitable for concrete production. *Construction and Building Materials*. août 2014;65:201-17.
96. Barra M, Vazquez E. Properties of concretes with recycled aggregates: influence of properties of the aggregates and their interpretation. In Thomas Telford Publishing; 1998. p. 18-30.
97. Hansen TC. Recycling of demolished concrete and masonry. CRC Press; 1992.
98. Juan MS de, Gutiérrez PA. Study on the influence of attached mortar content on the properties of recycled concrete aggregate. *Construction and Building Materials*. 2009;23(2):872-7.
99. González Taboada I, González-Fonteboa B, Abella F, Diego C. Study of recycled concrete aggregate quality and its relationship with recycled concrete compressive strength using database analysis. *Materiales de Construcción*. juin 2016;66:e089.
100. Katz A. Properties of concrete made with recycled aggregate from partially hydrated old concrete. *Cement and Concrete Research*. 2003;33(5):703-11.
101. Evangelista L, De Brito J. Mechanical behaviour of concrete made with fine recycled concrete aggregates. *Cement and concrete composites*. 2007;29(5):397-401.
102. Duan ZH, Poon CS. Properties of recycled aggregate concrete made with recycled aggregates with different amounts of old adhered mortars. *Materials & Design*. 2014;58:19-29.
103. Gonçalves P, Brito J de. Recycled aggregate concrete (RAC)–comparative analysis of existing specifications. *Magazine of Concrete Research*. 2010;62(5):339-46.
104. Oikonomou ND. Recycled concrete aggregates. *Cement and concrete composites*. 2005;27(2):315-8.
105. Butler L, West J, Tighe S. The effect of recycled concrete aggregate properties on the bond strength between RCA concrete and steel reinforcement. *Cement and concrete research*. 2011;41(10):1037-49.
106. De Larrard F, Colina H. Le béton recyclé. Marne-la-Vallée : ifsttar; 2018. 792 p. (Ouvrages scientifiques; vol. OSI4).
107. Poznyak AI, Levitskii IA, Barantseva SE. Basaltic and granitic rocks as components of ceramic mixes for interior wall tiles. *Glass and Ceramics*. 1 nov 2012;69(7):262-6.
108. Pietranik A, Waight TE. Processes and Sources during Late Variscan Dioritic–Tonalitic Magmatism: Insights from Plagioclase Chemistry (Gęsiniec Intrusion, NE Bohemian Massif, Poland). *Journal of Petrology*. sept 2008;49(9):1619-45.
109. Angulo SC, Ulsen C, John VM, Kahn H, Cincotto MA. Chemical–mineralogical characterization of C&D waste recycled aggregates from São Paulo, Brazil. *Waste management*. 2009;29(2):721-30.
110. Reis GS dos, Quattrone M, Ambrós WM, Grigore Cazacliu B, Hoffmann Sampaio C. Current applications of recycled aggregates from construction and demolition: A review. *Materials*. 2021;14(7):1700.
111. Medina C, Zhu W, Howind T, de Rojas MIS, Frías M. Influence of mixed recycled aggregate on the physical–mechanical properties of recycled concrete. *Journal of cleaner production*. 2014;68:216-25.
112. Bullard JW, Jennings HM, Livingston RA, Nonat A, Scherer GW, Schweitzer JS, *et al.* Mechanisms of cement hydration. *Cement and Concrete Research*. 2011;41(12):1208-23.
113. Marchon D, Flatt RJ. 8 - Mechanisms of cement hydration. In: Aïtcin PC, Flatt RJ, éditeurs. *Science and Technology of Concrete Admixtures* [Internet]. Woodhead Publishing; 2016. p. 129-45. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081006931000084>
114. Philippe Souchu. Hydratation du ciment Portland. Setec IERM. 2009;
115. Taylor HFW. *Cement chemistry* [Internet]. 2nd edition. Thomas Telford Publishing; 1997. Disponible sur: <https://www.icevirtuallibrary.com/doi/abs/10.1680/cc.25929>

116. Liu X, Feng P, Li W, Geng G, Huang J, Gao Y, *et al.* Effects of pH on the nano/micro structure of calcium silicate hydrate (C-S-H) under sulfate attack. *Cement and Concrete Research*. 2021;140:106306.
117. Bernard E, Lothenbach B, Cau-Dit-Coumes C, Chlique C, Dauzères A, Pochard I. Magnesium and calcium silicate hydrates, Part I: Investigation of the possible magnesium incorporation in calcium silicate hydrate (C-S-H) and of the calcium in magnesium silicate hydrate (M-S-H). *Applied Geochemistry*. 2018;89:229-42.
118. Mehta PK. Mechanism of sulfate attack on portland cement concrete — Another look. *Cement and Concrete Research*. 1983;13(3):401-6.
119. Marty N, Grangeon S, Catherine L, Warmont F, Rozenbaum O, Conte T, *et al.* Dissolution kinetics of hydrated calcium aluminates (AFm-Cl) as a function of pH and at room temperature. *Mineralogical Magazine*. janv 2016;81.
120. Lower SK. Carbonate equilibria in natural waters. Simon Fraser University. 1999;544.
121. Fontela M, Velo A, Brown PJ, Pérez FF. Carbonate System Species and pH. In: Blasco J, Tovar-Sánchez A, éditeurs. *Marine Analytical Chemistry [Internet]*. Cham: Springer International Publishing; 2023. p. 1-37. Disponible sur: [https://doi.org/10.1007/978-3-031-14486-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-031-14486-8_1)
122. Nishikawa T, Suzuki K, Ito S, Sato K, Takebe T. Decomposition of synthesized ettringite by carbonation. *Cement and Concrete Research*. 1992;22(1):6-14.
123. Xiantuo C, Ruizhen Z, Xiaorong C. Kinetic study of ettringite carbonation reaction. *Cement and Concrete Research*. 1994;24(7):1383-9.
124. Thiery M, Villain G, Dangla P, Platret G. Investigation of the carbonation front shape on cementitious materials: Effects of the chemical kinetics. *Cement and Concrete Research*. 2007;37(7):1047-58.
125. Zhou Q, Glasser FP. Kinetics and mechanism of the carbonation of ettringite. *Advances in Cement Research*. 2000;12(3):131-6.
126. NF EN 12457-2 - Caractérisation des déchets - Lixiviation - Essai de conformité pour lixiviation des déchets fragmentés et des boues - Partie 2 : essai en bûchée unique avec un rapport liquide-solide de 10 l/kg et une granularité inférieure à 4 mm (sans ou avec réduction de la granularité). 2002.
127. NF EN 12457-4 - Caractérisation des déchets - Lixiviation - Essai de conformité pour lixiviation des déchets fragmentés et des boues - Partie 4 : essai en bûchée unique avec un rapport liquide/solide de 10 l/kg et une granularité inférieure à 10 mm (sans ou avec réduction de la granularité). 2002.
128. NF EN 1744-1+A1 - Essais visant à déterminer les propriétés chimiques des granulats - Partie 1 : analyse chimique. 2014.
129. NF EN 14039 - Caractérisation des déchets - Détermination de la teneur en hydrocarbures par chromatographie en phase gazeuse dans la plage C10 à C40. 2005.
130. ADEME. Les déchets inertes. 2020 [cité 9 janv 2022]; Disponible sur: <https://www.ademe.fr/expertises/dechets/quoi-parle-t/types-dechets/dechets-inertes>
131. NF EN 206+A2 - Béton - Spécification, performances, production et conformité. 2021.
132. Liang X, Hillier S, Pendrowski H, Gray N, Ceci A, Gadd GM. Uranium phosphate biomineralization by fungi. *Environmental Microbiology*. 2015;17(6):2064-75.
133. Elliott JC. Calcium phosphate biominerals. *Reviews in mineralogy and geochemistry*. 2002;48(1):427-53.
134. Liu B, Cao Y, Huang Z, Duan Y, Che S. Silica biomineralization via the self-assembly of helical biomolecules. *Advanced Materials*. 2015;27(3):479-97.
135. Castro-Alonso MJ, Montañez-Hernandez LE, Sanchez-Muñoz MA, Macias Franco MR, Narayanasamy R, Balagurusamy N. Microbially Induced Calcium carbonate Precipitation (MICP) and its potential in Bioconcrete: Microbiological and molecular concepts. *Frontiers in Materials*. juin 2019;6:126.
136. Stephen M. *Biomineralization : principles and concepts in bioinorganic materials chemistry*. Oxford University Press. 2001. 198 p.
137. Marín A, Gil M, Flores P, Hellín P, Selma M. Microbial Quality and Bioactive Constituents of Sweet Peppers from Sustainable Production Systems. *Journal of agricultural and food chemistry*. déc 2008;56:11334-41.

138. Dupraz C, Reid RP, Braissant O, Decho AW, Norman RS, Visscher PT. Processes of carbonate precipitation in modern microbial mats. *Earth-Science Reviews*. 2009;96(3):141-62.
139. Lowenstam HA, Weiner S. *On Biomineralization* [Internet]. Oxford University Press; 1989. Disponible sur: <https://books.google.fr/books?id=JbAgy0AAopsC>
140. Claire KONIG. Les stromatolites, formation sédimentaire des cyanobactéries. *Futura Planète*. 19 juill 2018;
141. Annie CORNEE. Les stromatolites. 2010;(300).
142. Stal LJ. Cyanobacterial mats and stromatolites. In: *Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time*. Springer; 2012. p. 65-125.
143. Kromkamp JC, Perkins R, Dijkman N, Consalvey M, Andres M, Reid RP. Resistance to burial of cyanobacteria in stromatolites. *Aquatic Microbial Ecology*. 2007;48(2):123-30.
144. Borowitzka MA. Morphological and cytological aspects of algal calcification. *International Review of Cytology-a Survey of Cell Biology*. 1982;74:127-62.
145. Lowenstam HA. ENVIRONMENTAL RELATIONS OF MODIFICATION COMPOSITIONS OF CERTAIN CARBONATE SECRETING MARINE INVERTEBRATES. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1954;40(1):39-48.
146. Weiner S. An Overview of Biomineralization Processes and the Problem of the Vital Effect. *Reviews in Mineralogy & Geochemistry - REV MINERAL GEOCHEM*. janv 2003;54:1-29.
147. Hammes F, Verstraete\* W. Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. 1 mars 2002;1(1):3-7.
148. Castanier S, Le Métayer-Levrel G, Perthuisot JP. Ca-carbonates precipitation and limestone genesis — the microbiogeologist point of view. *Sedimentary Geology*. juill 1999;126(1):9-23.
149. Castanier S, Le Metayer-Levrel G, Perthuisot JP. Bacterial carbonatogenesis [Internet]. France: Orstom éditions; 1998. (La carbonatogenèse bactérienne). Disponible sur: [http://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig\\_q=RN:30008490](http://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig_q=RN:30008490)
150. Thauer RK. Biochemistry of methanogenesis: a tribute to Marjory Stephenson:1998 Marjory Stephenson Prize Lecture. Vol. 144, *Microbiology*. Microbiology Society; 1998. p. 2377-406.
151. Pfennig N. Photosynthetic Bacteria. *Annual Review of Microbiology*. 1967;21(1):285-324.
152. Métayer-Levrel GL, Castanier S, Loubière JF, Perthuisot JP. La carbonatogenèse bactérienne dans les grottes. Étude au MEB d'une hélicite de Clamouse, Hérault, France. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series IIA - Earth and Planetary Science*. 1997;325(3):179-84.
153. Norris V, Grant S, Freestone P, Canvin J, Sheikh F, Toth I, *et al*. Calcium signaling in bacteria. *Journal of bacteriology*. août 1996;178:3677-82.
154. Castanier S, Maurin A, Perthuisot JP. Production bactérienne expérimentale de corpuscules carbonates, sphéroïdaux à structure fibro-radiale; réflexions sur la définition des ooides. *Bulletin de la Société Géologique de France*. mai 1989;V(3):589-95.
155. McConnaughey TA, Whelan JF. Calcification generates protons for nutrient and bicarbonate uptake. *Earth-Science Reviews*. 1997;42(1):95-117.
156. Mobley HLT, Hausinger R. Microbial ureases: Significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiological reviews*. avr 1989;53:85-108.
157. Marion Medevielle. Utilisation de la bioprécipitation de carbonates de calcium pour améliorer la qualité de granulats de béton recyclé. [Nantes]: Nantes; 2017.
158. P.TIANO, L.BIAGIOTTI, G. MASTROMEI. Bacterial bio-mediated calcite precipitation for monumental stones conservation : methods of evaluation. 1999;36(1-2):139-45.
159. Vincent J, Colin B, Lanneluc I, Refait P, Sabot R, Jeannin M, *et al*. La biocalcification bactérienne en milieu marin et ses applications. *Matériaux & Techniques*. mai 2023;110:606.
160. Ferrer MR, Quevedo-Sarmiento J, Rivadeneyra MA, Béjar V, Delgado R, Ramos-Cormenzana A. Calcium carbonate precipitation by two groups of moderately halophilic microorganisms at different temperatures and salt concentrations. *Current Microbiology*. 1988;17:221-7.
161. Neumeier U. Le rôle de l'activité microbienne dans la cimentation précoce des beachrocks (sédiments intertidaux). *Terre & Environnement*. 1 mai 1998;12:1-183.
162. Párraga J, Rivadeneyra M, Martín-García JM, Delgado R, Delgado G. Precipitation of Carbonates by Bacteria from a Saline Soil, in Natural and Artificial Soil Extracts. *Geomicrobiology Journal - GEOMICROBIOL J*. janv 2004;21:55-66.

163. Bansal R, Dhimi NK, Mukherjee A, Reddy MS. Biocalcification by halophilic bacteria for remediation of concrete structures in marine environment. *J Ind Microbiol Biotechnol.* nov 2016;43(11):1497-505.
164. Phillips AJ, Gerlach R, Lauchnor E, Mitchell AC, Cunningham AB, Spangler L. Engineered applications of ureolytic biomineralization: a review. *Biofouling.* juill 2013;29(6):715-33.
165. Omoregie AI, Ong DEL, Nissom PM. Assessing ureolytic bacteria with calcifying abilities isolated from limestone caves for biocalcification. *Lett Appl Microbiol.* 7 déc 2018;lam.13103.
166. Yoon JH, Lee KC, Weiss N, Kho YH, Kang KH, Park YH. *Sporosarcina aquimarina* sp. nov., a bacterium isolated from seawater in Korea, and transfer of *Bacillus globisporus* (Larkin and Stokes 1967), *Bacillus psychrophilus* (Nakamura 1984) and *Bacillus pasteurii* (Chester 1898) to the genus *Sporosarcina* as *Sporosarcina globispora* comb. nov., *Sporosarcina psychrophila* comb. nov. and *Sporosarcina pasteurii* comb. nov., and emended description of th. Vol. 51, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* Microbiology Society; 2001. p. 1079-86.
167. Krajewska B. Ureases I. Functional, catalytic and kinetic properties: A review. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic.* 2009;59(1):9-21.
168. Knoll AH. Biomineralization and Evolutionary History. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry.* janv 2003;54(1):329-56.
169. Dhimi NK, Reddy MS, Mukherjee A. Biomineralization of calcium carbonates and their engineered applications: a review. *Front Microbiol [Internet].* 2013 [cité 17 nov 2020];4. Disponible sur: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2013.00314/abstract>
170. Beveridge TJ, Fyfe WS. Metal fixation by bacterial cell walls. *Canadian Journal of Earth Sciences.* 1985;22(12):1893-8.
171. Kumari D, Qian XY, Pan X, Achal V, Li Q, Gadd GM. Chapter Two - Microbially-induced Carbonate Precipitation for Immobilization of Toxic Metals. In: Sariaslani S, Gadd GM, éditeurs. Academic Press; 2016. p. 79-108. (Advances in Applied Microbiology; vol. 94). Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065216415300022>
172. Castanier S, Métayer-Levrel GL, Perthuisot JP. La carbonatogenèse bactérienne. In 1998.
173. Imran MA, Kimura S, Nakashima K, Evelpidou N, Kawasaki S. Feasibility Study of Native Ureolytic Bacteria for Biocementation Towards Coastal Erosion Protection by MICP Method. *Applied Sciences [Internet].* 2019;9(20). Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2076-3417/9/20/4462>
174. Zaghoul EH, Ibrahim HAH, El-Badan DES. Production of biocement with marine bacteria; *Staphylococcus epidermidis* EDH to enhance clay water retention capacity. *The Egyptian Journal of Aquatic Research.* 2021;47(1):53-9.
175. Paassen LA van, Ghose R, Linden TJM van der, Star WRL van der, Loosdrecht MCM van. Quantifying Biomediated Ground Improvement by Ureolysis: Large-Scale Biogrout Experiment. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering.* 2010;136(12):1721-8.
176. Omoregie A, Nissom P, Palombo E. Bioprecipitation of calcium carbonate mediated by ureolysis: A review. *Environmental Engineering Research.* janv 2021;26:200379.
177. Aminot A, Kerouel R. Dosage automatique de l'urée dans l'eau de mer: une méthode très sensible à la diacétylmonoxime. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* 1982;39(1):174-83.
178. Caglayan C, Taslimi P, Türk C, Kandemir FM, Demir Y, Gulcin İ. Purification and characterization of the carbonic anhydrase enzyme from horse mackerel (*Trachurus trachurus*) muscle and the impact of some metal ions and pesticides on enzyme activity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology.* 2019;226:108605.
179. Erdemir F, Celepci D, Aktaş A, Gok Y, Sağlamtaş R, Demir Y, *et al.* Novel 2-Aminopyridine Liganded Pd(II) N-Heterocyclic Carbene Complexes: Synthesis, Characterization, Crystal Structure and Bioactivity Properties. *Bioorganic Chemistry.* juill 2019;91:103134.
180. Smith KS, Ferry JG. Prokaryotic carbonic anhydrases. *FEMS Microbiology Reviews.* 2000;24(4):335-66.
181. Achal V, Pan X. Characterization of Urease and Carbonic Anhydrase Producing Bacteria and Their Role in Calcite Precipitation. *Current microbiology.* nov 2010;62:894-902.
182. Hewett-Emmett D, Tashian RE. Functional Diversity, Conservation, and Convergence in the Evolution of the  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -Carbonic Anhydrase Gene Families. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 1996;5(1):50-77.

183. Kim I, Jo B, Kang D, Kim C, Choi YS, Cha HJ. Biomineralization-based conversion of carbon dioxide to calcium carbonate using recombinant carbonic anhydrase. *Chemosphere*. mars 2012;87:1091-6.
184. Lindskog S, Coleman JE. The catalytic mechanism of carbonic anhydrase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1973;70 9:2505-8.
185. Bayındır S, çağlayan C, Karaman M, Gülçin İ. The Green Synthesis and Molecular Docking of Novel N-substituted Rhodanines as Effective Inhibitors for Carbonic Anhydrase and Acetylcholinesterase Enzymes. *Bioorganic Chemistry*. juill 2019;90:103096.
186. Gul H, Tugrak Sakarya M, Gul M, Mazlumoglu S, Sakagami H, Gülçin I, *et al*. New phenolic Mannich bases with piperazines and their bioactivities. *Bioorganic chemistry*. sept 2019;90:103057.
187. Öztaşkın N, Taslimi P, Maras A, Gülçin I, Göksu S. Novel antioxidant bromophenols with acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitory actions. *Bioorganic Chemistry*. juill 2017;74:104-14.
188. Zheng T, Qian C. Influencing factors and formation mechanism of CaCO<sub>3</sub> precipitation induced by microbial carbonic anhydrase. *Process Biochemistry*. 2020;91:271-81.
189. Sharma A, Bhattacharya A, Pujari R, Shrivastava A. Characterization of carbonic anhydrase from diversified genus for biomimetic carbon-dioxide sequestration. *Indian Journal of Microbiology*. 1 sept 2008;48(3):365-71.
190. Reinke LA, Moyer MJ. p-Nitrophenol hydroxylation. A microsomal oxidation which is highly inducible by ethanol. *Drug Metabolism and Disposition*. 1985;13(5):548-52.
191. Faridi S, Satyanarayana T. Novel alkalistable  $\alpha$ -carbonic anhydrase from the polyextremophilic bacterium *Bacillus halodurans*: characteristics and applicability in flue gas CO<sub>2</sub> sequestration. *Environmental Science and Pollution Research*. août 2016;23.
192. Seifan M, SAMANI A, Berenjian A. New insights into the role of pH and aeration in the bacterial production of calcium carbonate (CaCO<sub>3</sub>). *Applied Microbiology and Biotechnology*. avr 2017;101:3131-42.
193. Okwadha G, Li J. Optimum conditions for microbial carbonate precipitation. *Chemosphere*. oct 2010;81:1143-8.
194. Abdelsamad R, Al Disi Z, Abu-Dieyeh M, Al-Ghouti MA, Zouari N. Evidencing the role of carbonic anhydrase in the formation of carbonate minerals by bacterial strains isolated from extreme environments in Qatar. *Heliyon*. 2022;8(10).
195. Görden S, Benzerara K, Skouri-Panet F, Gugger M, Chauvat F, Cassier-Chauvat C. The diversity of molecular mechanisms of carbonate biomineralization by bacteria. *Discover Materials*. 2021;1:1-20.
196. Bhagat C, Dudhagara P, Tank S. Trends, application and future perspectives of microbial carbonic anhydrase mediated carbonation process for CCUS. *Journal of applied microbiology*. 2018;124(2):316-35.
197. Bose H, Satyanarayana T. Microbial Carbonic Anhydrases in Biomimetic Carbon Sequestration for Mitigating Global Warming: Prospects and Perspectives. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2017;8. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.01615>
198. Stocks-Fischer S, Galinat JK, Bang SS. Microbiological precipitation of CaCO<sub>3</sub>. *Soil Biology and Biochemistry*. 1999;31(11):1563-71.
199. Li W, Chen WS, Zhou PP, Zhu SL, Yu LJ. Influence of initial calcium ion concentration on the precipitation and crystal morphology of calcium carbonate induced by bacterial carbonic anhydrase. *Chemical Engineering Journal*. 2013;218:65-72.
200. Mehta SN, Gangwar PC. Carbonic anhydrase and acid base balance in relation to thermal stress in buffaloes (*Bubalus bubalis*). *International Journal of Biometeorology*. mars 1983;27(1):41-6.
201. Hulikova A, Aveyard N, Harris A, Vaughan-Jones R, Swietach P. Intracellular Carbonic Anhydrase Activity Sensitizes Cancer Cell pH Signaling to Dynamic Changes in CO<sub>2</sub> Partial Pressure. *The Journal of biological chemistry*. juill 2014;289.
202. Hammes F, Boon N, Villiers J, Verstraete W, Siciliano S. Strain-Specific Ureolytic Microbial Calcium Carbonate Precipitation. *Applied and environmental microbiology*. sept 2003;69:4901-9.
203. Smith PT, King AD, Goodman N. Isolation and characterization of urease from *Aspergillus niger*. *Journal of general microbiology*. 1993;139 5:957-62.

204. Hao L, Chao-Sheng T, Bo L, Chao L, Qing C, Bin S. Mechanical behavior of MICP-cemented calcareous sand in simulated seawater environment. *Chinese Journal of Geotechnical Engineering*. 2020;42(10):1931-9.
205. Muynck WD, Belie ND, Verstraete W. Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review. *Ecological Engineering*. 2010;36(2):118-36.
206. Muynck WD, Verbeken K, Belie ND, Verstraete W. Influence of urea and calcium dosage on the effectiveness of bacterially induced carbonate precipitation on limestone. *Ecological Engineering*. 2010;36(2):99-111.
207. Rivadeneyra M, Delgado G, Soriano M, Ramos-Cormenzana A, Delgado R. Precipitation of carbonates by *Nesterokonia halobia* in liquid media. *Chemosphere*. sept 2000;41:617-24.
208. Rivadeneyra MA, Párraga J, Delgado R, Ramos-Cormenzana A, Delgado G. Biomineralization of carbonates by *Halobacillus trueperi* in solid and liquid media with different salinities. *FEMS Microbiology Ecology*. avr 2004;48(1):39-46.
209. Bäuerlein E. Biomineralization of Unicellular Organisms: An Unusual Membrane Biochemistry for the Production of Inorganic Nano- and Microstructures. *Angewandte Chemie (International ed in English)*. mai 2003;42:614-41.
210. Martinez Hernandez H. Amélioration de granulats de béton recyclés par bioprécipitation. [Nantes]: Univeristé Gustave Eiffel; 2022.
211. Hammes F, Boon N, Clement G, Villiers J, Siciliano S, Verstraete W. Molecular, biochemical and ecological characterisation of a bio-catalytic calcification reactor. *Applied microbiology and biotechnology*. sept 2003;62:191-201.
212. Leonard J. Increased rate of EOR brightens outlook. *Oil & Gas Journal*. 1986;
213. Nguyen KS, Nguyen H. AN INVESTIGATION ON THE USE OF BACILLUS SUBTILIS HU58 IN CEMENT MORTAR. août 2017;6:1-7.
214. Chen B, Sun W, Sun X, Cui C, Lai J, Wang Y, *et al.* Crack sealing evaluation of self-healing mortar with *Sporosarcina pasteurii*: Influence of bacterial concentration and air-entraining agent. *Process Biochemistry*. 2021;107:100-11.
215. Jafarnia MS, Khodadad Saryazdi M, Moshtaghioun SM. Use of bacteria for repairing cracks and improving properties of concrete containing limestone powder and natural zeolite. *Construction and Building Materials*. mai 2020;242:118059.
216. Cheng L, Shahin MA, Chu J. Soil bio-cementation using a new one-phase low-pH injection method. *Acta Geotechnica*. 1 juin 2019;14(3):615-26.
217. Danjo T, Kawasaki S. Formation Mechanisms of Beachrocks in Okinawa and Ishikawa, Japan, with a Focus on Cements. *MATERIALS TRANSACTIONS*. 2014;55(3):493-500.
218. Danjo T, Kawasaki S. Microbially Induced Sand Cementation Method Using *Pararhodobacter* sp. Strain SO1, Inspired by Beachrock Formation Mechanism. *MATERIALS TRANSACTIONS*. 2016;57(3):428-37.
219. Thèse de Vincent J. Biocalcification bactérienne couplée à la polarisation cathodique en milieu marin afin de consolider les ouvrages du littoral. 2022.
220. Vincent J, Colin B, Lanneluc I, Sabot R, Sopéna V, Turcry P, *et al.* New Biocalcifying Marine Bacterial Strains Isolated from Calcareous Deposits and Immediate Surroundings. *Microorganisms*. déc 2021;10:76.
221. Sharma A, Bhattacharya A. Enhanced biomimetic sequestration of CO<sub>2</sub> into CaCO<sub>3</sub> using purified carbonic anhydrase from indigenous bacterial strains. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 2010;67(1):122-8.





## **Chapitre 2 : Matériaux, méthodes et techniques d'analyses**



## **2. MATERIAUX, METHODES ET TECHNIQUES D'ANALYSES** **82**

---

<b>2.1. INTRODUCTION .....</b>	<b>82</b>
<b>2.2. EAU DE MER NATURELLE ET ARTIFICIELLE .....</b>	<b>82</b>
2.2.1. UTILISATIONS	82
2.2.2. COMPOSITION CHIMIQUE	83
<b>2.3. SQUELETTE GRANULAIRE.....</b>	<b>84</b>
2.3.1. LES GRANULATS RECYCLES	84
2.3.1.1. Origine, réception, échantillonnage et nature des constituants	84
2.3.1.2. Analyse granulométrique	86
2.3.2. LES GRANULATS NATURELS (GN)	87
2.3.3. TECHNIQUES DE CARACTERISATION	87
2.3.3.1. Masse volumique réelle	87
2.3.3.2. Compacité du squelette granulaire	90
2.3.3.3. La spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES)	90
2.3.4. REACTIVITE EN EAU DE MER : MONTAGE ET PROTOCOLE	91
<b>2.4. FORMATION DE L'AGGLOMERAT CALCOMAGNESIEN : MONTAGES ET CARACTERISATION ...</b>	<b>92</b>
2.4.1. MONTAGES ET PROTOCOLES ELECTROCHIMIQUES	92
2.4.1.1. Polarisation cathodique immersion/écoulement	94
2.4.1.2. Préparation des paniers contenant les GR	96
2.4.2. CARACTERISATION DE L'AGGLOMERAT	97
2.4.2.1. Modélisation 3D	97
2.4.2.2. Porosité accessible à l'eau	100
2.4.2.3. Microscopie électronique à balayage (MEB)	101
<b>2.5. LES BACTERIES MARINES ET LES PROTOCOLES MICROBIOLOGIQUES.....</b>	<b>102</b>
2.5.1. SELECTION DES SOUCHES BACTERIENNES BIOCALCIFIANTES	102
2.5.2. MILIEUX DE CULTURE	103
2.5.3. CULTURES BACTERIENNES	105
2.5.4. DENOMBREMENT BACTERIEN	106
2.5.5. RECUPERATION DU $\text{CaCO}_3$ PRECIPITE	107
2.5.6. CROISSANCE BACTERIENNE DANS UNE ENCEINTE A REGULATION DE LA CONCENTRATION EN $\text{CO}_2$	108
2.5.7. COUPLAGE ELECTROCHIMIE/BACTERIES MARINES/GRANULATS RECYCLES	109
<b>2.6. TECHNIQUES D'ANALYSES TRANSVERSALES ET SPECIFIQUES.....</b>	<b>110</b>
2.6.1. MESURE DU PH ET DE LA CONDUCTIVITE	110
2.6.1. MICRO-SPECTROMETRIE RAMAN	110

2.6.2.	DIFFRACTION DES RAYONS X (DRX)	112
2.6.3.	L'ANALYSE THERMOGRAVIMETRIQUE	113
2.6.3.1.	Calcul de $Mg(OH)_2$ et $CaCO_3$ dans le dépôt calcomagnésien et le bio-précipité	115
2.6.3.2.	Calcul de $CaCO_3$ hydrates dans les granulats recyclés	116
<b>2.7.</b>	<b>RÉFÉRENCES.....</b>	<b>118</b>

## 2. Matériaux, méthodes et techniques d'analyses

### 2.1. Introduction

Ce deuxième chapitre détaille les matériaux et les protocoles expérimentaux employés dans ces travaux de thèse visant à la formation d'un agglomérat calcomagnésien par électrolyse de l'eau de mer et par utilisation de bactéries marines biocalcifiantes dans un milieu granulaire composé de granulats recyclés. En raison du caractère tri-disciplinaire de cette thèse, nous avons optés pour un plan quelque peu original dans la présentation *des matériaux et des méthodes* afin de faciliter la compréhension des protocoles/matériaux de chaque chapitre résultats. Ainsi, ce plan du chapitre 2, est organisé selon l'ordre des chapitres « résultats » de ce manuscrit, lesquels correspondent d'ailleurs à chacun des matériaux étudiés à savoir : les granulats recyclés, la formation de l'agglomérat calcomagnésien et la biocalcification par les bactéries marines biocalcifiantes. Les méthodes et protocoles associées à la caractérisation/ formation de ces matériaux sont ainsi regroupés dans leur partie correspondante.

Après une présentation de l'eau de mer, une composante transversale de toutes nos expérimentations, nous présenterons les granulats utilisés pour le squelette granulaire de l'agglomérat, ainsi que le protocole expérimental employé pour évaluer leur réactivité dans l'eau de mer. Par la suite, nous décrivons les montages et protocoles électrochimiques indispensable à la création de l'agglomérat, suivi des bactéries marines utilisées ainsi que les protocoles microbiologiques centrés sur la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$ .

### 2.2. Eau de mer naturelle et artificielle

#### 2.2.1. Utilisations

Afin de se rapprocher au mieux des conditions réelles environnementales, de l'eau de mer naturelle (EDMN) a été prélevée directement dans l'Océan Atlantique, à Angoulins-sur-Mer (17). Elle a été conservée dans des barils étanches à température ambiante au maximum pendant deux semaines pour limiter son acidification par le  $\text{CO}_2$  atmosphérique (vérifiée par des mesures pH à 7 et 15 jours) et la prolifération bactérienne liée à la stagnation de l'eau. Dans le cadre de cette thèse, l'eau de mer naturelle occupe un rôle central dans l'ensemble des expérimentations menées. Son utilisation intervient dans différents contextes. Elle est utilisée en tant qu'électrolyte dans le processus de formation des agglomérats calcomagnésiens par polarisation cathodique, également comme milieu réactionnel pour la réactivité des granulats recyclés et sert de milieu de culture pour mener les expériences de microbiologie. En ce qui concerne l'eau de mer artificielle (EDMA), elle est uniquement employée en tant que milieu isotonique pour le dénombrement bactérien.

### 2.2.2. Composition chimique

L'eau de mer naturelle (EDMN) est principalement composée de divers sels et ions tels que  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$  et  $\text{HCO}_3^-$ . Dans le cadre de ces travaux de thèse, l'eau de mer naturelle est caractérisée par spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES) (**voir chapitre 2.3.3.3**) vis-à-vis des éléments Ca, Mg, Al et Si, et par des mesures pH et conductivité. Ces éléments ont été choisis par rapport à la composition chimique du dépôt calcomagnésien (DC), à savoir le  $\text{CaCO}_3$  et le  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , et des hydrates cimentaires contenus dans le béton, qui correspondent à des composés aluminosilicates (C-S-H, AFm et AFt) et de l'hydroxyde de calcium ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ). Les données obtenues par ICP-AES et par mesures pH/conductimétriques de l'eau de mer sont présentées dans le **Tableau 2-2**.

Tableau 2-1 : Caractéristiques physico-chimiques et ioniques de l'EDMN prélevée à Angoulins (10 mesures) (17). Moyenne de 10 mesures. \*=teneur en dessous du seuil de détection de l'appareil.

	Eléments chimiques (g/L)				Paramètres chimiques	
	Ca	Mg	Al	Si	pH	Conductivité (mS/cm)
<b>EDMN</b>	0,49±0,04	1,32±0,06	0,0017±0,001	Négligeable*	7,5 ± 0,2	37 ± 3,0

Ces teneurs ioniques sont conformes à celles généralement rencontrées dans l'Océan (10,11), excepté pour les ions aluminium légèrement en excès ( $[\text{Al}^{3+}]_{\text{eau de mer}} = 1.10^{-6} \text{ g/kg}$ ) (12). La concentration en ions magnésium est en excès par rapport à celle des ions calcium, représentant un rapport Mg/Ca équivalent à 2,7 ou quasiment 3 :1 ce qui est couramment rencontré dans l'eau de mer. Quant aux paramètres chimiques, l'EDMN possède une conductivité conforme alors que le pH est légèrement plus acide que la moyenne de l'Océan Atlantique, estimée à 8,1 (13,14). Ceci peut résulter de l'acidification du  $\text{CO}_2$  lors du stockage de l'eau de mer dans les barils.

Quant à l'eau de mer artificielle (EDMA), sa préparation repose sur la base de la norme ASTM D1141-98 (15). Sa composition chimique comprend 24,54 g/L de NaCl (PanReac Applichem), 1,54 g/L  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Honeywell), 11,1 g/L de  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (FisherScientific), 4,09 g/L de  $\text{NaSO}_4$  (Sigma Aldrich), 0,69 g/L de KCl (Merck) et 0,23 g/L de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Sigma Aldrich). Son pH est de 8,2. Pour les besoins des expériences microbiologiques, l'EDMA est stérilisée à l'aide d'un autoclave (Grosseron™ modèle HG-133) à 115°C pendant 20 min.

## 2.3. Squelette granulaire

Les granulats recyclés (GR) et les granulats naturels (GN) ont été utilisés en tant que matières premières dans le squelette granulaire dédié à la formation de l'agglomérat. Nous avons utilisé des granulats naturels à des fins de comparaison avec les granulats recyclés. Cependant, il est important de noter que les granulats naturels ne sont pas l'élément central de cette étude de thèse, ce qui nous a conduit à mettre davantage l'accent sur la caractérisation des granulats recyclés plutôt que sur celle des granulats naturels.

### 2.3.1. Les granulats recyclés

#### 2.1.1.1. 2.3.1.1. Origine, réception, échantillonnage et nature des constituants

D'un point de vue granulaire, les granulats sont classés par leurs dimensions extrêmes, en millimètre, d (plus petite dimension) et D (plus grande dimension).

Les granulats recyclés ont été produits par la plateforme de recyclage Valosphère à La Rochelle (17), plateforme filiale de l'entreprise Spie Batignolles Malet (Toulouse, 31). Un big-bag de granulats recyclés, de fraction granulaire 0/40, d'environ 1 tonne a été réceptionné dans les locaux de l'IUT Génie civil Construction Durable de La Rochelle Université. Pour faciliter le stockage, un échantillonnage par quartage est réalisé sur 500 kg de GR. Cette méthode, décrite dans la **Figure 2-1**, réalisée manuellement, consiste à fractionner le matériau en quatre quarts et à combiner deux quarts opposés en un tas de GR qui est fragmenté de nouveau jusqu'à former un échantillon de laboratoire (d'environ 30kg).

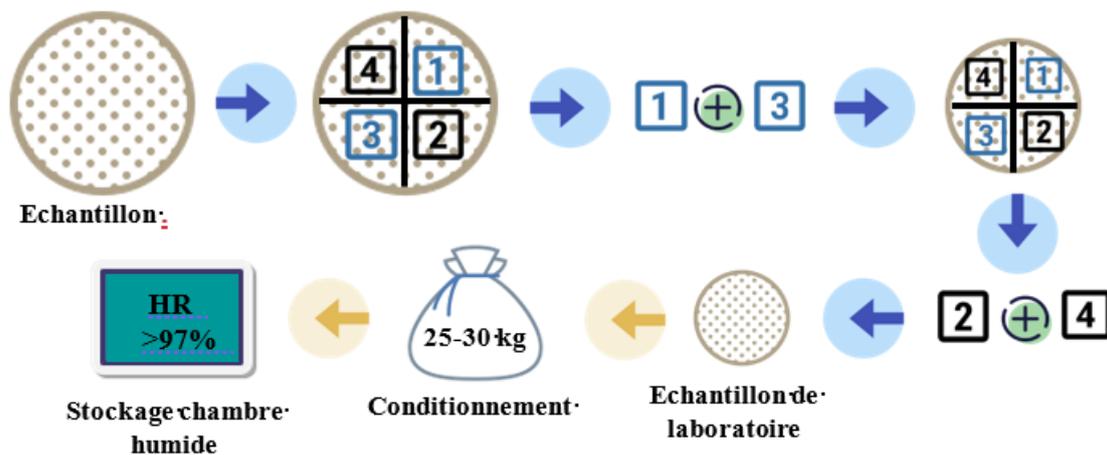


Figure 2-1 : Échantillonnage, conditionnement et stockage des GR. HR = Humidité Relative

Cette opération de quartage est réalisée jusqu'à atteindre la masse d'échantillon souhaitée. Après échantillonnage, les GR sont conditionnés dans des sacs hermétiques de 25-30 kg, puis stockés dans une chambre à humidité relative supérieure à 97% pour limiter, voire empêcher le phénomène de carbonatation naturelle. Après réalisation d'une analyse granulométrique (voir 2.3.1.2) sur les GR (0/40), les granulats recyclés sont divisés et stockés en deux fractions granulaires distinctes : 0/20 et

20/40. La première grave est utilisée pour la structure granulaire de l'agglomérat calcomagnésien et la deuxième grave pour les essais de lixiviation des GR en EDMN.

Les propriétés physico-chimiques des granulats recyclés sont fortement influencées par leur nature minéralogique. Pour identifier la composition des GR, un essai de tri manuel défini par la norme EN 933-11 (16) a été réalisé. Le **Tableau 1-5**, qui présente un extrait de cette norme, donne la masse minimale de prise d'essai pour réaliser le tri manuel en fonction du diamètre du plus gros granulats (D).

Tableau 1- 5 : Masse minimale de prise d'essai en fonction du diamètre du plus gros granulat (NF EN 933-11)

D, diamètre du plus gros granulats (mm)	Masse minimale de prise d'essai (kg)
63	50
32	10
20	4
16	2
14	1
8	0,5

Cette masse de prise d'essai est par la suite tamisée à 4 mm, car en dessous de ce diamètre, les particules sont considérées trop petites pour identifier leur nature avec une certitude suffisante. Nous avons donc réalisé cet essai de tri sur deux coupures granulaires : 4/20 et 20/40, pour une masse de prise d'essai de 15 kg.

La **Figure 2-2** représente la répartition massique des six familles minéralogiques, imposées par la norme, issues de l'essai de tri réalisé sur ces deux graves.

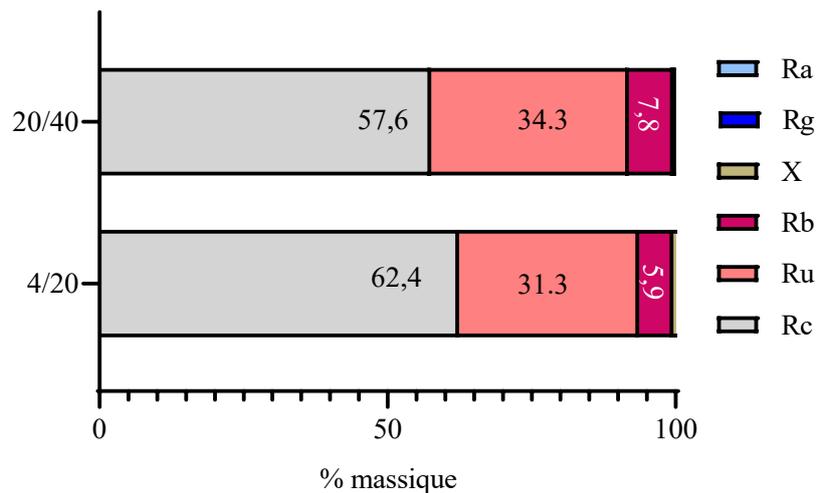


Figure 2-2 : Composition massique des GR selon deux coupures, 20/40 et 4/20, réalisée par tri manuel. Ra = matériaux bitumineux, Rg= verre, X= autres Rb= terre cuite, briques, Ru = pierre naturelles, Rc= matériaux à matrice cimentaire.

Les compositions des GR 20/40 et GR 4/20 sont quasi similaires. Ces GR sont principalement composés de trois familles : les matériaux à matrices cimentaires (Rc) représentant près de 2/3 de l'ensemble des GR, suivi des pierres naturelles (Ru) à hauteur de 1/3 des GR, et des terres cuites (Rb) correspondant à moins de 10% de la composition des GR. On remarque cependant une différence au niveau de la proportion des Rc, plus importante pour la grave 4/20, et des éléments Ru légèrement majoritaires pour la grave 20/40. La prédominance des éléments de béton est cohérente avec la nature des déchets inertes entrant dans la plateforme de recyclage, essentiellement composés de matériaux de démolition.

#### 2.1.1.2. 2.3.1.2. Analyse granulométrique

Une analyse granulométrique dont la méthode est définie par la norme EN 933-1 (2016)(7), est réalisée sur un échantillon de 30 kg de GR (3 analyses de 10 kg), par voie sèche, sans lavage, pour déterminer la distribution dimensionnelle des grains .

L'analyse granulométrique permet de déterminer les pourcentages pondéraux respectifs des différentes classes granulaires constituant l'échantillon. Cette classification s'effectue au moyen d'une série de tamis emboîtés les uns sur les autres dont les dimensions des ouvertures (mm) sont décroissantes du haut vers le bas. La série de tamis utilisés dans le cadre de notre étude est donnée dans le **Tableau 2-3**.

Tableau 2-2 : Tamis utilisés pour l'analyse granulométrique des GR

Ouverture tamis (mm)	0,315	0,63	1,25	2,5	4	6,3	8	10	12,5	16	20	31,5

L'échantillon, préalablement séché à l'étuve à 105°C jusqu'à stabilisation de la masse, est placé dans le tamis d'ouverture le plus élevé et, par vibration mécanique de l'ensemble de la colonne, les grains sont refusés sur les tamis selon leur taille granulaire (**Figure 2-3**).

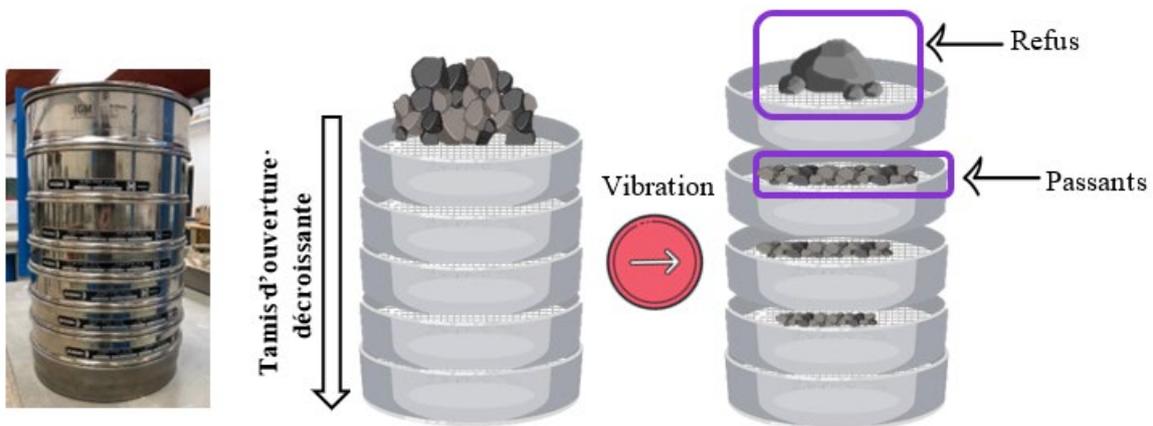


Figure 2-3 : Tamisage d'un échantillon de granulats après vibration.

Les masses de refus, matériaux retenus par le tamis, et de passants, matériaux traversant le tamis, sont rapportées à la masse initiale de l'échantillon permettant ainsi de construire une courbe granulométrique avec en abscisse, à l'échelle logarithmique, le diamètre d'ouverture des tamis ( $\mu\text{m}$ ) et en ordonnée, le pourcentage de passants cumulés (%). Pour les particules fines ( $\leq 500 \mu\text{m}$ ), une analyse complémentaire est réalisée à l'aide d'un granulomètre laser de type CILAS 1190 par voie sèche dont le diamètre minimal est de  $0,05 \mu\text{m}$ .

### 2.3.2. Les granulats naturels (GN)

Les granulats naturels proviennent d'un fournisseur local de granulats pour la production de béton. Ces granulats correspondent à de la diorite et du granite, issus de carrière. Trois fractions granulaires ont été utilisées pour la mise en place du squelette : 0/2, 6/10 et 10/20. L'analyse granulométrique est réalisée selon le même protocole que détaillé précédemment. D'après les informations données par les fiches techniques pour chacun fraction granulaire, la masse volumique réelle est de  $2,6 \text{ kg/m}^3$  pour la fraction 0/2 et de  $2,9 \text{ g/cm}^3$  pour les fractions 6/10 et 10/20.

### 2.3.3. Techniques de caractérisation

#### 2.1.1.3. 2.3.3.1. Masse volumique réelle

La masse volumique réelle correspond à la masse sèche des granulats rapportée au volume apparent de matière solide (**Figure 2-4.A**), autrement dit le volume de solide incluant le volume des vides (pores ouverts et fermés) (**Figure 2-4.B**).

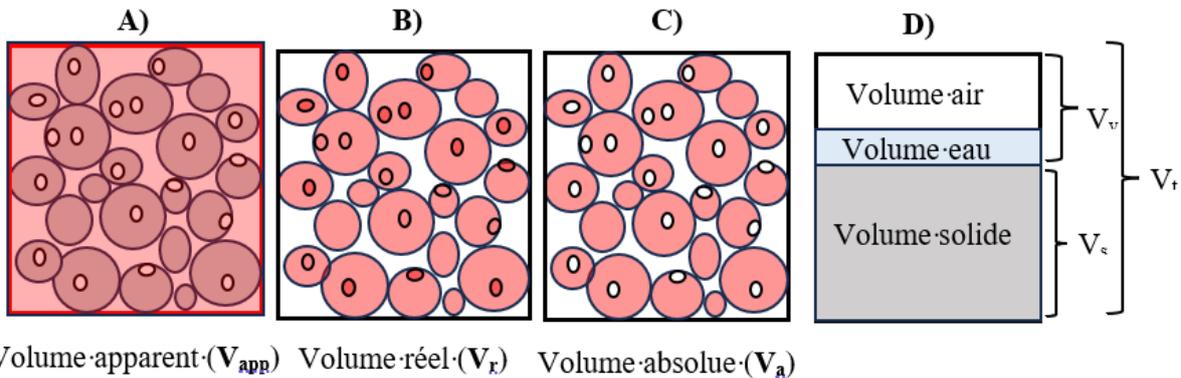


Figure 2-4 : A) Volume apparent ( $V_{app}$ ), B) réel ( $V_r$ ) et C) absolue ( $V_a$ ) d'un empilement de granulats où D) les volumes d'air et de l'eau représentent le volume de vide ( $V_v$ ) et les granulats, le volume de solide ( $V_s$ ).

La masse volumique réelle ( $\rho_r$ ) et la masse volumique apparente ( $\rho_{app}$ ) reviennent respectivement aux expressions **Eq.2-1** et **Eq.2-2**.

$$\rho_r = \frac{m_s}{V_r} \quad \text{Eq.2-1}$$

$$\rho_{app} = \frac{m_s}{V_t} \quad \text{Eq.2-2}$$

La masse volumique réelle est mesurée à l'aide d'un pycnomètre pour la fraction granulaire inférieure à 6 mm et par pesée hydrostatique pour les fractions granulaires supérieures à 6 mm. Ces mesures sont réalisées selon la norme NF EN 1097-6, 2014 (17). Les granulats sont préalablement séchés dans une étuve à 105°C pendant 24 heures.

- Méthode au pycnomètre

La méthode au pycnomètre, illustrée dans la **Figure 2-5**, consiste à déposer une masse sèche ( $m_s$ ) dans un pycnomètre de dimension normée puis de compléter d'eau jusqu'au trait de jauge. À cet instant, la masse du pycnomètre rempli d'eau et de l'échantillon est notée  $m_{t0}$ .

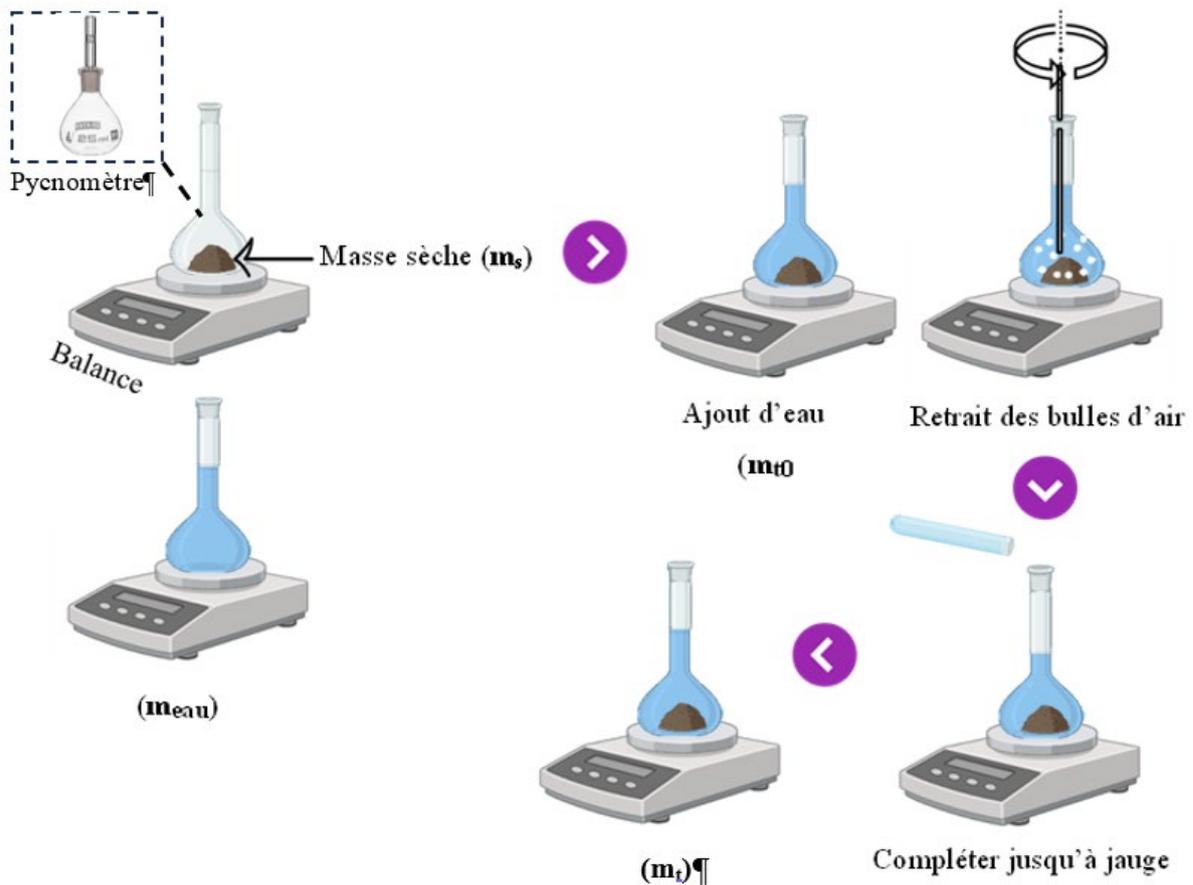


Figure 2-5 : Protocole de mesure de masse volumique réelle au pycnomètre

Les bulles d'airs emprisonnées dans les SR sont évacuées à l'aide d'une tige métallique puis de l'eau est rajoutée de nouveau jusqu'au trait de jauge à mesure que les SR absorbent l'eau. La masse totale  $M_t$  qui représente la masse du pycnomètre rempli d'eau et des SR à l'instant  $t$  est mesurée à différents intervalles de temps : 1, 5, 10, 30 minutes ; 1, 2, 4, 8, 24 et 48 heures puis 7 jours. Une extrapolation de ces mesures à différents intervalles permet de remonter à  $m_{t0}$  ( $t=0$ ). Ces mesures sont réalisées après avoir complété le pycnomètre d'eau. La masse volumique réelle s'exprime selon la relation suivante (Eq.2-3).

$$\rho_r = \rho_w \frac{m_s}{m_{eau} - (m_{t0} - m_s)} \quad \text{Eq.2-3}$$

Avec,

$m_s$  la masse sèche des granulats recyclés dans l'air (g)

$m_{t0}$  la masse du pycnomètre rempli d'eau et des granulats recyclés à l'instant  $t_0$  (g)

$m_{eau}$  la masse du pycnomètre rempli d'eau (g)

$\rho_w$  la masse volumique de l'eau égale à  $1\text{g/cm}^3$

- Pesée hydrostatique

La masse volumique réelle des fractions 6/10 et 10/20 est déterminée par pesée hydrostatique selon la norme NF EN 1097-6 (2014)(17).

Les granulats recyclés préalablement séchés sont placés dans un panier suspendu à une balance puis immergés dans l'eau. La masse volumique s'obtient à partir de la masse sèche de l'échantillon dans l'air ( $m_s$ ) et de la masse de l'échantillon dans l'eau à  $t_0$  ( $m_{t0}$ ). Cette masse de l'échantillon à  $t_0$  est cependant difficile à mesurer en raison des mouvements de l'eau lorsque les granulats y sont plongés. Elle est donc déterminée par extrapolation linéaire des mesures réalisées à  $t=1$  min,  $t=3$  min et  $t=5$  min (**Figure 2-6**).

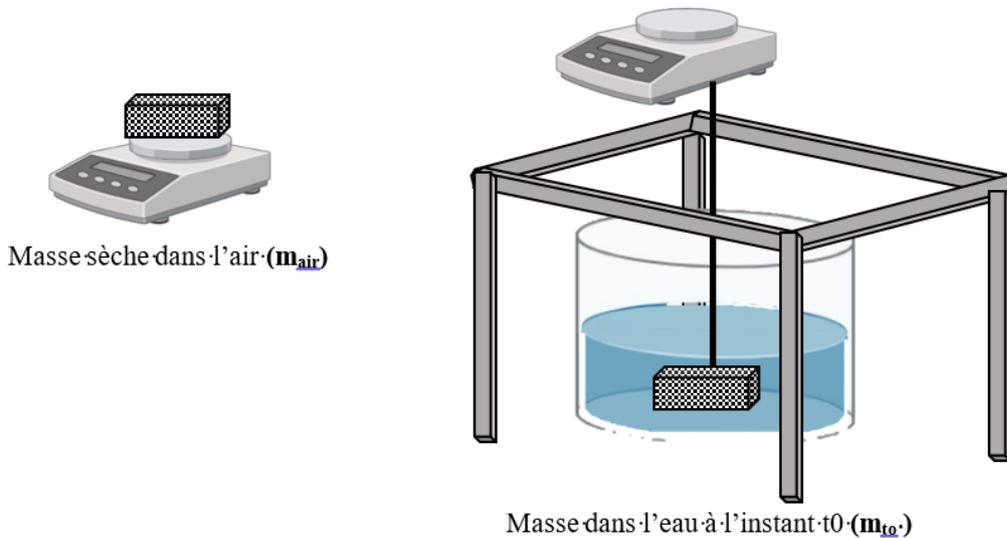


Figure 2-6 : Protocole de mesure de masse volumique par pesée hydrostatique.

La masse volumique réelle par pesée hydrostatique se calcule selon l'équation suivante (**Eq.2-4**):

$$\rho_r = \rho_{eau} \frac{m_s}{m_s - m_{t0}} \quad \text{Eq.2-4}$$

Avec,

$m_s$  la masse sèche de l'échantillon à l'air (g)

$m_{t0}$  la masse de l'échantillon dans l'eau à  $t_0$  (g)

$\rho_{eau}$  la masse volumique de l'eau égale à  $1\text{g/cm}^3$

2.1.1.4. 2.3.3.2. Compacité du squelette granulaire

La compacité (c) correspond au volume de solide ( $V_s$ ) rapporté au volume total ( $V_t$ ). En se référant à la **Figure 2-4**, elle s'exprime par le rapport de la masse volumique apparente ( $\rho_{app}$ ) et de la masse volumique réelle ( $\rho_r$ ) selon l'**Eq.2-5**.

$$c = \frac{\rho_{app}}{\rho_r} \quad \text{Eq.2-5}$$

En utilisant la proportion de chaque fraction granulaire, préalablement définie par l'analyse granulométrique, qui compose le squelette granulaire, nous pouvons calculer la compacité initiale ( $c_i$ ) de l'empilement granulaire. Ceci est réalisé en se basant sur la masse volumique réelle de chaque fraction ainsi que sur le volume apparent du squelette selon l'**Eq.2-6**:

$$(\%) c_i = \frac{\rho_{app}}{\rho_{abs}} = \frac{\rho_{app}}{\%m_1 \cdot \rho_{abs1} + \%m_2 \cdot \rho_{abs2} + \%m_3 \cdot \rho_{abs3}} \times 100 \quad \text{Eq.2-6}$$

Avec,

$c_i$  la compacité initiale du squelette granulaire (%)

$\rho_{app}$  la masse volumique apparente du squelette granulaire ( $\text{g/cm}^3$ )

$\rho_{abs}$  la masse volumique absolue du squelette granulaire ( $\text{g/cm}^3$ ) déterminée par la masse volumique absolue de chaque fraction granulaire ( $\rho_{absx}$  avec  $x=1,2,3\dots$ ) en prenant en compte leur proportion massique ( $\%m_x$  avec  $x=1,2,3\dots$  et  $\sum \%m_x = 1$ ) au sein du squelette

2.1.1.5. 2.3.3.3. La spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES)

La spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES) est une technique analytique qualitative basée sur l'ionisation d'une population d'atomes et d'ions d'un échantillon par émission de radiations lumineuses. Elle permet de mesurer la nature et la concentration en éléments chimiques se trouvant en solution. Pour ces travaux de thèse, cette technique est utilisée pour évaluer l'effet de la lixiviation des granulats recyclés sur la composition chimique de l'eau de mer, dont le montage et le protocole expérimental sont détaillés dans la partie suivante.

Pour ces expérimentations, nous avons sélectionné quatre éléments : Ca, Mg, Si et Al. Les limites de détection de ces éléments imposées par le spectromètre Vista-MPX Varian, appareil utilisé ici, sont présentées dans le **Tableau 2-4**.

Tableau 2- 3: Limites de détection des éléments Ca, Mg, Al et Si, imposées par le spectromètre Vista-MPX Varian.

Elément	Ca	Mg	Al	Si
LD <sub>min</sub> (mg/L)	0,300	0,064	0,036	0,224
LD <sub>max</sub> (mg/L)	100	1000	5	5

LD<sub>min</sub> = Limite de détection minimale ; LD<sub>max</sub> = Limite de détection maximale

L'étalonnage est réalisé à partir de solutions commerciales multiélémentaire PLASMA CAL de la société SCP SCIENCE. Avant les dosages, chaque échantillon est acidifié dans une solution d'acide nitrique  $\text{HNO}_3$ , 69% (Trace Métal Grade, Fischer Scientific), à 1% volume.

### 2.3.4. Réactivité en eau de mer : montage et protocole

La réactivité physico-chimique des granulats recyclés dans l'eau de mer naturelle a été étudiée grâce à la conception et le montage d'un réacteur en verre à double paroi.

Les expériences sont réalisées dans un réacteur en verre à double paroi d'une contenance de 2L. La température du milieu est contrôlée par circulation d'eau dans la double paroi à l'aide d'un bain thermostaté à  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , en lien avec la température moyenne de l'eau de mer mesurée dans les aquariums (voir (chapitre2)-2.4). Le réacteur a été conçu par modélisation 3D sur SolidWorks (édition 2021-2022). Les expériences sont menées à la pression atmosphérique. Le montage et le protocole sont illustrés respectivement sur les **Figure 2-7** et **2-8**.

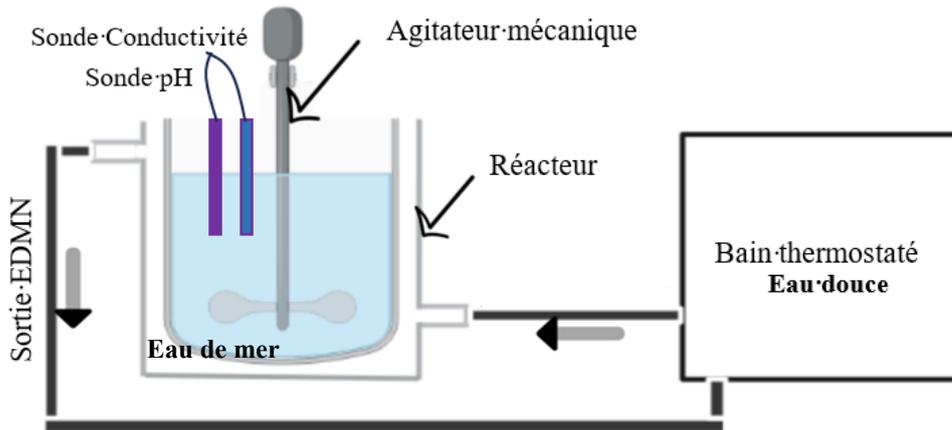


Figure 2-7: Montage du réacteur à double paroi dédié à l'étude de la réactivité des granulats recyclés dans l'eau de mer et mesures du pH et de la conductivité.

Pour chaque catégorie de matériaux GR, Rc, Rb et Ru, les échantillons sont obtenus par concassage et tamisage (ouverture du tamis 5 mm) de la fraction 20/40, en sable recyclé (SR) 0/5. Le sable naturel (SN) 0/5 est préparé par concassage et tamisage de la fraction 6/10. Les échantillons sont introduits dans un volume de 1,5 L d'eau de mer naturelle puis mis en suspension à l'aide d'une agitation mécanique fixée à 500 tr/min. Les matières sèches de SR, Rc, Rb, Ru et SN introduites dans l'eau de mer sont de 150g chacun pour un rapport Liquide/Solide de 10. Pour chaque essai, les échantillons ont été préalablement déshydratés dans une étuve à  $105^\circ\text{C}$  pendant 24 heures. Les mesures de pH et de conductivité sont réalisées toutes les 2 minutes pendant 24h puis toutes les 10 min jusqu'à l'équilibre du système solide/solution. Les électrodes sont étalonnées à chaque début d'expérience.

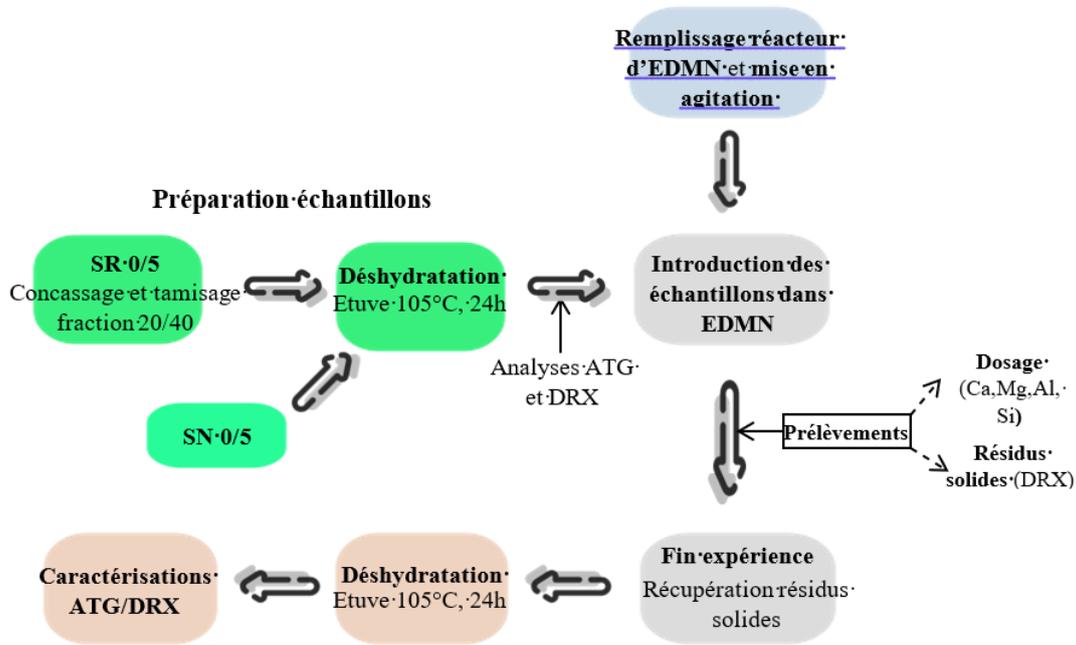


Figure 2-8: Préparations des échantillons de granulats pour leur étude en réacteur et protocole d'expérimentations visant à suivre l'effet de leurs lixiviations sur les propriétés de l'eau de mer en termes de pH/conductivité et de sa composition chimique

Des dosages ioniques sont effectués au cours du temps à raison de prélèvements ponctuels à différentes échéances 30 min, 24h, 48h, 4, 6, 8 et 9 jours. Ces prélèvements sont réalisés à l'aide d'une seringue de 15 mL munie d'un filtre à fibres de verre de porosité 20  $\mu\text{m}$  (marque Corning). La solution filtrée (SF) est analysée par ICP pour quantifier les teneurs en calcium, magnésium, aluminium et silicium.

Un deuxième prélèvement est réalisé simultanément avec une seringue, cette fois-ci sans filtre, pour récupérer et analyser les résidus solides en suspension dans la solution. Pour cela, la solution prélevée est filtrée à l'aide d'un papier filtre de porosité 20  $\mu\text{m}$  dans une fiole de 100 mL. Les résidus déposés sur le papier filtre sont séchés à température ambiante pendant 48h pour être ensuite caractérisés par Diffraction à Rayons X (DRX). À chaque fin d'expérience, les échantillons de GR sont retirés par filtration puis de nouveau séchés à l'étuve pendant 24 heures pour être caractérisés par DRX et Analyse ThermoGravimétrique (ATG). Avant immersion, une analyse ATG est effectuée sur des échantillons témoins pour déterminer sa composition et quantifier les proportions de certains constituants.

## 2.4. Formation de l'agglomérat calcomagnésien : montages et caractérisation

### 2.4.1. Montages et protocoles électrochimiques

L'agglomérat calcomagnésien est formé par polarisation cathodique en immersion et en écoulement. Le montage expérimental commun aux deux conditions est constitué d'un aquarium de 15 L alimenté en continu d'eau de mer et d'un dispositif électrochimique (**Figure 2-9.gauche**). Ce montage a été développé par le laboratoire LaSIE et notamment employé dans les travaux de thèse de Zanibellato (5) pour la formation d'agglomérats en immersion. Le dispositif électrochimique est un montage à 3

électrodes, composé d'une électrode de référence Ag/AgCl (+0.250 V/ESH) préalablement calibrée, d'une contre électrode en titane platiné (anode) et d'une électrode de travail (cathode) enfouie dans un empilement granulaire, le tout contenu dans un panier éco-conçu immergé ou émergé dans l'eau de mer. Ces électrodes sont reliées à un potentiostat VSP Biologic, lui-même connecté à un ordinateur pour suivre les mesures de potentiel (**Figure 2-9.droite**). La cathode est une grille d'acier de construction standard à mailles carrées de 2,4 cm et de dimension d'environ 8,5 cm de longueur et 6 cm de largeur pour une surface cathodique exposée de 40,5 cm<sup>2</sup> (Volume grille (V<sub>g</sub>) = 2,6 cm<sup>3</sup>).

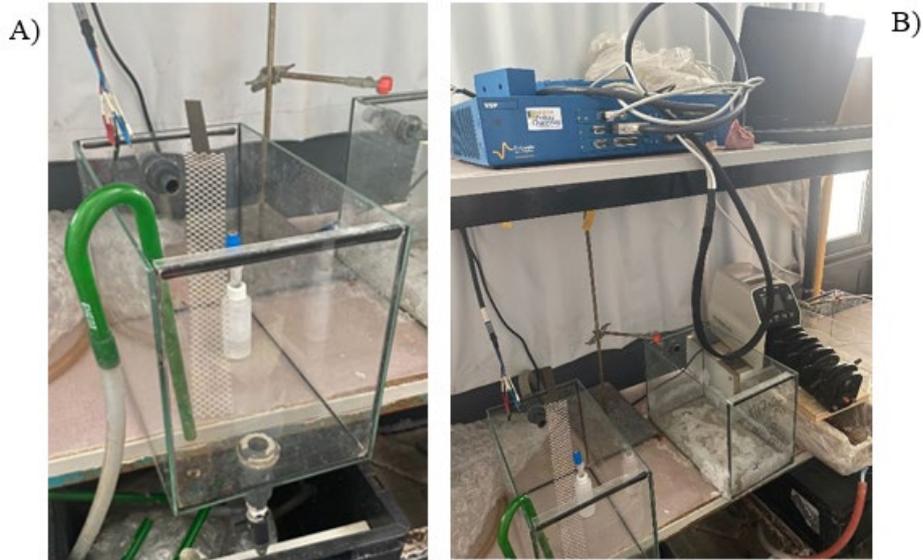


Figure 2-9 : Photos de A) l'aquarium alimenté en eau de mer en continu et B) du dispositif électrochimique (potentiostat + ordinateur).

L'alimentation en eau de mer s'effectue à partir d'un bac réservoir de 40L dans lequel est placée une pompe d'aquarium standard (marque EHEIM) connectée à une canne d'aspiration qui est positionnée dans l'aquarium. Une perforation positionnée sur le côté de l'aquarium permet l'évacuation de l'eau de mer jusqu'au bac réservoir, permettant ainsi une alimentation continue en circuit ouvert de l'eau de mer (débit d'environ 5L/min). Ces bacs sont renouvelés quasiment chaque semaine d'eau de mer fraîchement récupérée d'Angoulins-sur-Mer afin d'équilibrer la concentration ionique (appauvrissement progressif ionique dû à la consommation des ions Ca<sup>2+</sup> et Mg<sup>2+</sup> par la précipitation du dépôt et enrichissement lié à l'évaporation de l'eau). Dans le laboratoire, la température de l'eau de mer contenue dans l'aquarium varie de 18 (hiver) à 22°C (été) selon les saisons.

La différence entre la polarisation cathodique par immersion et écoulement repose sur l'emplacement du panier dans l'aquarium, qui dans le premier cas est complètement immergé dans l'eau de mer et dans le second cas se positionne au-dessus du niveau de l'eau. Dans le cadre de ces travaux, un dispositif expérimental intégrant un système d'écoulement d'eau de mer a été spécifiquement développé pour la formation de l'agglomérat calcomagnésien. Les montages dédiés aux deux conditions sont présentés dans la partie suivante.

2.1.1.6. 2.4.1.1. Polarisation cathodique immersion/écoulement

2.4.1.1.1. Immersion

La **Figure 2-10** schématise le montage expérimental dédié à la formation de l'agglomérat en immersion. En situation d'immersion, le panier contenant l'empilement granulaire et la cathode est positionné au fond de l'aquarium.

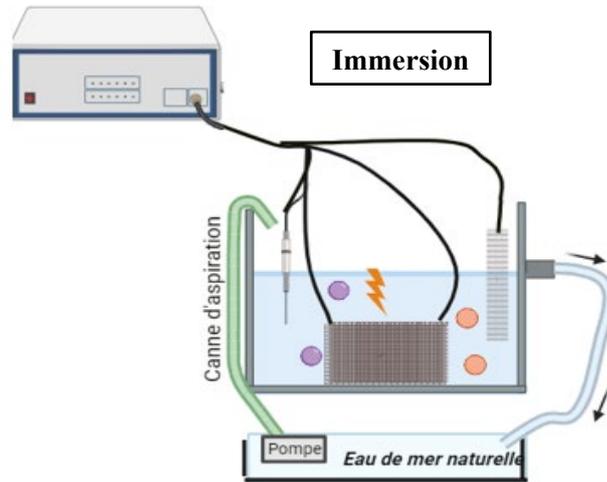


Figure 2- 10 : Montages expérimentaux.(dispositif électrochimique + aquarium alimenté en continu + panier contenant les GR avec la grille placée à l'horizontale) utilisé pour les expériences en immersion.

2.4.1.1.2. Écoulement

La **Figure 2-11** schématise le montage expérimental dédié à la formation de l'agglomérat en écoulement.

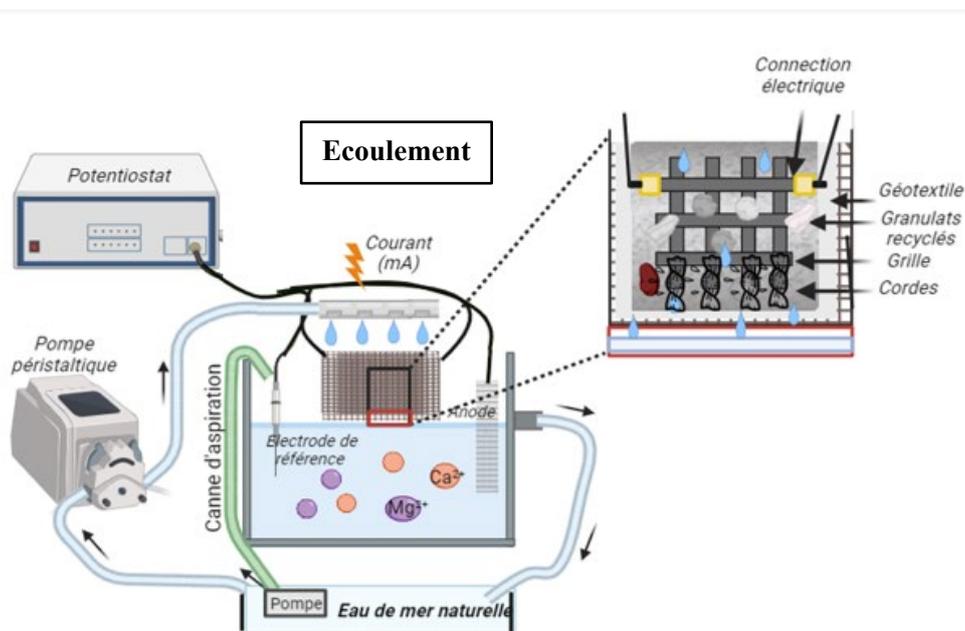


Figure 2-11 : Montages expérimentaux.(dispositif électrochimique + aquarium alimenté en continu + panier contenant les GR avec la grille placée à l'horizontale + système d'écoulement d'eau de mer) utilisé pour les expériences en écoulement.

En écoulement, le panier contenant les GR et la grille est placé au niveau de la surface de l'eau de mer. Un système en écoulement a été spécialement conçu et mis en place pour garantir le passage du courant à la surface de la grille à travers un écoulement d'eau de mer, juste au-dessus du panier.

Ce système d'écoulement se compose d'une pompe péristaltique LabN1 avec une tête de pompe multicanaux type YZ1515x (marque Shenchen) accompagnée de tubes flexibles en silicone, d'un Réservoir d'Écoulement d'Eau de Mer (REEM) spécialement dimensionné (SolidWorks (édition 2021-2022)) et imprimé en 3D (imprimante Ultimaker 5S-Polymères utilisés : ABS (Acrylonitrile Butadiène Styène) et PLA (Acide Polylactique)) (**Figure 2-11** et **Figure 2-12**). Soit les expérimentations sont réalisées avec la grille seule (**Figure 2-12.A**) et soit avec la grille enfouie dans un empilement de granulats (recyclés ou naturels) contenu dans un panier issus de poche à huître, dédié à la formation de l'AG sous écoulement (**Figure 2-12.B**). L'alimentation en eau de mer par la pompe péristaltique s'effectue par le haut du REEM. Les fabrications du panier et du réservoir d'eau de mer sont le résultat d'une succession d'essais de conception et de dimensionnement.

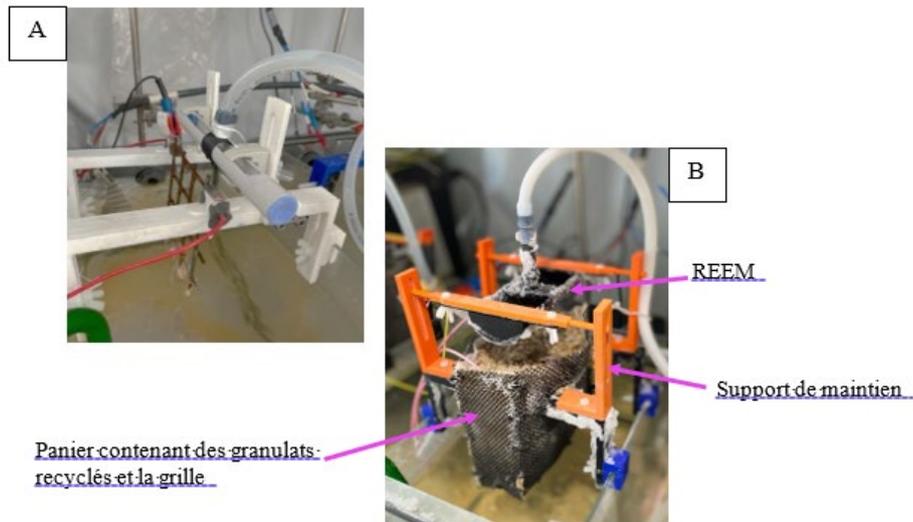


Figure 2-12 : Photos du système d'écoulement illustrant la mise en place du réservoir d'écoulement d'eau de mer (REEM) dédié à A) l'étude du dépôt calcomagnésien sur une grille nue et B) la formation d'agglomérats calcomagnésien sur une grille enfouie dans un panier contenant des granulats recyclés (avec visualisation du support de maintien).

Après plusieurs essais de fabrication, le REEM dédié à la formation de l'agglomérat est constitué d'un demi-tube à quatre orifices positionnés à équidistance sur la longueur et surmonté en son centre d'un raccord permettant l'arrivée en eau de mer amenée par la pompe péristaltique (**Figure 2-11.B**). L'ouverture du tube permet de contrôler l'évacuation en eau sur chaque sortie. Ces quatre orifices, de 2 mm de diamètre, correspondent au diamètre à chaque extrémité de la grille d'acier. Ce diamètre et la position du raccord ont été spécialement étudiés pour permettre un débit d'écoulement similaire dans chaque orifice. Le REEM est positionné au-dessus du panier. Le panier (grille + granulats) et le REEM sont placés au-dessus du niveau de l'eau de mer par des supports crochetés sur les rebords de l'aquarium (**Figure 2-12.B**).

2.1.1.7. 2.4.1.2. Préparation des paniers contenant les GR

Le panier contenant les GR est fabriqué à partir de récupération de poches à huître et de géotextile. Il se présente sous une forme parallélépipède rectangle. Chaque face est découpée dans une poche à huître puis jointe à un géotextile avant d'être reliée aux autres faces à l'aide de serflex. Le géotextile permet de retenir les grains de granulats de petite taille. Les dimensionnements du panier ont été définies par rapport à la hauteur de la grille, la largeur de l'aquarium mais aussi selon le dispositif de maintien de l'ensemble du système « réservoir + panier » au-dessus du niveau de l'eau de mer (symbolisant la marée basse), que nous verrons ci-après. Le panier est placé juste au-dessus du niveau de l'eau de mer (le bas du panier effleure la surface de l'eau de mer) de telle manière à minimiser la chute ohmique et permettre une circulation continue du courant.

Avant la mise en place de la grille dans le panier, sa surface est décapée à l'aide d'une solution de décapage normée (ASTM standards G1-03 : 50%<sub>v/v</sub> HCl (35%) + 50%<sub>v/v</sub> d'eau pure + 3,5g d'inhibiteur de corrosion (hexaméthylènetétramine)) pour retirer les produits de corrosion puis elle est rincée à l'eau déionisée et enfin séchée. Des petites cordes d'environ 5-6 cm sont nouées aux extrémités longitudinales de la grille d'acier pour amorcer la précipitation du DC et garantir une continuité électrolytique. En effet, les cordes retiennent l'eau ce qui entraîne une augmentation significative du pH localement via les réactions électrochimiques se produisant à la surface de la grille. Dans la situation présentée sur la **Figure 2-12.A**, l'écoulement entre la grille et l'eau de mer de l'aquarium n'est pas continu et s'effectue en goutte à goutte ce qui se traduit par une diminution de la section traversée par le courant et donc une augmentation de la chute ohmique. L'ajout de cordes permet un écoulement continu de l'eau de la grille à l'eau de mer et donc une continuité électrolytique. La **Figure 2-13** présente les étapes de préparation des échantillons (panier+grille+granulats).

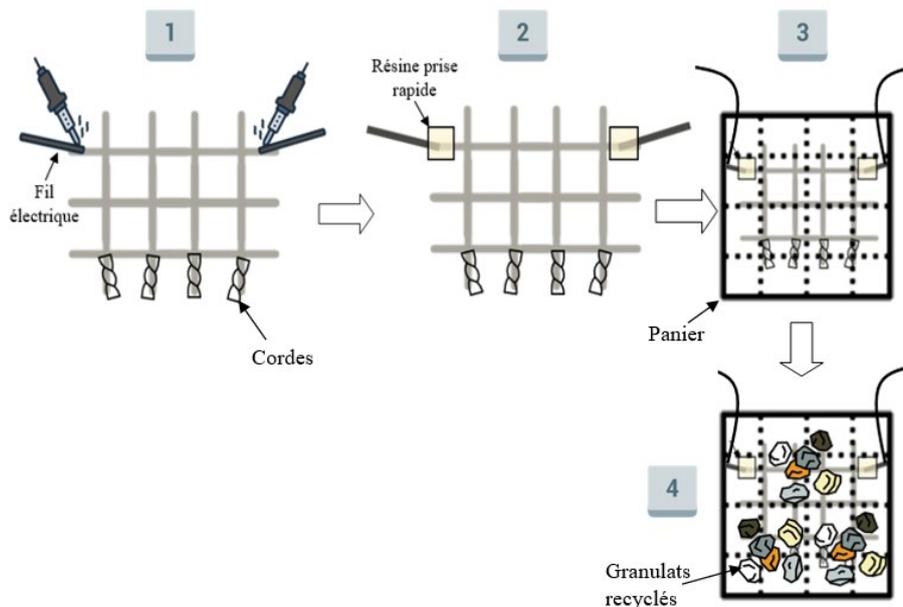


Figure 2-13 : Préparation du panier : 1) connexion électrique, 2) résinage du cordon de soudure, 3) mise en place de la grille dans le panier et 4) remplissage de granulats recyclés.

Deux fils électriques sont soudés de chaque côté de la grille pour permettre les connexions électriques et répartir le courant sur l'ensemble de la cathode (**Figure 2-13-1**). Ces dernières sont ensuite enrobées dans une résine époxy pour assurer l'étanchéité de la liaison (**Figure 2-13 -2**). La grille est finalement positionnée à la verticale au milieu du panier (**Figure 2-13-3**) avant d'être totalement ensevelie par les granulats (recyclés ou naturels) (**Figure 2-13-4**). En retirant les volumes de la grille et des supports dédiés à la suspension du système « panier + REEM », le volume total du panier accessible aux granulats ( $V_p$ ) est de  $1320 \pm 80 \text{ cm}^3$ .

## 2.4.2. Caractérisation de l'agglomérat

### 2.1.1.8. 2.4.2.1. Modélisation 3D

Les volumes apparents des agglomérats calcomagnésiens ( $V_{agg}$ ) sont déterminés par numérisation 3D à l'aide d'un scanner 3D. Ces mesures nous permettent de suivre une cinétique de croissance en volume des concrétions à plusieurs intervalles de temps. Il est important de préciser que le volume d'agglomérat ( $V_{agg}$ ) cité dans ces travaux n'inclut pas le volume de la grille métallique. Le volume de la grille, qui est  $3,3 \text{ cm}^3$ , est soustrait du volume déterminé par les logiciels Blender et EXScan.

Deux scanners 3D portables ont été employés pour la numérisation des agglomérats : le scanner Matter n Form V2 (MF) et le scanner EINscan-SP Shining 3D (EI) (**Figure 2-14**). Notons que le premier appareil a rencontré un dysfonctionnement technique et a été subséquemment remplacé par le scanner EINscan. 40 agglomérats ont été numérisés par le scanner MF et 23 avec le scanner Einscan.



Figure 2-14 : Illustration des scanners 3D Matter n Form V2 (gauche) (photo web) et EINscan-SP V2 Shining 3D (droite).

Ces scanners utilisent une technologie de laser triangulaire qui consiste à projeter le faisceau laser sur un objet placé au centre d'un plateau tournant. La rotation du plateau permet de numériser tous les côtés de l'objet. Ces appareils sont connectés à un ordinateur qui héberge le logiciel de numérisation propre aux scanners (MFStudio pour le scanner MF et EXScan pour le scanner EI), stocke les données et

numérise. La calibration des appareils est réalisée de manière hebdomadaire. La fiabilité de la numérisation de chaque appareil est vérifiée en numérisant un objet de volume connu.

Les étapes permettant d'obtenir le volume apparent des agglomérats calcomagnésien (AG) sont détaillées pour chaque scanner 3D sur la **Figure 2-15**.

Après une configuration des paramètres de numérisation (texturation, angle de rotation, zone de scan...), la numérisation est lancée. À paramètre fixe, la durée d'analyse dépend essentiellement du scanner et du processeur de l'ordinateur. L'utilisation du scanner EI a permis de diviser le temps de scan par 90 (10 min contre 900 min (3 scans de 5 heures)). À la fin de l'analyse, il s'en suit une dernière étape de traitement qui vise à mailler le « modèle » pour extraire les informations relatives à sa surface, son volume et ses dimensions (hauteur, largeur, longueur).

Contrairement au logiciel EXScan, le logiciel MFStudio ne permet pas la détermination instantanée du volume des agglomérats. Nous avons donc eu recours à un logiciel de modélisation 3D, appelé Blender, pour obtenir le volume.

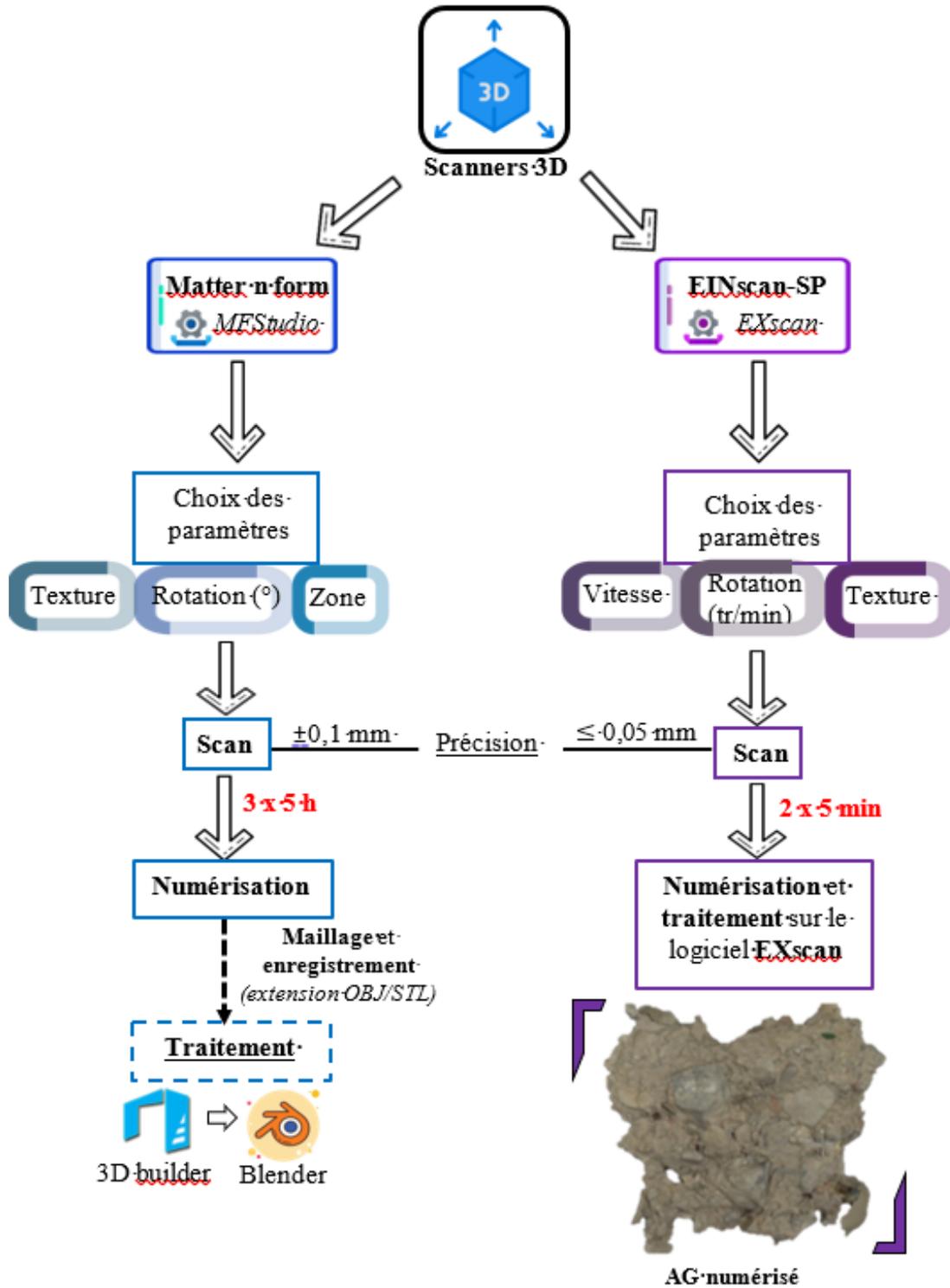


Figure 2-15 : Étapes de numérisation des agglomérats calcomagnésiens et traitement des scans selon les deux scanners 3D.

2.1.1.9. 2.4.2.2. Porosité accessible à l'eau

Pour déterminer la porosité des agglomérats calcomagnésiens, nous procédons à un essai de porosité accessible à l'eau selon la procédure AFPC-AFREM, 1997. Cette méthode permet de mesurer la quantité d'eau pouvant circuler dans le réseau de pores interconnectés du matériau. Pour cela, le dispositif expérimental accompagné du mode opératoire, présentés en **Figure 2-16** et **Figure 2-17** consiste à saturer le matériau en eau sous vide pendant 20h à l'aide d'un dessiccateur et d'une pompe.

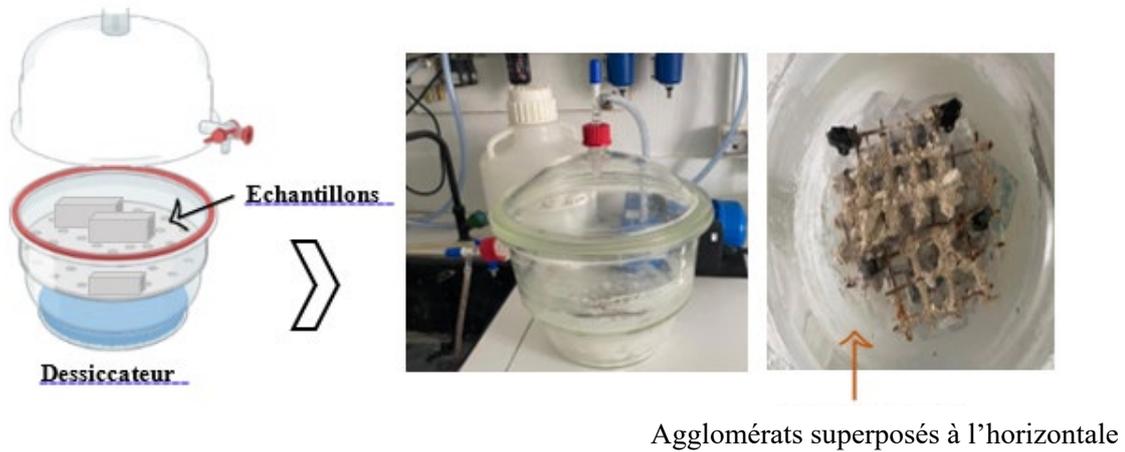


Figure 2-16 : Dessiccateur et installation des agglomérats calcomagnésiens superposés à l'horizontale.

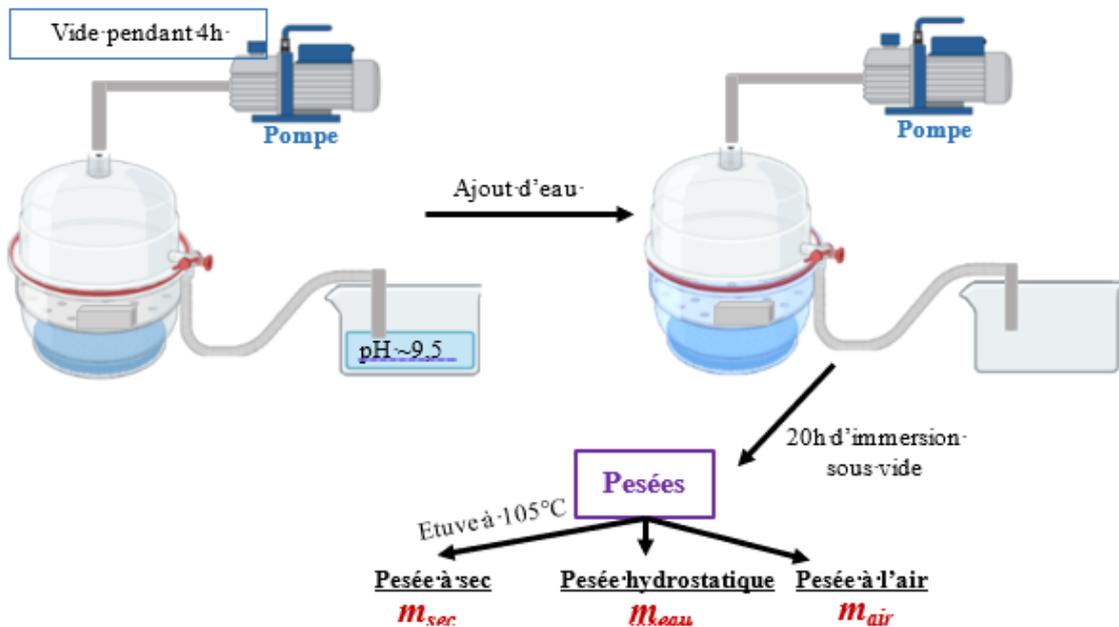


Figure 2-17 : Protocole de mesure de la porosité accessible à l'eau des agglomérats calcomagnésiens

Les échantillons sont, dans un premier temps, placés à l'horizontale dans un dessiccateur relié à une pompe (**Figure 2-16**). Après 4 heures de mise sous vide, l'eau est progressivement ajoutée jusqu'à 2 cm au-dessus de la surface des échantillons (**Figure 2-17**). Une fois les échantillons immergés, le vide est maintenu pendant 20 heures. Les échantillons saturés en eau sont, par la suite, pesés à l'air sur une

balance à  $\pm 0,001$ g de précision, ce qui correspond à  $m_{air}$ , puis ils sont pesés dans l'eau par pesée hydrostatique, ce qui correspond à  $m_{eau}$ . Enfin les échantillons sont séchés à l'étuve à  $105^{\circ}\text{C}$  jusqu'à stabilisation de la masse et pesés pour obtenir la masse sèche notée  $m_{sec}$ . Finalement, la porosité s'obtient à partir de l'Eq.2-17.

$$\emptyset = \frac{V_{vides}}{V_{total}} = \frac{m_{air} - m_{sec}}{m_{air} - m_{eau}} \quad \text{Eq.2-7}$$

Avec,

$m_{air}$  la masse à l'air de l'échantillon saturé, exprimée en grammes

$m_{eau}$  la masse dans l'eau de l'échantillon saturé, exprimée en grammes

$m_{sec}$  la masse de l'échantillon après séchage dans l'étuve à  $105^{\circ}\text{C}$ , exprimée en grammes.

Pour éviter la dissolution du dépôt calcomagnésien, le milieu aqueux est alcalinisé à l'aide d'une solution de NaOH à 0,5 mol/L, préalablement préparée, jusqu'à pH 9,5.

#### 2.1.1.10. 2.4.2.3. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage permet d'obtenir des images à haute résolution, de l'ordre de 5-10 nm dans le meilleur des cas, de la surface d'un échantillon avec une profondeur de champ d'environ 1 nm, en utilisant le principe des interactions électrons-matière. Cette technique permet de communiquer des informations relatives à la morphologie et la composition des échantillons analysés. Les échantillons sont analysés par détection d'électrons secondaires pour obtenir des informations topographiques et via les électrons électrodiffusés pour les informations chimiques de l'échantillon. Le contraste topographique permet, à partir des variations topographiques de la surface de l'échantillon, de visualiser les aspérités présentes en surface, alors que le contraste chimique permet de déterminer la composition chimique des différentes phases présentes en surface de l'échantillon. Le contraste chimique révèle un contraste de gris suivant le numéro atomique (Z). Plus Z est grand, plus l'image est claire.

Couplée à la Spectrométrie Dispersive d'Énergie (EDS), cette technique s'est avérée utile pour visualiser et analyser le dépôt calcomagnésien entre les GR.

Au préalable, les agglomérats calcomagnésiens ont été enrobés dans la résine époxy puis découpés à l'aide d'une tronçonneuse munis d'une lame diamant pour obtenir une taille d'échantillon de l'ordre de 1 cm d'épaisseur. La surface des échantillons a ensuite été polie pour éliminer les traces métalliques de la lame.

L'ensemble des échantillons ont été analysés à l'aide de deux microscopes électroniques :

- FEI Quanta 200F ESEM Environnemental munis d'un canon FEG, précision de 3 nm avec une source alimentée à 15kV et une pression d'eau de 1,1 mbar.
- JEOL JSM 5410, munis d'un canon au Tungstène et d'une précision de 35 nm.

Des analyses par spectroscopie à dispersion d'énergie (EDS) sont réalisées grâce au système EDAX, pour identifier les éléments chimiques présents dans les échantillons.

## 2.5. Les bactéries marines et les protocoles microbiologiques

### 2.5.1. Sélection des souches bactériennes biocalcifiantes

Quatre souches bactériennes biocalcifiantes d'origine marine ont été sélectionnées parmi la collection du laboratoire LIENSs. Ces bactéries ont été isolées à partir de prélèvements sur un dépôt calcomagnésien formé par polarisation cathodique dans le Port de plaisance de La Rochelle réalisés en 2019, et identifiées par séquençage du gène de l'ADNr 16 S (9). Leurs caractéristiques respectives sont résumées dans le **Tableau 2-4**.

Tableau 2-4 : Souches bactériennes marines biocalcifiantes sélectionnées pour l'étude et leurs caractéristiques (9).

Souches bactériennes		Activité enzymatique	Caractéristiques de la paroi cellulaire	Production de CaCO <sub>3</sub> (mg/mL) à 7 jours d'incubation	
Genre et espèce	Nom de code			MB + CaCl <sub>2</sub>	MB + CaCl <sub>2</sub> + Urée
<i>Epibacterium mobile</i>	CD4	U- / AC+	Gram -	0,5	0,5
<i>Virgibacillus halodenitrificans</i>	CD6	U+ / AC+	Gram +	~1,5	5
<i>Planococcus maritimus</i>	CD8	U- / AC+	Gram +	~1,5	1,25
<i>Pseudoalteromonas</i>	CD10	U+ / AC+	Gram -	1,5	1,5

U= Uréase et AC= Anhydrase carbonique

Les quatre souches ont été sélectionnées pour la présence d'une activité enzymatique anhydrase carbonique (AC+) tandis que seulement deux souches *Virgibacillus halodenitrificans* (CD6) et *Pseudoalteromonas sp.* (CD10) sont également uréase-positives (U+). Les souches *Epibacterium mobile* (CD4) et *Planococcus maritimus* (CD8) sont utilisées pour leur capacité biocalcifiente basée sur leur seule activité AC (avec éventuellement une autre activité enzymatique non identifiée (10)). Pour chaque caractéristique enzymatique, une souche Gram positive et Gram négative sont étudiées. Leur aptitude à produire du CaCO<sub>3</sub> constitue également un critère déterminant lors du processus de sélection des souches.

Tel que nous l'avons évoqué dans le **Chapitre 1**, et qu'on rappelle ici (**Tableau 2-4**), la souche *Virgibacillus halodenitrificans* CD6 s'est montrée la plus efficace dans la production de CaCO<sub>3</sub>, elle possède notamment l'activité uréase la plus intense parmi les 14 bactéries marines biocalcifiantes (**Tableau 1-4**) de la collection du laboratoire. La souche CD6 est Gram positive, c'est-à-dire que les sites accessibles pour les liaisons cationiques, notamment pour les ions Ca<sup>2+</sup> seraient plus nombreux que pour les bactéries Gram négative (8). A titre de comparaison, nous avons sélectionné une souche uréase

positive et Gram négative, CD10, qui compte parmi celles induisant le plus de CaCO<sub>3</sub> chez les bactéries marines Gram négative étudiées.

Pour étudier le rôle de l'anhydrase carbonique dans la production de CaCO<sub>3</sub>, les souches *Epibacterium mobile* CD8 et *Planococcus maritimus* CD4 ont été choisies pour leur capacité biocalcifante basée sur leur seule activité AC (avec éventuellement une autre activité enzymatique non identifiée (10).

### 2.5.2. Milieux de culture

La composition des milieux liquides et solides utilisées pour les expérimentations microbiologiques sont résumées dans le **Tableau 2-5**. L'eau de mer naturelle (EDMN) et artificielle utilisées pour les milieux de culture sont les mêmes que décrites en **Chapitre 2-2**.

Tableau 2-5 : Composition des milieux de culture bactérienne utilisés

Milieu	Composition
Marine Broth (MB) (Condalab)	<b>NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub></b> 0,0016 g/L , <b>peptone bactériologique</b> 5 g/L , <b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b> 0,022 g/L , <b>CaCl<sub>2</sub> anhydre</b> 1,8 g/L , <b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b> 0,008 g/L , <b>MgCl<sub>2</sub> anhydre</b> 8,8 g/L , <b>KBr</b> 0,08 g/L , <b>KCl</b> 0,55 g/L , <b>NaHCO<sub>3</sub></b> 0,16 g/L, <b>NaCl</b> 19,4 g/L , <b>NaF</b> 0,0024 g/L, <b>Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub></b> 0,004 g/L , <b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b> 3,24 g/L , <b>SrCl<sub>2</sub></b> 0,034 g/L , extrait de levure 1 g/L et <b>citrate ferrique</b> 0,1 g/L. pH=7,6 ± 0,2 à 25°C
Bouillon nutritif (BN) (Biokar)	10 g/L <b>tryptone</b> ; 5 g/L <b>extrait de viande</b> ; 5 g/L <b>NaCl</b> pH=7,2 ± 0,2 à 25°C
Marine Agar (MA)	40,2 g/L MB ; 12 g/L Agar bactériologique type E (Biokar)

La croissance des bactéries est étudiée dans le milieu MB (Marine Broth), le milieu EDMN+ (Eau De Mer naturelle + bouillon nutritif) et les milieux EL/MEL (Eau Lixiviée/Eau Lixiviée avec MB) (Tableau 2-5) :

- le **milieu MB** fournit un environnement propice au développement des cellules bactériennes. Il est composé de 40,2 g/L de MB solubilisés dans de l'eau osmosée,
- le **milieu EDMN+** simule l'écosystème marin naturel. Il est composé d'eau de mer naturelle (EDMN) et de 0,5 g/L de bouillon nutritif (BN),
- les **milieux EL** (lixiviat de granulats recyclés) et **MEL** (lixiviat de granulats recyclés enrichi en MB) contiennent un lixiviat de granulats recyclés. Le milieu EL est obtenu par lixiviation d'un échantillon de granulats recyclés (fraction 0/5) dans un volume d'eau de mer naturelle, cinq fois supérieur en masse à celle des granulats (voir (**chapitre 2**)-2.3.4) (rapport liquide-solide (L/S) en masse = 5). Le mélange est agité pendant 15 minutes. La suspension résultante, nommée lixiviat, est ensuite récupérée puis filtrée sous-vide à travers un filtre de porosité 20 µm (filtre en fibre de verre de la marque Corning). Cette étape vise à éliminer les particules résiduelles de granulats recyclés (> à 20µm) ainsi que tout précipité potentiel résultant de la lixiviation. La **Figure 2-18** illustre le processus de filtration sous-vide du lixiviat de GR, avec en **Figure 2-18.A** le dispositif de filtration, et en **Figure 2-18.B** et **C**, la première et dernière étape de filtration du lixiviat (4 étapes de filtration sont généralement réalisés). Après filtration, 0,5 g/L de BN sont incorporés au lixiviat filtré, formant ainsi le milieu EL. En ce qui concerne le milieu MEL, le milieu EL est additionné de 40,2 g/L de MB, ce qui constitue une version enrichie en MB du milieu EL.

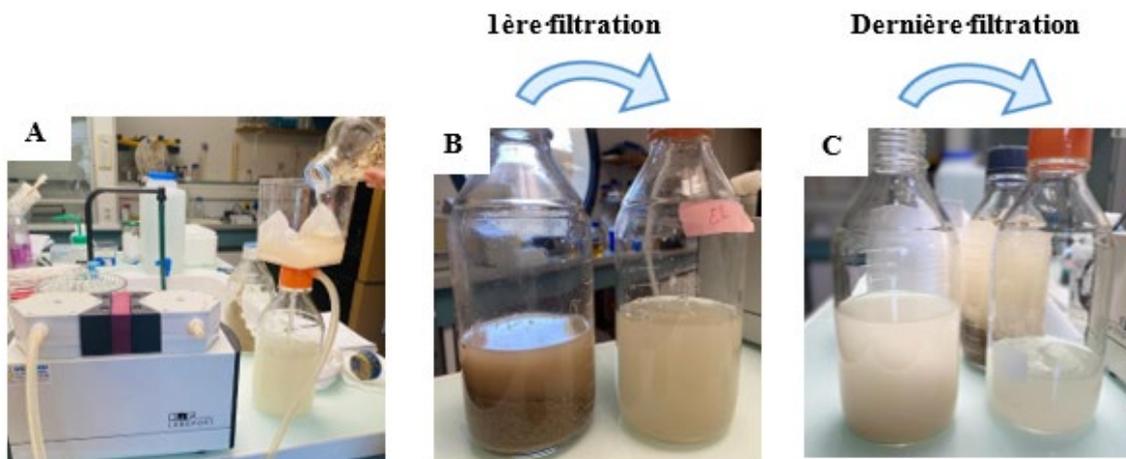


Figure 2-18 : (A) Dispositif de filtration sous-vide du lixiviat de granulats recyclés ; (B) 1<sup>ère</sup> filtration et (C) 3<sup>ème</sup> filtration.

Pour les analyses microbiologiques, tous les milieux de culture et solutions d'eau de mer (EDMN et EDMA) sont stérilisés à l'aide d'un autoclave (Grosseron<sup>TM</sup> modèle HG-133) à 115°C pendant 20 min. Le pH des milieux EL et MEL, d'environ 9,2 avant stérilisation, est respectivement de 8,3 et 8,2 après

stérilisation et celui des milieux MB et EDMN est, respectivement de 6,5 et 8,17 avant stérilisation et 7,6 et 8,5, après stérilisation. Cette acidification du milieu pendant la stérilisation a été observée seulement pour les milieux EL/MEL, nous n'avons cependant pas d'explication à donner.

Selon les besoins des expériences et les souches bactériennes utilisées, les milieux de culture peuvent être supplémentés extemporanément avec des solutions stériles de  $\text{CaCl}_2$  (3,7 g/L soit 25 mmol/L) et d'urée (20 g/L soit 330 mmol/L).

### 2.5.3. Cultures bactériennes

Les bactéries sont conservées individuellement, en cryotubes, à  $-80^\circ\text{C}$ , dans leur milieu de culture MB avec 30% (v/v) de glycérol (liquide cryoprotecteur). La culture des 4 souches bactériennes est réalisée dans le milieu MB (sous agitation orbitale 160 rpm) ou sur un milieu gélosé MA, à  $30^\circ\text{C}$ , pendant 24 heures. Les bactéries marines, préalablement cultivées sur milieu gélosé MA, sont prélevées de la gélose et ensemencées dans 5 mL de milieu MB pendant 24 heures à  $30^\circ\text{C}$ , sous agitation orbitale (160 rpm) afin de réaliser une culture des bactéries (Figure 2-19). Cette culture (également appelée préculture) sert à ensemencer un volume de milieu de culture plus grand (milieu de culture variable selon les analyses microbiologiques à réaliser).

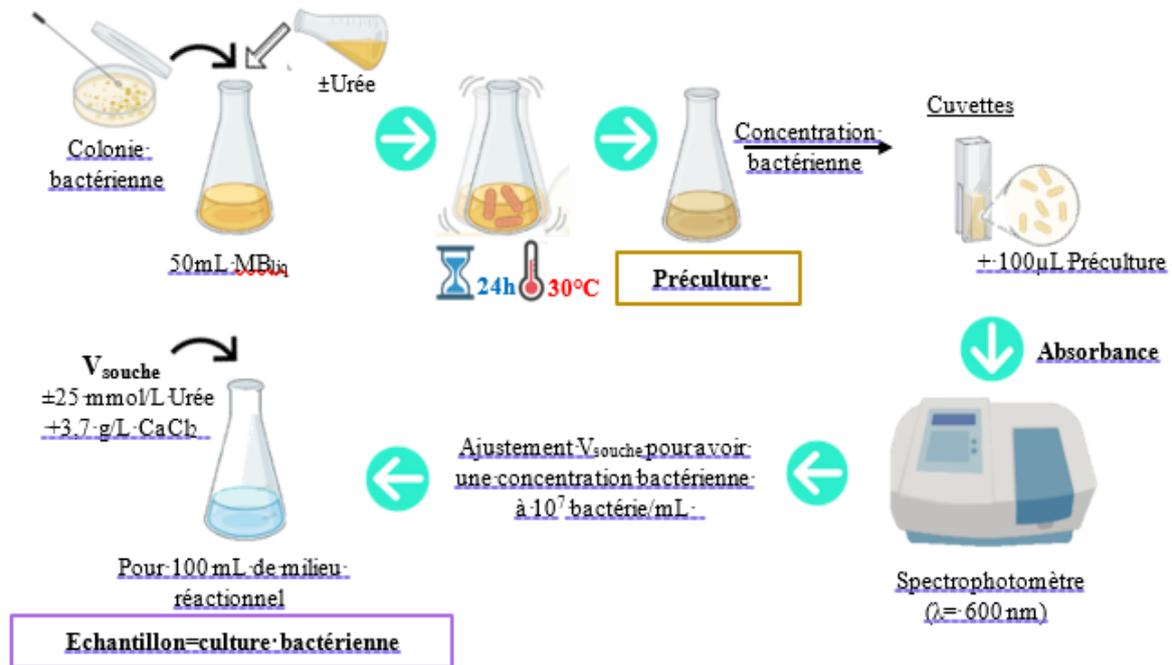


Figure 2- 19: Protocole expérimental de la préparation des cultures bactériennes

100 mL de milieu de culture MB, EMB, MEL ou EL supplémenté en  $\text{CaCl}_2$  (3.7 g/L) sont inoculés avec une préculture de la veille de manière à obtenir une culture de  $10^7 \text{ UFC/mL}$  dans les Erlenmeyers au jour 0. La concentration bactérienne des précultures est mesurée par densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre (Shimadzu<sup>TM</sup> UV 1240 Multicell Spectrometer) à la longueur d'onde  $\lambda = 600 \text{ nm}$ .

Les précultures des différentes souches étudiées sont réalisées la veille de la manipulation à partir de colonies prélevées sur milieu gélosé MA et re-suspendues dans du milieu MB afin d'obtenir une croissance optimale des souches. Seule la souche CD6 est supplémentée dans certaines conditions en  $\text{CaCl}_2$  et en urée (20g/L).

Le mélange (la culture) est ensuite incubé durant 7 jours et le suivi de croissance de la culture est réalisé par dénombrement bactérien en début de croissance ( $t_0$ ) et après 24h ( $t_1$ ), 3 jours ( $t_3$ ), 5 jours ( $t_5$ ) et 7 jours ( $t_7$ ) d'incubation. Un suivi de pH est réalisé en parallèle en fonction du temps.

#### 2.5.4. Dénombrement bactérien

Le suivi de la croissance des bactéries est réalisé par dénombrement bactérien aux jours 0, 1, 3, 5 et 7. Deux erlenmeyers sont ensemencés pour chaque jour de prélèvement, une moitié est placée dans un incubateur orbital (Stuart, SSL1) sans  $\text{CO}_2$  et l'autre moitié dans une enceinte  $\text{CO}_2$  (cf paragraphe enceinte) à température ambiante sous agitation à 130 rpm pour les deux conditions. Pour chaque Erlenmeyer, deux prélèvements stériles de  $500\mu\text{L}$  de culture sont réalisés : un pour le dénombrement bactérien et le second pour la mesure de pH respectivement (Figure 2-19). Le dénombrement bactérien est effectué par la méthode de dilution en série au dixième dans une solution isotonique d'EDMA.

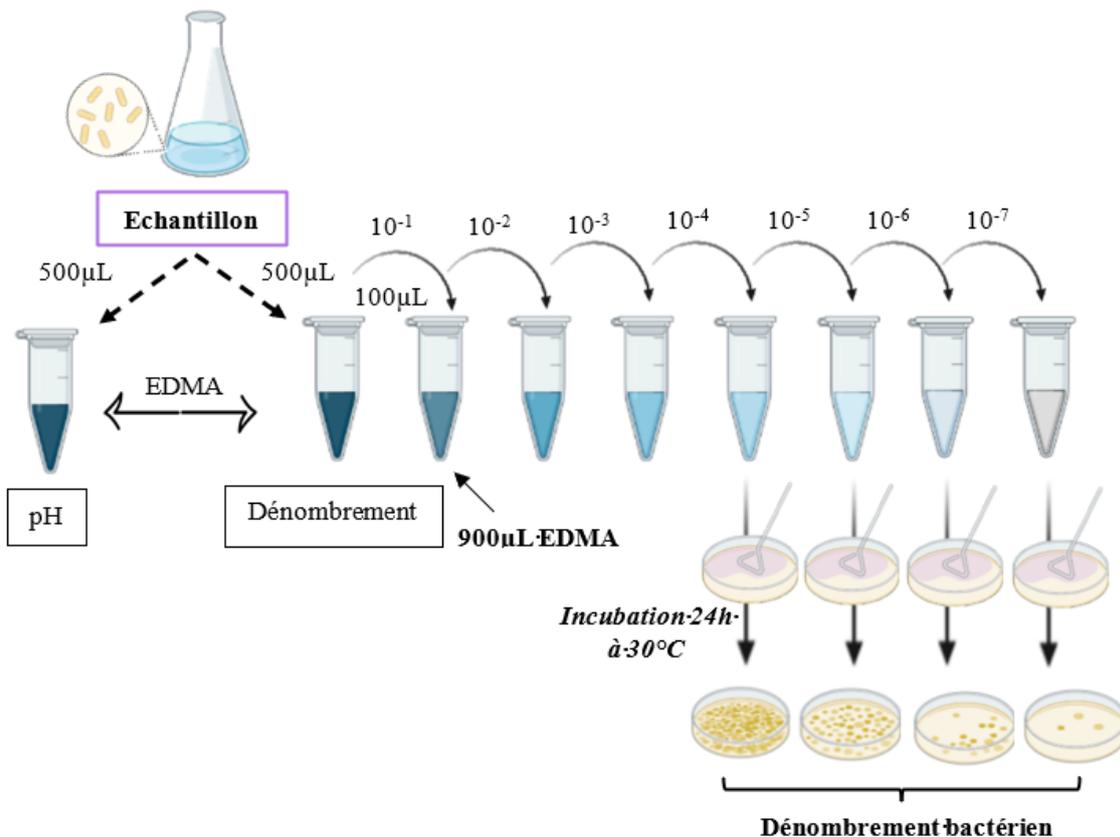


Figure 2- 20 : Protocole de dénombrement bactérien

Un prélèvement de 100µL de l'échantillon de culture est réalisé à l'aide d'une micropipette et incorporé dans un tube à fond conique (Eppendorf) contenant 900µL d'EDMA (dilution au 1/10<sup>ème</sup>). La suspension bactérienne, contenue dans les 900µL d'EDMA est ensuite diluée successivement au 1/10<sup>ème</sup> *via* des prélèvements successifs de 100 µL de chaque dilution additionnée à 900 µL d'EDMA. 100 µL des quatre dernières dilutions sont étalés à la surface du milieu gélosé MA puis incubés pendant 24 heures à 30°C. Le dénombrement des colonies bactériennes est réalisé à l'œil nu sur un fond noir, chaque colonie étant supposée provenir initialement d'une bactérie déposée sur la surface de la gélose. Les résultats sont exprimés en « unité formant colonies » (UFC) par millilitre de suspension bactérienne (UFC/mL).

### 2.5.5. Récupération du CaCO<sub>3</sub> précipité

Le CaCO<sub>3</sub> produit par les bactéries en milieu de culture liquide est récupéré par lyophilisation des cultures entières. Les étapes conduisant à l'obtention d'une poudre lyophilisée sont représentées dans la **Figure 2-21**.

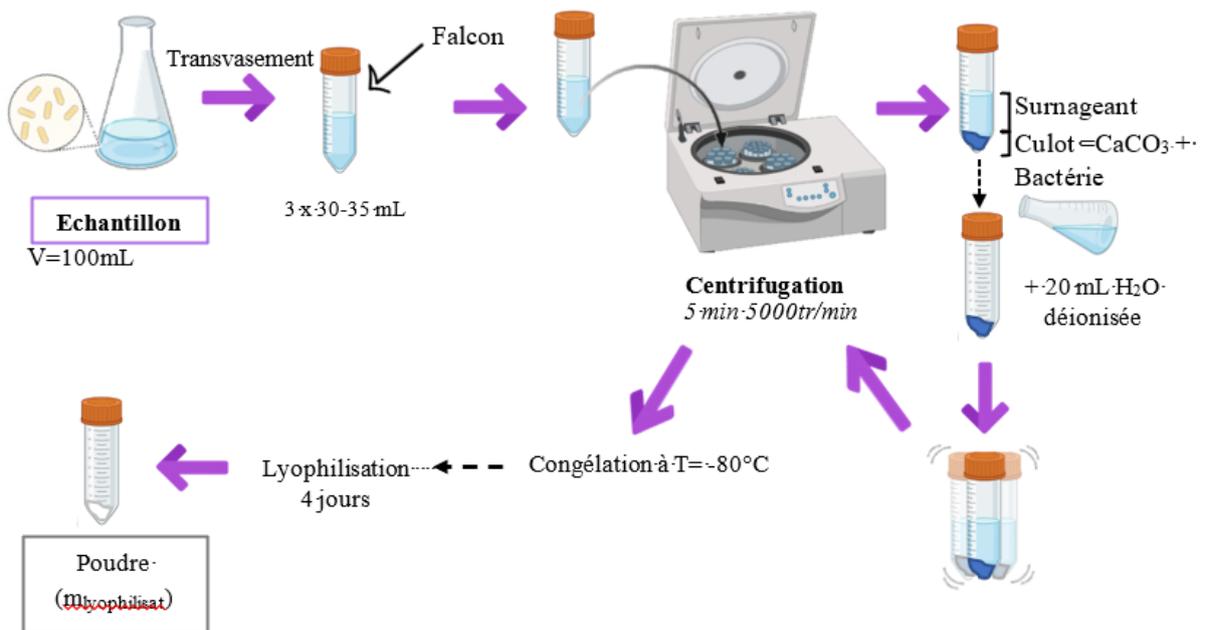


Figure 2-21 : Protocole de lyophilisation des cultures bactériennes visant à la récupération du CaCO<sub>3</sub> bio-précipité

Après 5 ou 7 jours d'incubation, les cultures bactériennes (100 mL) sont transvasées dans trois tubes à fond conique (Falcon) de 50mL (soit 30-35 mL dans chaque tubes) puis centrifugées pendant 5 min à 5000 x g. Il en résulte un mélange biphasé composé d'un culot comprenant le CaCO<sub>3</sub> et les cellules bactériennes, et d'un surnageant. Après retrait du surnageant, les trois culots sont mis en suspension dans 20 mL d'eau déionisée, dans un nouveau Falcon unique puis centrifugé de nouveau dans les mêmes conditions. Le culot final est remis en suspension dans 20 mL d'eau déionisée puis congelé à -80°C pendant au minimum 24 heures avant d'être déshydraté par lyophilisation. Le procédé de lyophilisation

consiste à la dessiccation de composés préalablement congelé, par sublimation de l'eau. Les échantillons sont placés ainsi dans un lyophilisateur (COSMOS 20k) sous vide (pression inférieure à 450 mTorr) à -80°C pendant 4 jours.

Il en résulte une poudre cotonneuse de couleur blanche ou orange (selon la souche bactérienne étudiée) qui est caractérisée par la suite par ATG ou DRX.

### 2.5.6. Croissance bactérienne dans une enceinte à régulation de la concentration en CO<sub>2</sub>

Afin d'étudier le rôle de l'enzyme anhydrase carbonique sur la bio-précipitation de CaCO<sub>3</sub>, les bactéries marines biocalcifiantes ont été exposées pendant plusieurs jours à une concentration de 30 000 ppm (3%) de CO<sub>2</sub>, soit quasiment 100 fois supérieure à celle dans l'air (≈400 ppm ou 0,04%). Pour cela, les échantillons (cultures bactériennes en milieu liquide en erlenmeyer) surmontés de bouchons perméables aux gaz, ont été placés dans une enceinte avec une régulation de la concentration en CO<sub>2</sub>, (conçue par les techniciens du LaSIE.) à température ambiante, pendant toute la durée de l'expérience, généralement 7 jours (**Figure 2-22**).

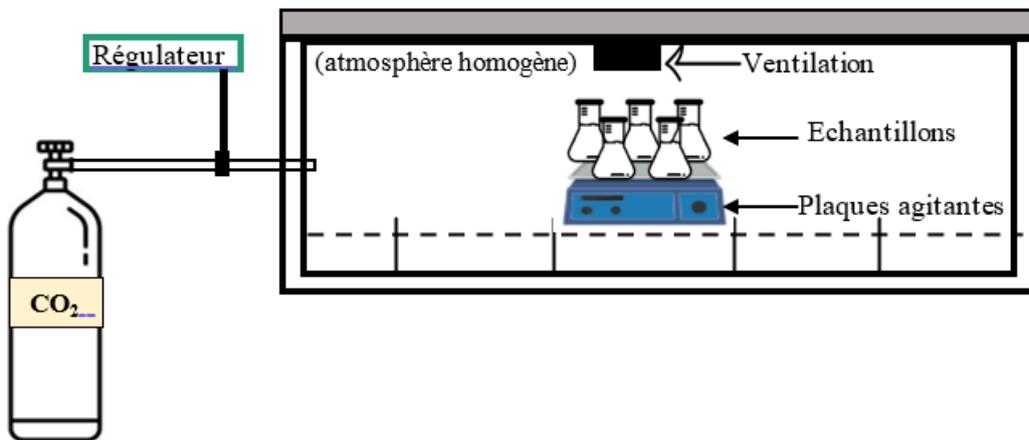


Figure 2-22 : Schéma de l'enceinte climatique avec régulation de la concentration en CO<sub>2</sub>.

Les échantillons sont constamment homogénéisés à l'aide d'une table à agitation orbitale (160 rpm). Après essai, les échantillons sont analysés au niveau microbiologique (dénombrement bactérien) et physico-chimique (pH, CaCO<sub>3</sub> bio-précipité déterminé par ATG).

### 2.5.7. Couplage électrochimie/bactéries marines/granulats recyclés

Un couplage électrochimie/bactéries marines/granulats recyclés est réalisé en condition stérile. Le dispositif expérimental que nous utilisons dans ces expériences est basé sur celui conçu par Colin *et al.* (18) pour leurs travaux sur la biocalcification sous polarisation cathodique. Ce dispositif est présenté sur la **Figure 2-23**.

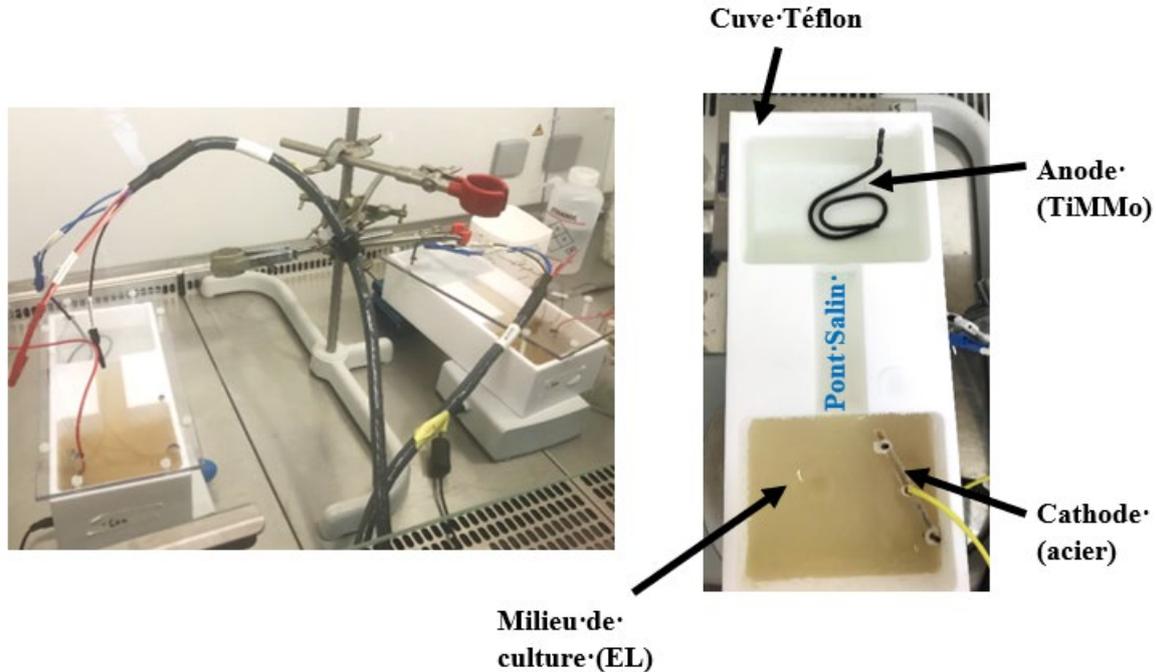


Figure 2- 23 : Montage électrochimique adapté à l'utilisation de bactéries marines biocalcifiantes (11)

Il se compose (i) d'une cuve en Téflon à deux compartiments reliés entre eux par un pont salin (30 g/L Agar-Agar + 300g/L KCl ) pour permettre la conduction électrique et pour éviter l'acidification du milieu induit par les réactions d'oxydation se produisant sur l'anode, (ii) d'un couvercle en plexiglass perforé pour limiter l'évaporation du milieu et les contaminations microbiennes et faciliter la mise en place des électrodes, (iii) d'une électrode de travail (cathode) qui est représentée par une grille en acier standard et d'une contre-électrode (anode) en TiMMo (titane recouvert d'une couche d'oxyde métallique mixte). L'ensemble du dispositif est placé sous un poste de sécurité microbologique (PSM) de type II pour assurer le travail en conditions stériles et assurer le bon développement des bactéries durant les 7 jours de manipulation et donc limiter les contaminations bactériennes. Tous les éléments du montage ont été préalablement stérilisés par autoclave à 115°C pendant 20 min (cuve, milieu électrolytique, anode, barreau magnétique et solution d'Agar-Agar (pont salin)) ou décontaminés à l'éthanol à 70% (couvercle plexiglass et cathode). Avant le début de l'expérience, la surface de la cathode (grille d'acier) est décapée à l'aide d'une solution de décapage normée (ASTM standards G1-03 : 50%<sub>v/v</sub> HCl (35%) + 50%<sub>v/v</sub> d'eau pure + 3,5g d'inhibiteur de corrosion (hexaméthylènetétramine)) pour retirer les produits de corrosion puis rincée à l'eau déionisée et enfin séchée. Sa surface cathodique est d'environ 20 cm<sup>2</sup>.

Le compartiment anodique est rempli de 300 mL d'eau de mer naturelle (EDMN+) préalablement stérilisée. Le compartiment cathodique est rempli de 300 mL de milieu EL (lixiviat eau de mer de GR supplémenté de 0,5g/L de BN) pour permettre le développement de la souche bactérienne, et, selon les besoins de certaines expériences, de 25 mmol/L de  $\text{CaCl}_2$  et/ou 330 mmol/L d'urée. La souche bactérienne CD6 est préalablement cultivée dans le milieu de culture MB pendant 24 heures à 30°C sous agitation orbitale (160 rpm) puisensemencée dans le compartiment cathodique (concentration cellulaire finale de  $10^7$  UFC/mL). Les essais électrochimiques sont menés ensuite pendant 7 jours à température ambiante. Les électrodes sont reliées à un potentiostat et un ordinateur, placés en dehors du PSM, qui permet d'imposer et de suivre l'évolution du courant. La densité de courant cathodique est fixée à  $i = -500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  en lien avec celle utilisée pour la formation des agglomérats calcomagnésiens (**Chapitre 4**). Ainsi, le courant cathodique total imposé sur la cathode est de -10 mA.

Le dépôt calcomagnésien formé sur les cathodes est caractérisé vis-à-vis de sa composition chimique et son volume à l'aide de modélisation 3D, selon les mêmes conditions que présentées en (**Chapitre 2**) - **2.4.2**.

## 2.6. Techniques d'analyses transversales et spécifiques

### 2.6.1. Mesure du pH et de la conductivité

Les mesures de pH et de conductivité concernent des échantillons obtenus lors de l'étude de la réactivité en EDMN des GR et de la croissance bactérienne. Pour les besoins spécifiques des expériences, deux types d'appareil de mesure ont été utilisés.

En ce qui concerne la réactivité des GR, nous avons eu recours à un multiparamètre PC 80+ (IZITEC), ayant la capacité de stocker automatiquement jusqu'à 1000 données (pH et conductivité simultanément). Le logiciel de prise de données est DataLink+. Les électrodes de mesure de pH et de conductivité possèdent les caractéristiques suivantes :

- Electrode de pH standard XS Sensor : résolution de  $\pm 0,002$ , pH 0-14, T° -10-100°C.
- Electrode de conductivité standard XS Sensor: résolution de 1%, plages de mesure 0,00 à 2000 $\mu\text{S}$  et de 2mS à 1000mS, T° 0-80°C.

Pour les échantillons de microbiologie, le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre 766 Knick Calimatic et d'une micro-électrode Sentix® MIC (WTW) (pH 0-14 / T° 0-100°C). Chaque appareil est calibré avant chaque utilisation avec des solutions standards afin d'en garantir la mesure.

### 2.6.1. Micro-spectrométrie Raman

La micro-spectrométrie Raman est une technique de caractérisation vibrationnelle non destructive permettant d'identifier la composition moléculaire et la structure cristallographique d'un matériau non métallique. En dehors du caractère non destructif, cette technique permet d'analyser localement le matériau à l'échelle du  $\mu\text{m}^3$  à l'aide d'un microscope couplé au spectromètre Raman. Cette haute

résolution spatiale implique néanmoins de réaliser plusieurs pointés sur différentes zones de l'échantillon pour obtenir un aperçu global de la composition de l'échantillon.

Son principe repose sur les interactions photons-matière émis par une source de lumière monochromatique (laser) de fréquence  $\nu_0$  sur un échantillon. À une longueur d'onde ( $\lambda$ ) donnée, les photons générés par le laser sont absorbés par le matériau et diffusent soit de manière élastique (diffusion de Rayleigh,  $\nu_0$ ), soit inélastique (diffusion de Raman,  $\nu_d$ ). Cette dernière diffusion entraîne une transition entre niveaux vibrationnels de la molécule ou du réseau cristallin induit par un échange énergétique entre les photons incidents et la molécule. Selon la différence de fréquence  $\nu_0$  et  $\nu_d$ , la diffusion Raman est qualifiée d'Anti-Stokes ou Stokes (**Figure 2-24**).

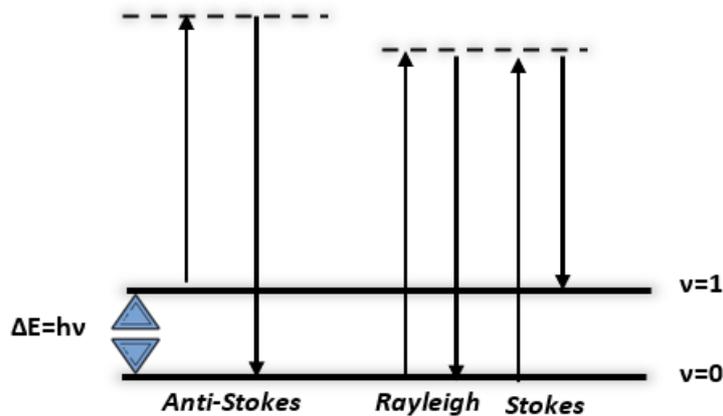


Figure 2- 24 : Schéma représentatif de la diffusion des photons.

Par convention, il est d'usage d'utiliser le nombre d'ondes ( $\text{cm}^{-1}$ ) plutôt que la fréquence sur les spectres Raman. Dans cette étude, cette technique nous a principalement permis d'identifier les formes polymorphiques du  $\text{CaCO}_3$  et la brucite  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ . Les nombres d'ondes caractéristiques de ces composés sont représentés dans le **Tableau 2-6**.

Tableau 2-6 : Nombres d'ondes caractéristiques des formes allotropiques du  $\text{CaCO}_3$ , de la brucite  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  et de la calcite magnésienne ( $\text{Ca}_x\text{Mg}_{(1-x)}\text{CO}_3$ ) (19).

Composé	Nombre d'ondes ( $\text{cm}^{-1}$ )				
	$\nu_1$	$\nu_2$	$\nu_3$	$\nu_4$	$\nu_5$
$\text{CaCO}_3$ -Calcite	1086	/	1434	712	284, 151
$\text{CaCO}_3$ -Aragonite	1085	853,910	1460, 1570	701, 704	151, 206
$\text{CaCO}_3$ -Vatérite	1074, 1090	874	1445, 1485	668, 682	267, 300, 325
$\text{Ca}_{0,96}\text{Mg}_{(0,04)}\text{CO}_3$ -Calcite magnésienne	1088	/	/	714	286
$\text{Mg}(\text{OH})_2$ - Brucite	3654	/	/	444	280

Les échantillons, en particulier le dépôt calcomagnésien, ont été analysés avec un spectromètre Raman Horiba Jobin Yvon High Resolution (LabRam HR Evo) équipé d'un microscope (Olympus BX 41), d'un capteur CCD refroidi par effet Peltier et de deux sources laser de longueur d'onde 785 et 532 nm. La résolution spectrale de l'appareil est de  $0,2 \text{ cm}^{-1}$ . La calibration est réalisée à l'aide d'un échantillon étalon de silicium sur la bande de vibration à  $520,5 \text{ cm}^{-1}$ . Les paramètres expérimentaux utilisés dans cette étude sont les suivants :

- Plage d'analyse :  $100$  à  $1300 \text{ cm}^{-1}$  et de  $3200$  à  $3800 \text{ cm}^{-1}$
- Source Laser : Diode NIR  $\lambda=785 \text{ nm}$  et diode laser à  $532 \text{ nm}$  pour la gamme  $3200 - 3800 \text{ cm}^{-1}$
- Objectif : x10 et x 50 longue focale

Les spectres Raman sont récoltés puis traités par le logiciel NGS LabSpec 5.

### 2.6.2. Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X (DRX) permet l'identification des phases cristallines constituant un matériau. Cette technique repose sur le principe de diffraction, décrit par la loi de diffraction de Bragg, selon laquelle les rayons X parallèles du faisceau généré par la source arrivent à la surface de l'échantillon sous un angle incidence de Bragg  $\theta$ . Par application d'une tension électrique entre une cathode (métal ciblé) et une anticathode (ex : cuivre ou cobalt), le faisceau est réfléchi sur le métal d'étude, sous le même angle sur une famille de plans réticulaires (indices de Miller, hkl) de distance réticulaire  $d_{hkl}$ . La différence de marche entre les rayons réfléchis de deux plans consécutifs équivaut à  $2d_{hkl}\sin(\theta)$  et peut être interprétée selon la loi de Bragg (Eq.2-8).

$$n\lambda=2d_{hkl}\sin(\theta) \quad \text{Eq.2-8}$$

Avec,

$\theta$  l'angle de diffraction

$d_{hkl}$  la distance interréticulaire (distance entre les plans h, k et l)

$\lambda$  la longueur d'onde du rayonnement X incident (directement dépendante de l'anticathode utilisée)

$n$  l'ordre de diffraction, nombre entier généralement égal à 1.

Dans cette étude, cette technique de caractérisation permet d'identifier les phases minéralogiques cristallines présentes dans les granulats recyclés ainsi que la présence de  $\text{CaCO}_3$  et de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  qui composent le DC. Les échantillons sont broyés puis analysés à l'aide d'un appareil Brücker-AXS D8 Advance muni d'une anticathode de Cuivre de longueur d'onde  $\lambda_{\text{cu},k\alpha} = 1,5406 \text{ \AA}$ . La tension de l'anode est fixée à 40kV et l'intensité du courant à 40mA. Les paramètres choisis pour ces analyses sont les suivants :

- Plage  $2\theta$  :  $10-90^\circ$
- Incrément :  $0,01^\circ$
- Pas de temps :  $7^\circ/\text{min}$

Les diffractogrammes sont traités par le logiciel DIFFRAC.EVA V6.0. La base de données ICDD est utilisée pour identifier les minéraux. Les fiches ICDD des composés détectés sont présentées dans le **Tableau 2-7**.

Tableau 2-7: Fiches ICDD des composés détectés dans ces travaux de thèse.

Minéraux	Composés	Formule chimique	Fiche ICDD
Hydrates/matrice cimentaire	Portlandite (CH)	$\text{Ca(OH)}_2$	ID 44-1481
	Gismondine	$\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	ID 20-0452
Composés alumino-silicatés	Quartz	$\text{SiO}_2$	ID 46-1045
	Feldspath Albite	$\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$	ID 10-0393
	Feldspath Anorthite	$\text{CaAlSi}_3\text{O}_8$	ID 41-1480
	Muscovite	$\text{KAl}_2(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{OH},\text{F})_2$	ID 06-0263
	Microcline	$\text{KAlSi}_3\text{O}_8$	ID 19-0932
Composés ferreux	Chamosite	$(\text{Fe},\text{Al},\text{Mg})_6(\text{Si},\text{Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$	ID 46-1324
	Hématite	$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	ID 33-0664
	Goethite	$\alpha\text{-FeOOH}$	ID 81-0464
Composé sulfaté	Gypse	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	ID 72-0596
Composés carbonatés	Aragonite	$\text{CaCO}_3$	ID 41-1475
	Calcite	$\text{CaCO}_3$	ID 05-0586
	Calcite magnésienne ( $x=0,06$ )	$\text{Ca}_{1-x}\text{Mg}_x\text{CO}_3$	ID 89-1305
	Monohydrocalcite	$\text{CaCO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	ID 29-0306

### 2.6.3. L'analyse thermogravimétrique

L'analyse thermogravimétrique (ATG) est une technique d'analyse thermique basée sur l'évolution de la perte de masse des matériaux en fonction de l'élévation de la température. Elle permet d'identifier et de quantifier les phases hydratées et carbonatées contenues dans les granulats recyclés et plus particulièrement dans les matériaux à matrice cimentaire (Rc), la production bactérienne de  $\text{CaCO}_3$  et le ratio  $\text{Mg(OH)}_2/\text{CaCO}_3$  du dépôt calcomagnésien.

Pour des raisons de représentativité des résultats, les granulats recyclés ont été caractérisés sur la fraction 0/5, à l'aide d'un Four de pesée Naberthem™, LT 9/11/SW munis d'une balance KERN EW et du logiciel VCB V01.01. Ce four permet la détermination de pertes de masse par calcination. Les vitesses de chauffe sont fixées à l'aide du programmeur B410. Les autres échantillons ont été analysés par ATG sur l'appareil Mettler Toledo TGA 2 LF /1100/972 et traités via le logiciel STARE software

V16.20c. Les caractéristiques de ces appareils accompagnées des paramètres expérimentaux utilisés sont regroupées dans le **Tableau 2-8**

Tableau 2-8 : Caractéristiques des appareils d'analyse thermogravimétrique, TGA 2 Mettler Toledo et Four Naberthem, et paramètres expérimentaux utilisés pour chaque appareil.

	FOUR Naberthem	Paramètres expérimentaux	TGA Mettler Toledo	Paramètres expérimentaux
Plage température (°C)	TA à 1100 max	30 à 1000	TA à 1100	30 à 1000
Vitesse de chauffe	Max 16°C/min	30 à 700°C : 3°C/min 700-800 °C : 0,8 °C/min Plateau 800°C, 2h 800-1000°C : 1,6 °C/min	0,02 à 150 K/min	10°C/min
Volume creuset	Jusqu'à 250 mL	Alumina 100 mL	Jusqu'à 900µL	Alumina 70 µL
masse d'échantillon	0,5 g à 2200 kg Précision : 0,01 g	~150 g	≤ 5g Précision : 1 µg	~20-100mg
Gaz	Air	Air	Argon, N <sub>2</sub> , Air /	Argon (30 mL/min)

TA= température ambiante,

La plage de température 30 à 1000°C a été choisie par rapport aux températures de décomposition des composés ciblés tels que le CaCO<sub>3</sub>, Mg(OH)<sub>2</sub> et les phases hydratées du béton (**Tableau 2-9**).

Tableau 2-9 : Températures de décomposition des composés ciblés pour les analyses ATG.

Matériaux	Composé	Température de décomposition (°C)
DC	Mg(OH) <sub>2</sub>	350-450 (20)
DC, Rc et Bactéries marines	CaCO <sub>3</sub>	570- 900 (21-24)
Rc	Ca(OH) <sub>2</sub>	400-500 (25)
	Hydrates (C-S-H, Afm et Aft)*	120-210 (26,27)
	Quartz α→β	~550-570 (28,29)

\*Afm : monosulfate de calcium hydraté, Aft : sulfoaluminate de calcium (Ettringite) et C-S-H : silicate de calcium hydraté.

Les pertes de masse associées à la décomposition de  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  et des hydrates sont déterminées à partir de la méthode des tangentes horizontales, telles que présentées sur la **Figure 2-25** qui illustre un exemple d'une analyse thermogravimétrique d'un dépôt calcomagnésien.

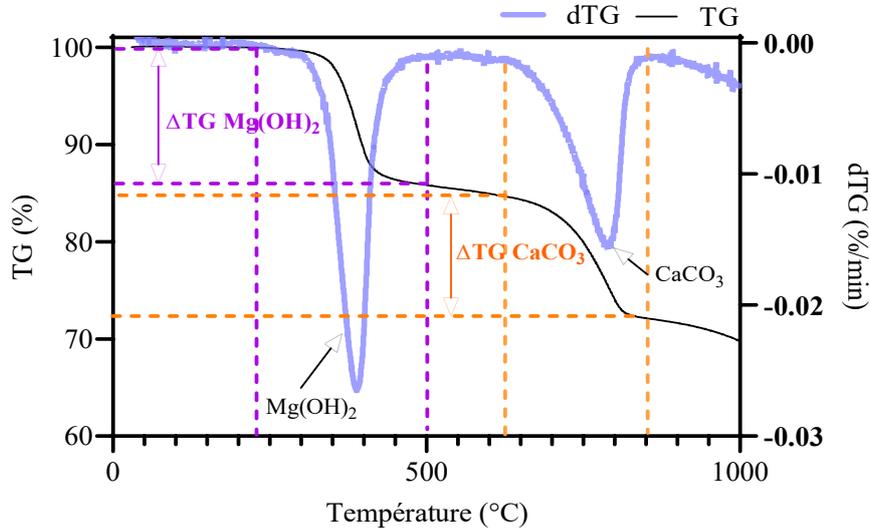
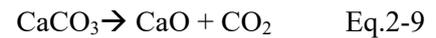


Figure 2- 25: Exemple de courbes TG/DTG analyse thermogravimétrique réalisée sur un dépôt calcomagnésien. TG correspond à la perte de masse en fonction de la température et dTG, sa dérivée en fonction du temps

### 2.6.3.1. Calcul de $\text{Mg}(\text{OH})_2$ et $\text{CaCO}_3$ dans le dépôt calcomagnésien et le bio-précipité

La calcination du  $\text{CaCO}_3$  entraîne la production d'oxyde de calcium ( $\text{CaO}$ ) par libération du  $\text{CO}_2$  selon l'équation suivante (**Eq.2-9**).



La teneur en  $\text{CaCO}_3$  ( $C_{\text{CaCO}_3}$ ) (%) est calculée selon l'**Eq. 2-10**, à partir de la masse de  $\text{CaCO}_3$  ( $m_{\text{CaCO}_3}$ ), donnée par l'**Eq.2-11**, dont celle-ci est estimée à partir des masses molaires de  $\text{CaCO}_3$  ( $M_{\text{CaCO}_3}$ ) et de  $\text{CO}_2$  ( $M_{\text{CO}_2}$ ), correspondant respectivement à 100,08 et 44 g/mol, et de la perte de masse de  $\text{CO}_2$  ( $m_{\text{CO}_2}$ ).

$$C_{\text{CaCO}_3} = \frac{m_{\text{CaCO}_3}}{m_{\text{ech}}} \times 100 \quad \text{Eq.2-10}$$

$$m_{\text{CaCO}_3} = \frac{M_{\text{CaCO}_3}}{M_{\text{CO}_2}} \times m_{\text{CO}_2} \quad \text{Eq.2-11}$$

Avec,

$C_{\text{CaCO}_3}$  la proportion massique de  $\text{CaCO}_3$  dans l'échantillon (%)

$m_{\text{CaCO}_3}$  correspondant à la masse de  $\text{CaCO}_3$  (g) initialement présente dans l'échantillon

$m_{\text{CO}_2}$  correspondant à la perte de masse mesurée de  $\text{CO}_2$  issue de la calcination de  $\text{CaCO}_3$  (g)

$m_{\text{ech}}$  correspondant à la masse totale de l'échantillon sec avant calcination (g)

$M_{\text{CaCO}_3}$  correspondant à la masse molaire de  $\text{CaCO}_3$  qui vaut 100,09 g/mol

$M_{\text{CO}_2}$  correspondant à la masse molaire de  $\text{CO}_2$  qui vaut 44 g/mol

Cette relation est utilisée pour la quantification du CaCO<sub>3</sub> formé par polarisation et bio-précipitation par les bactéries marines (poudre lyophilisée). La poudre lyophilisée ainsi que le dépôt calcomagnésien sont broyés pour maximiser la quantité d'échantillon dans le creuset et garantir une uniformité de la composition de l'échantillon. Les analyses sont menées sur des prises de masse d'environ de 20 à 50 mg selon la quantité d'échantillon recueillie. Pour des raisons de reproductibilité, chaque expérience (correspondant à des conditions expérimentales spécifiques) est reproduite au moins deux fois. Les écarts types accompagnant la quantité de CaCO<sub>3</sub> correspondent à des analyses ATG réalisées sur deux ou trois échantillons indépendants.

Le CaCO<sub>3</sub> induit par les bactéries s'exprime en milligramme par millilitre de culture bactérienne selon l'Eq.2-12.

$$C_{CaCO_3 \text{ bio-précipité}} = \frac{C_{CaCO_3} \times m_{lyophilisat}}{V_{culture \text{ bactérienne}}} \quad \text{Eq.2-12}$$

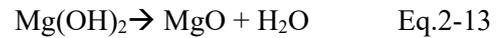
Avec,

$C_{CaCO_3}$  voir Eq.2-10

$m_{lyophilisat}$  la quantité de lyophilisat (mg), voir Figure 2-20

$V_{culture \text{ bactérienne}}$  volume de culture bactérienne (mL)

Quant à la brucite Mg(OH)<sub>2</sub>, sa déshydroxylation fournit de l'oxyde de magnésium (MgO) et de l'eau (Eq.2-13),



La libération d'eau permet la quantification de la brucite selon les Eqs 2-14 et 2-15.

$$C_{Mg(OH)_2} = \frac{m_{Mg(OH)_2}}{m_{ech}} \times 100 \quad \text{Eq.2-14}$$

$$m_{Mg(OH)_2} = \frac{M_{Mg(OH)_2}}{M_{H_2O}} \times m_{H_2O} \quad \text{Eq.2-15}$$

Avec,

$C_{Mg(OH)_2}$  la proportion massique de Mg(OH)<sub>2</sub> dans l'échantillon (%)

$m_{Mg(OH)_2}$  la masse de Mg(OH)<sub>2</sub> (g)

$m_{H_2O}$  la perte de masse d'eau issue de la déshydroxylation de Mg(OH)<sub>2</sub> (g)

$m_{ech}$  la masse de l'échantillon avant calcination (g)

$M_{Mg(OH)_2}$  la masse molaire de Mg(OH)<sub>2</sub> qui vaut 58 g/mol

$M_{H_2O}$  la masse molaire de H<sub>2</sub>O qui vaut 18 g/mol

### 2.6.3.2. Calcul de CaCO<sub>3</sub> hydrates dans les granulats recyclés

Concernant les GR, une méthode de calcul plus spécifique est utilisée pour la quantification des hydrates (C-S-H, AFm, et AFt) et du CaCO<sub>3</sub>. La différence notable entre le calcul de quantification du  $C_{CaCO_3}$  pour le DC/bio-précipité et celui des GR (Eq. 2-16), en particulier des R<sub>c</sub>, relève de la définition de la masse échantillon. Pour les GR, la masse de l'échantillon, appelée  $m_d$ , correspond à la masse

décarbonatée et déshydratée de l'échantillon, c'est-à-dire la masse de matériau considérée inerte. Cette masse ( $m_d$ ) est déterminée en éliminant toutes les pertes de masse survenant avant 1000 °C de la masse initiale de l'échantillon déshydraté ( $m_s$ ) (Eq.2-17).

$$m_d = m_s - (\sum \Delta m_{\Delta T}) \quad \text{Eq.2-17}$$

Toutes les masses sont exprimées en grammes.

Ensuite,  $m_{CaCO_3}$

$$C_{CaCO_3} = \frac{m_{CaCO_3}}{m_d} \times 100 \quad \text{Eq.2-16}$$

Avec  $m_d$  qui correspond à,

$$m_d = m_s - (\sum \Delta m_{\Delta T}) \quad \text{Eq.2-17}$$

$\sum \Delta m_{\Delta T} = \Delta m_{T_1-T_2} + \Delta m_{T_3-T_4} + \dots$  : avec  $T_1 < T_2$  la somme des pertes de masse survenant avant 1000°C

$m_s$ , masse sèche de l'échantillon avant analyse

La quantification unitaire des hydrates est difficile en raison de la superposition des pics de composition thermique de chaque phase. A cet effet, nous avons appliqué cette présente méthode de calcul sur la plage de température 105-210°C pour déterminer la proportion relative des hydrates (C-S-H, AFm et AFt) dans les Rc

## 2.7. Références

1. Broecker WS. A Kinetic Model for the Chemical Composition of Sea Water. *Quaternary Research*. 2017/01/20 éd. 1971;1(2):188-207.
2. Morcos SA. Chemical Composition of Seawater and the Variation of Calcium and Alkalinity. *ICES Journal of Marine Science*. août 1970;33(2):126-33.
3. Dickson AG, Goyet C. Handbook of methods for the analysis of the various parameters of the carbon dioxide system in sea water. Version 2. In 1994.
4. Jiang LQ, Carter BR, Feely RA, Lauvset SK, Olsen A. Surface ocean pH and buffer capacity: past, present and future. *Scientific Reports*. 9 déc 2019;9(1):18624.
5. Chierici M, Fransson A, Turner DR, Pakhomov EA, Froneman PW. Variability in pH, fCO<sub>2</sub>, oxygen and flux of CO<sub>2</sub> in the surface water along a transect in the Atlantic sector of the Southern Ocean. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*. 2004;51(22):2773-87.
6. Norme ASTM D1141-98 "Standard practice for preparation of substitute ocean water. 2021.
7. NF EN 933-11 : Essais pour déterminer les caractéristiques géométriques des granulats - Partie 11 : essai de classification des constituants de gravillons recyclés. 2009.
8. NF EN 1097-6 -Essais pour déterminer les caractéristiques mécaniques et physiques des granulats-Partie 6 : détermination de la masse volumique réelle et du coefficient d'absorption d'eau. 2014.
9. Thèse de Alaric Zanibellato. Synthèse et études physico-chimiques d'un agglomérat calcomagnésien formé sur acier en milieu marin: un éco-matériau pour la protection du littoral. La Rochelle; 2016.
10. Thèse de Vincent J. Biocalcification bactérienne couplée à la polarisation cathodique en milieu marin afin de consolider les ouvrages du littoral. 2022.
11. Colin B, Vincent J, Koziarowski L, Frein A, Lanneluc I, Sabot R, *et al.* Calcareous deposit formation under cathodic polarization and marine biocalcifying bacterial activity. *Bioelectrochemistry*. 2022;148:108271.
12. Carré C, Zanibellato A, Jeannin M, Sabot R, Gunkel-Grillon P, Serres A. Electrochemical calcareous deposition in seawater. A review. *Environmental Chemistry Letters*. 1 juill 2020;18(4):1193-208.
13. Viczián I, Földvári, Mária: Handbook of the thermogravimetric system of minerals and its use in geological practice: Occasional Papers of the Geological Institute of Hungary, vol. 213, Budapest, 2011, 180 p. Central European Geology Central European Geology. 2013;56(4):397-400.
14. Koch B, Cahay R. Thermogravimetric analysis of synthetic magnesian calcites: preliminary results. In: *Oceanologica Acta*. 1990.
15. M. Singh, , S. Vinodh Kumar, , Sujata A. Waghmare, , P.D. Sabale. Aragonite–vaterite–calcite: Polymorphs of CaCO<sub>3</sub> in 7th century CE lime plasters of Alampur group of temples, India. 2016;112:386-97.
16. Georgieva V, Vlaev L, Gyurova K. Non-Isothermal Degradation Kinetics of CaCO<sub>3</sub> from Different Origin. *Journal of Chemistry*. janv 2013;2013.
17. Zdeněk \vSauman. Carbonization of porous concrete and its main binding components. *Cement and Concrete Research*. 1971;1:645-62.
18. Villain G, Thierry M, Platret G. Measurement methods of carbonation profiles in concrete: Thermogravimetry, chemical analysis and gammadensimetry. *Cement and Concrete Research*. 2007;37(8):1182-92.
19. Bizzozero J, Scrivener K. Hydration and microstructure of rapid-strength binders based on OPC accelerated by early ettringite formation. In 2014.
20. Ramachandran V, Paroli R, Beaudoin J, Delgado A. Handbook of Thermal Analysis of Construction Materials. *Thermochemica Acta*. nov 2003;406.
21. Figueirêdo J, Costa F, Fernandes J, M. Rodrigues A, Neves G, Menezes R, *et al.* Development of Scheelite Tailings-Based Ceramic Formulations with the Potential to Manufacture Porcelain Tiles, Semi-Stoneware and Stoneware. *Materials*. nov 2020;13:5122.
22. Johnson SE, Song WJ, Cook AC, Vel SS, Gerbi CC. The quartz  $\alpha \leftrightarrow \beta$  phase transition: Does it drive damage and reaction in continental crust? *Earth and Planetary Science Letters*. 2021;553:116622.



## **Chapitre 3 : Réactivité physico-chimiques des granulats recyclés en milieu marin**



<b>3.1. INTRODUCTION.....</b>	<b>123</b>
<b>3.2. HYDRATATION, CARBONATATION DES MATERIAUX CIMENTAIRES ET COMPORTEMENT DES HYDRATES EN MILIEU MARIN .....</b>	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
3.2.1. HYDRATATION DU CIMENT	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
3.2.2. PROCESSUS DE CARBONATATION DES MATRICES CIMENTAIRES	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
<b>3.3. STABILITE DES HYDRATES CIMENTAIRES EN SOLUTION .....</b>	<b>123</b>
3.3.1. EQUILIBRE DES HYDRATES DANS L'EAU	123
3.3.2. COMPORTEMENT EN MILIEU MARIN	124
<b>3.4. CARACTERISATIONS MINERALOGIQUES DES GR (RC, RU ET RB) ET DES GN.....</b>	<b>125</b>
3.4.1. MATERIAUX A BASE CIMENTAIRE (RC)	125
3.4.1.1. Composition minéralogique	125
3.4.1.2. Analyses MEB	128
3.4.1.3. Analyse thermogravimétrique	131
3.4.2. LES PIERRES NATURELLES (RU) ET LES TERRE CUITES (RB)	132
3.4.3. LES GRANULATS NATURELS (GN)	134
<b>3.5. REACTIVITE DES SABLES RECYCLES (SR) .....</b>	<b>135</b>
3.5.1. REACTIVITE DES RC	137
3.5.2. REACTIVITE DES RB ET RU	140
<b>3.6. DISCUSSION.....</b>	<b>141</b>
3.6.1. DISSOLUTION/PRECIPITATION DES PHASES HYDRATEES	141
3.6.2. CARBONATATION DANS L'EAU DE MER	143
<b>3.7. CONCLUSION .....</b>	<b>144</b>
<b>3.8. REFERENCES.....</b>	<b>146</b>

### 3. Réactivité des granulats recyclés en milieu marin

#### 3.1. Introduction

Dans ces travaux de thèse, les granulats recyclés étudiés sont des matériaux multi-composants particulièrement riches en granulats de béton (Rc). L'essai de tri manuel, présenté dans le **chapitre 2** a permis d'identifier deux autres composants majoritaires : les terres cuites (Rb) et les pierres naturelles (Ru). La matrice cimentaire contenue dans les granulats de béton (Rc) renferme une proportion de phases hydratées susceptible d'interagir avec le milieu auquel elles sont confrontées. En milieu marin, ces phases, préalablement formées lors de l'hydratation des phases anhydres du ciment, peuvent dans une moindre mesure modifier les caractéristiques et la composition du milieu et ainsi influencer la précipitation du dépôt calcomagnésien.

Pour étudier la réactivité des granulats recyclés dans l'eau de mer, un protocole expérimental basé sur des suivis de pH et de conductivité en solution a été mis en place pour mettre en évidence les réactions de dissolution et de précipitation. Le montage expérimental, impliquant l'utilisation d'un réacteur double paroi, et le protocole d'analyse sont présentés dans le **chapitre 2**. Des dosages ioniques ont également été réalisés au cours des expériences pour évaluer l'influence des granulats recyclés sur la composition chimique de l'eau de mer.

Au préalable, une synthèse bibliographique sur la stabilité des hydrates du ciment en solution et en milieu marin est présentée.

#### 3.2. Stabilité des hydrates cimentaires en solution

##### 3.2.1. Equilibre des hydrates dans l'eau

L'équilibre des hydrates dans l'eau, présentées dans le **Tableau 3-1**, a été modélisé par le logiciel PHREEQC lors des travaux de thèse de Y.Hou (15) portant sur la réactivité des GR en solution. Les réactions de dissolution et les constantes d'équilibres ( $pK = -\log K$ ) sont obtenues à partir de la base de données Thermoddem (<https://thermoddem.brgm.fr/databases/phreeqc>). Leur dissolution est d'autant favorisée que la constante K (constante d'équilibre) est élevée et le pK bas.

Tableau 3-1: Réaction de dissolution et constante d'équilibre ( $pK = -\log K$ ) des hydrates cimentaires dans l'eau à 25°C.

Hydrates	Réaction de dissolution	pK
CH	$\text{Ca}(\text{OH})_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{Ca}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$	22,809
C-S-H (Ca/Si=1.2)	$\text{Ca}_{2,4}\text{Si}_2\text{O}_{7,1203} \cdot \text{H}_{1,4406} \cdot 2,069\text{H}_2\text{O} + 4,8\text{H}^+ = 2,4\text{Ca}^{2+} + 2\text{H}_4\text{SiO}_4 + 1,1895\text{H}_2\text{O}$	37,938
C-S-H (Ca/Si=1.0)	$\text{Ca}_2\text{Si}_2\text{O}_{6,6436} \cdot \text{H}_{1,2872} \cdot 1,7542\text{H}_2\text{O} + 4\text{H}^+ = 2\text{Ca}^{2+} + 2\text{H}_4\text{SiO}_4 + 0,3978\text{H}_2\text{O}$	29,464
AFt	$\text{Ca}_6\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3(\text{OH})_{12} \cdot 26\text{H}_2\text{O} + 12\text{H}^+ \rightarrow 2\text{Al}^{3+} + 6\text{Ca}^{2+} + 3\text{SO}_4^{2-} + 38\text{H}_2\text{O}$	56,958
AFm (16)	$4\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 13\text{H}_2\text{O} = 4\text{Ca}^{2+} + 2\text{Al}(\text{OH})_4^- + 6\text{OH}^- + 6\text{H}_2\text{O}$	25,400

La dissolution des hydrates dans l'eau conduit à la libération d'ions calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), de molécules d'eau et pour certains (AFt et AFm), d'ions aluminium ( $\text{Al}^{3+}$ ) et sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ). L'acide orthosilicique ( $\text{H}_4\text{SiO}_4$ ) peut survenir par dissolution des C-S-H. D'un point de vue cinétique, la déstabilisation de la Portlandite semble dans un premier temps privilégié au regard de sa constante pK, suivi des AFm, C-S-H et enfin de l'AFt.

### 3.2.2. Comportement en milieu marin

Outre le pH, la stabilité des hydrates cimentaires dépend aussi des éléments chimiques constituant le milieu. Dans l'eau de mer, cette stabilité est principalement tributaire de la présence d'ions sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ). En effet, plusieurs études ont montré qu'après une exposition prolongée du béton dans l'eau de mer, les ions sulfates, sous la forme majoritaire de sulfate de magnésium dissout ( $\text{MgSO}_4$ ), déstabilisaient les hydrates ce qui, à travers leur dissolution, favoriserait la précipitation de nouveaux composés en solution (7,17). Les réactions dissolution/précipitation des hydrates dans l'eau de mer naturelle (EDMN) proposées dans la littérature sont résumées dans le **Tableau 3-2**.

Tableau 3-2: Réactions de dissolution/précipitation des hydrates de la matrice cimentaire (CH, C-S-H, AFt et AFm) dans l'eau de mer.

Hydrates	Réaction dans l'EDMN
<b>CH</b>	$\text{MgSO}_{4\text{aq}} + \text{Ca}(\text{OH})_2 \rightarrow \text{CaSO}_4 + \text{Mg}(\text{OH})_2$
<b>C-S-H</b>	$\text{MgSO}_{4\text{aq}} + x\text{CaO} \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow x\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + \text{MgO} \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ( <b>M-S-H</b> ) $(3\text{CaO}) \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{CaSO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O} + 2 \text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 16\text{H}_2\text{O} \rightarrow (3\text{CaO}) \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{CaSO}_4 \cdot 32\text{H}_2\text{O}$ ( <b>Ettringite</b> )
<b>AFm</b>	$(3\text{CaO}) \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 12\text{H}_2\text{O} + 3(\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) + 13 \text{H}_2\text{O} \rightarrow (3\text{CaO}) \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot (3\text{CaSO}_4) \cdot 31\text{H}_2\text{O}$ ( <b>Ettringite</b> )
<b>AFt</b>	Dissolution de l'ettringite ( <b>Tableau 3-1</b> )

La dissolution de la Portlandite par les ions  $\text{SO}_4^{2-}$  conduit à la précipitation d'hydroxyde de magnésium ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ) (18–20). L'attaque des ions sulfates sur les C-S-H se traduit par un échange cationique entre le calcium et le magnésium présent dans l'eau de mer pour former un silicate de magnésium hydraté (M-S-H), stable pour des valeurs de pH allant de 7,5 à 10, et du gypse (21–24) Le gypse issu de la dissolution des phases CH et C-S-H provoque, par dissolution de la phase AFm, la précipitation d'ettringite (AFt) à partir de pH=13 (7,17,19,25–28). La phase AFt, composée d'ettringite, est déstabilisée en raison du pH faiblement basique de l'eau de mer selon la réaction présentée dans le **Tableau 3-1**.

Dans le cadre de ces travaux de thèse qui s'intéressent à des matériaux recyclés supposés partiellement carbonatés, il est important de noter que les phénomènes de dissolution/précipitation des hydrates dans l'eau de mer cités plus haut, n'ont seulement été observés que pour des bétons non carbonatés et exposés à des temps relativement longs dans l'eau de mer (plusieurs mois/années). L'interprétation de nos

résultats prend donc pour appui les observations relatées dans la littérature mais reste non-exhaustive au regard de l'état carbonaté de nos matériaux.

### 3.3. Caractérisations minéralogiques des GR (Rc, Ru et Rb) et des GN

Les classes minéralogiques Rc, Ru et Rb ont été utilisées pour étudier la réactivité physico-chimique des GR dans l'eau de mer tandis que le Granulat Naturel (GN) est utilisé comme matériau témoin.

#### 3.3.1. Matériaux à base cimentaire (Rc)

##### 2.6.3.3. 3.3.1.1. Composition minéralogique

Les matériaux à base cimentaire sont essentiellement composés de granulats naturels et d'une matrice cimentaire. La composition minéralogique générale des Rc est obtenue à l'aide d'une analyse par diffraction à rayons X sur des échantillons préalablement broyés. Un diffractogramme représentatif de l'analyse est présenté sur la **Figure 3-1**.

Il est possible de constater la présence de la Portlandite, un hydrate particulièrement réactif en solution. Les phases C-S-H, AFt et AFm n'ont pas été détectées par DRX probablement en raison de leur faible proportion au sein de la matrice cimentaire mais également de leur faible cristallinité. Plusieurs minéraux sont néanmoins identifiés. La majorité d'entre eux sont caractéristiques des roches magmatiques tels que le quartz ( $\text{SiO}_2$ ), l'Albite ( $\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$ ), appartenant à la famille des Feldspath (29–31) et la Chamosite  $(\text{Fe,Al,Mg})_6(\text{Si,Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$  (32). La présence de la Gismondine ( $\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), une zéolithe naturelle, vient de la fabrication du béton (33–35). Enfin, le  $\text{CaCO}_3$  sous la forme calcite peut provenir des granulats silico-calcaire et/ou résulter de la carbonatation naturelle du béton parent.

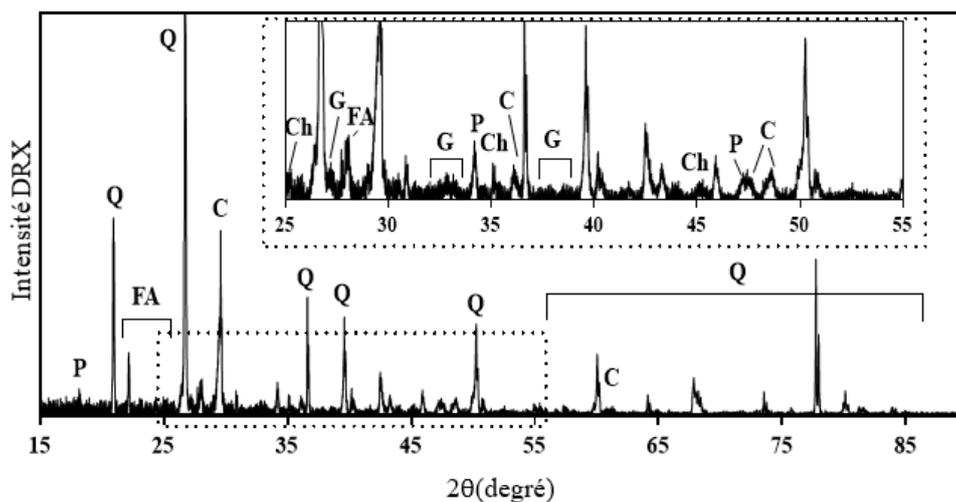
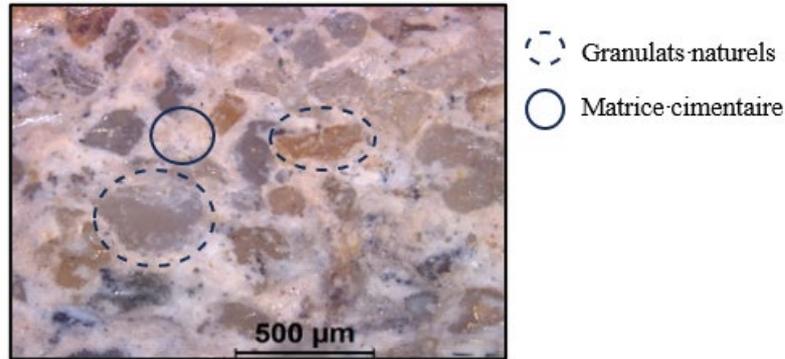


Figure 3-1: Diffractogramme caractéristique d'un échantillon de Rc broyé. Abréviations : Hydrates : P= Portlandite et granulats naturels : Q=Quartz, C = Calcite, FA=Feldspath Albite, G= Gismondine, Ch= Chamosite.

Une analyse complémentaire des Rc a été réalisée grâce à la spectroscopie Raman pour caractériser individuellement la matrice cimentaire et les granulats. Pour cela, des coupes transversales ont été réalisées sur des Rc à l'aide d'une tronçonneuse à lame diamant. Un aperçu d'une coupe transversale d'un Rc est donné à la **Figure 3-2**. La matrice cimentaire correspond à la zone interfaciale blanche entre les granulats. La  $\mu$ -spectroscopie Raman permet d'analyser localement le matériau à l'échelle du  $\mu\text{m}^3$ . Les spectres Raman, présentés en **Figure 3-3** sont représentatifs d'une succession d'analyses effectuées sur plusieurs zones.



**Figure 3-2:** Observation au microscope binoculaire Leica d'une coupe transversale d'un Rc. Grossissement  $\times 5$ .

Les spectres Raman confirment la présence de la calcite au niveau de la matrice cimentaire comme en témoigne les pics caractéristiques 155, 279, 713 et 1085  $\text{cm}^{-1}$ . Nous retrouvons également le quartz avec les pics 127, 209, 267, 354, 397, 463, 708, 812 et 1173  $\text{cm}^{-1}$  (36) dont la provenance vient aussi de la fraction fine du squelette granulaire. Les phases hydratées n'ont pas été détectées avec cette méthode probablement en raison de leur faible proportion dans les Rc. Au niveau des granulats naturels, on retrouve l'Albite (37,38) ainsi que de nouveaux composés tels que le Clinopyroxène ((Ca,Mg,Fe)Si<sub>2</sub>O), un constituant des roches magmatiques (29) (39) et l'Hématite ( $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), un colorant naturel retrouvé dans les terre cuites (37,40). La calcite est aussi retrouvée au sein de ces granulats.

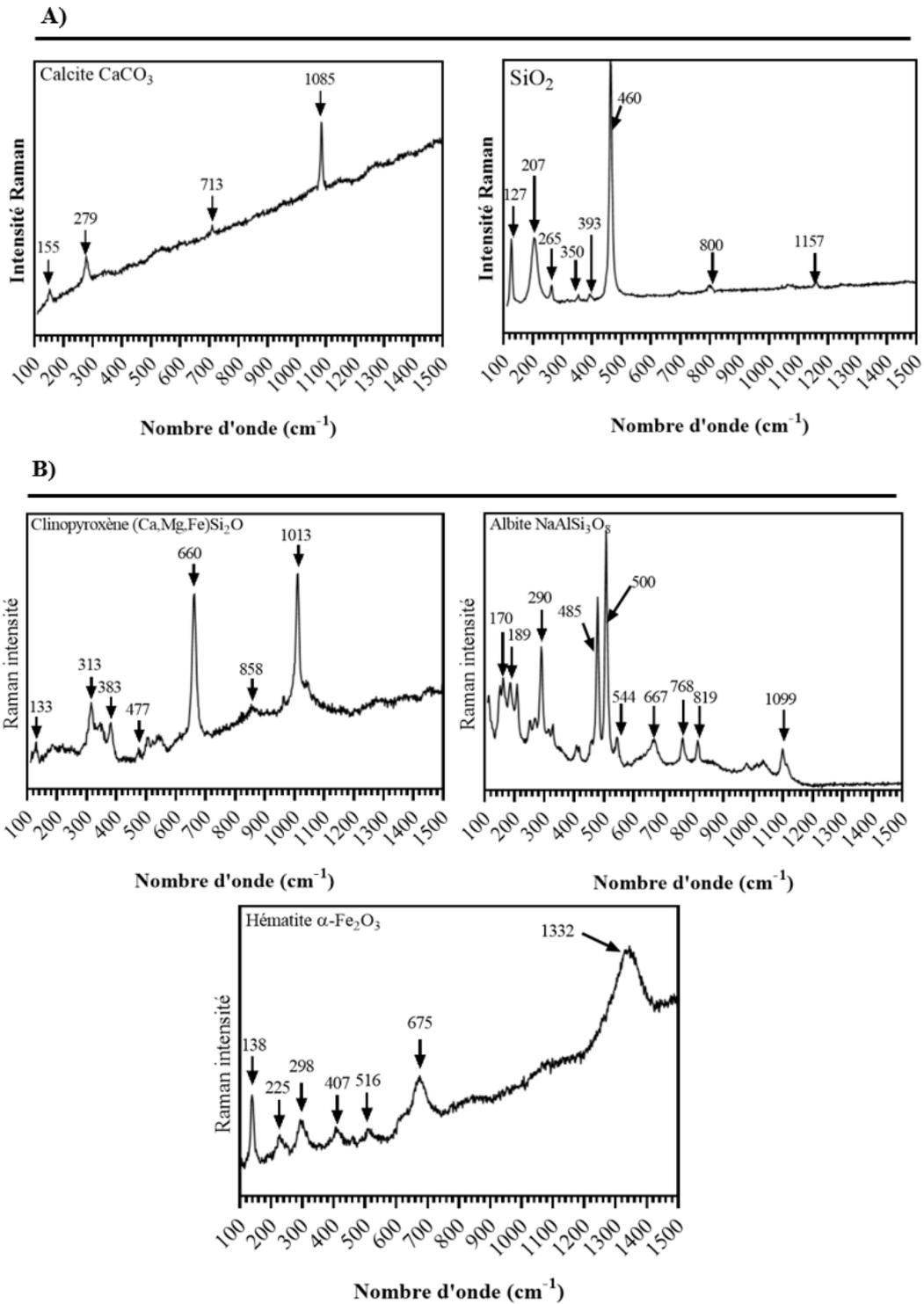


Figure 3-3: Spectres Raman de A) la matrice cimentaire et B) des granulats naturels des Rc.

2.6.3.4. 3.3.1.2. Analyses MEB

Des analyses au microscope électronique à balayage ont été réalisées sur les Rc afin de déterminer leur composition chimique initiale (en élément chimique), que ce soit au niveau de la matrice cimentaire ou des granulats d'apports. Pour cela, plusieurs échantillons de Rc, de fraction >20mm, ont été enrobés par de la résine époxy puis découpés à la tronçonneuse à lame diamant afin d'obtenir des coupes transversales de l'ordre d'1 mm d'épaisseur pour les analyses MEB. Ces coupes, présentées sur la **Figure 3-4**, ont toutes été analysées sur différentes zones. Les contrastes topographiques, chimiques ainsi que les cartographies en éléments Ca, Al et Si des différents échantillons (et différentes zones) ont donné la même signature. Pour cela, nous ne présenterons les résultats d'analyses que d'une seule zone (d'une coupe transversale). Cette zone est identifiée sur la **Figure 3-4** par un rectangle noir.



Figure 3- 4 : Coupes transversales de Rc (>20 mm) analysées au MEB. Le rectangle noir correspond à la zone dont les résultats d'analyses sont détaillés.

La **Figure 3-5** présente le contraste chimique obtenu sur la surface de la zone (coupe transversale de Rc).

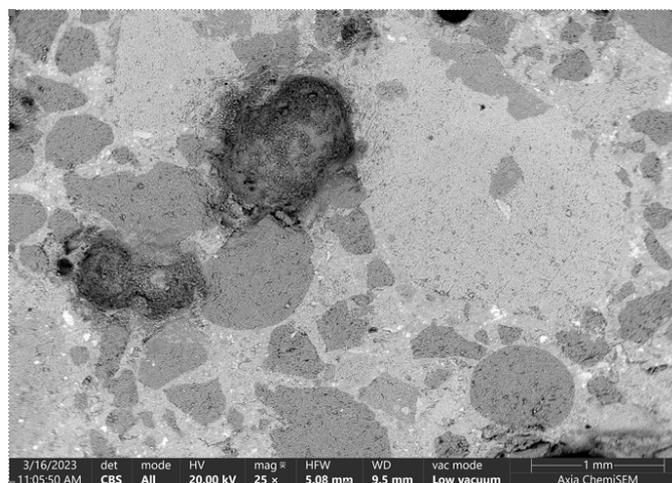


Figure 3- 5 : Image MEB de type électrons rétrodiffusés (contraste chimique) de la surface d'une coupe transversale de Rc (zone délimitée par le rectangle noir).

À partir du contraste chimique de la zone, nous distinguons des zones sombres, synonyme d'éléments chimiques légers ( $Z$  petit), correspondant aux granulats que composent le béton, lesquels sont entourés d'une zone plus claire ( $Z$  plus grand), pouvant correspondre à la matrice cimentaire ou de la carbonatation. Le spectre EDS et les %atomique obtenus par analyse EDS (**Figure 3-6**), nous informe que l'aluminium, le silicium et le calcium font partis des éléments chimiques les plus retrouvés sur cette zone (en dehors du carbone et de l'oxygène).

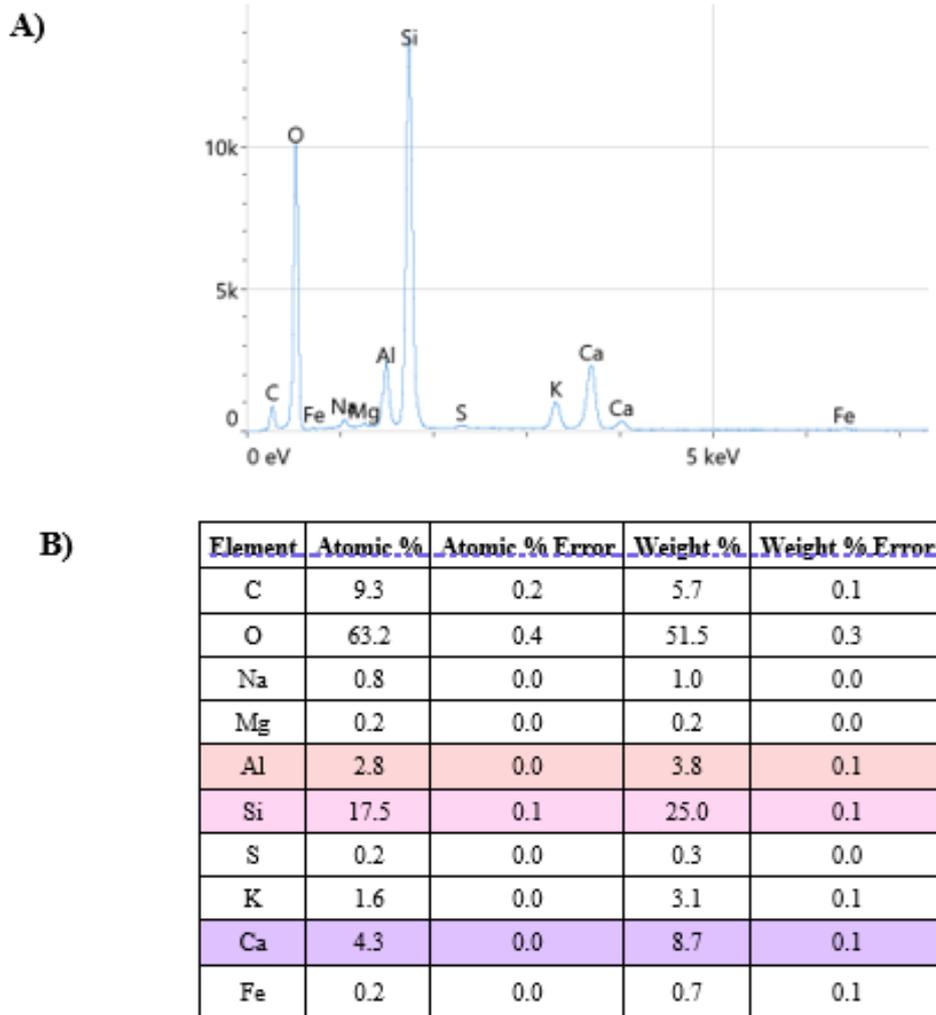


Figure 3- 6 : A) Spectre EDS et B) %atomique obtenu par analyse EDS de la zone délimitée par le rectangle noir d'une coupe transversale d'un Rc.

L'aluminium et le silicium font référence à la composition des granulats (naturels ou recyclés (pierres naturelles, terre cuite)) ainsi que de la matrice cimentaire, constituée principalement d'hydrates aluminosilicates. Les cartographies de Ca, Al et Si de la zone sont données sur la **Figure 3-7**.

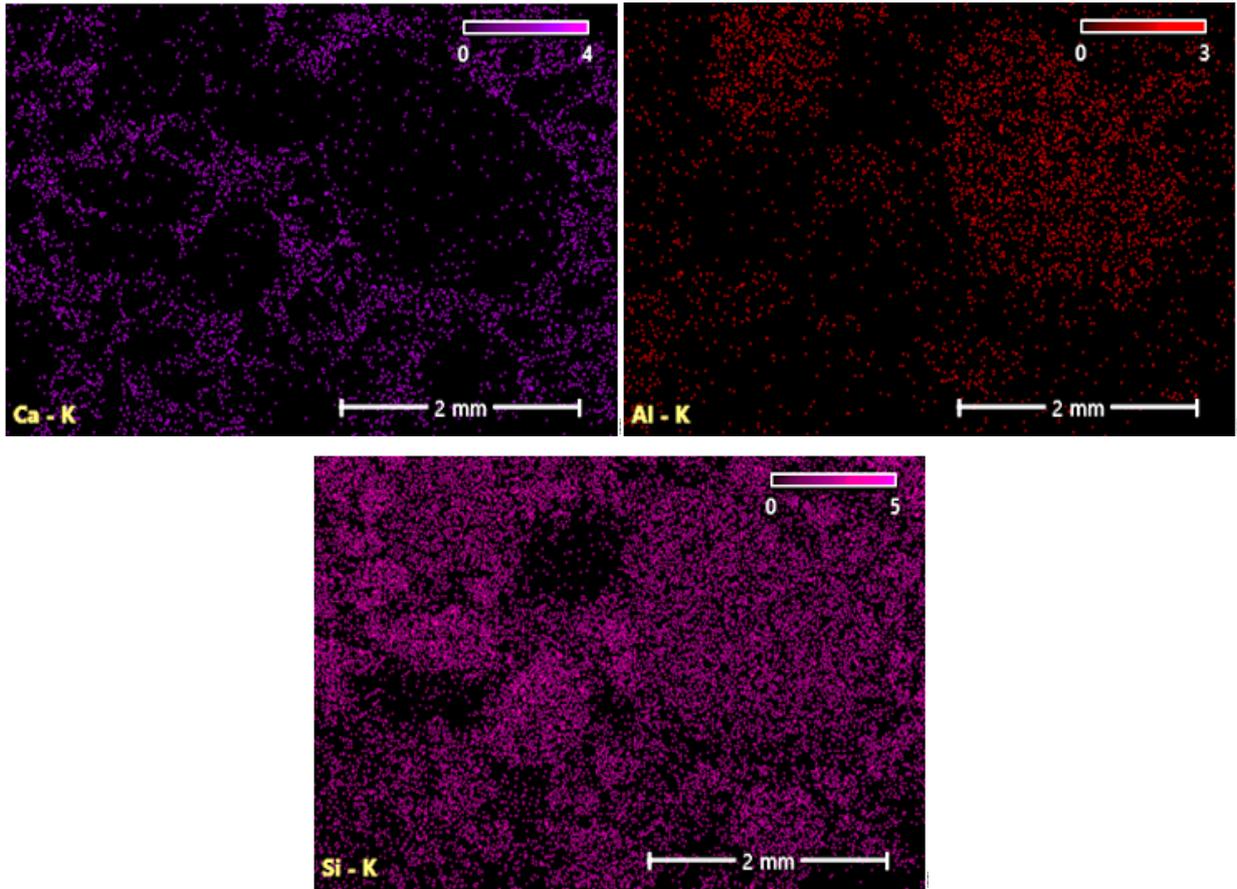


Figure 3- 7 : Cartographies en élément Ca (calcium), Al (aluminium) et Si (silicium) de la zone (rectangle noir) d'une coupe transversale d'un Rc.

Comme attendu, l'aluminium et le silicium sont retrouvés pratiquement partout sur la zone car ils sont contenus à la fois dans les granulats et via les hydrates cimentaires. En revanche, nous constatons que le calcium est présent principalement autour des granulats, témoignant de la présence des hydrates cimentaires mais aussi de la présence de  $\text{CaCO}_3$  formé lors du phénomène de carbonatation des hydrates cimentaires. Une analyse RAMAN réalisée à cet endroit a révélé la présence de la calcite. Ainsi, ces analyses MEB ont révélé que les Rc sont au moins partiellement carbonatés à l'échelle intragranulaire.

2.6.3.5. 3.4.1.3. Analyse thermogravimétrique

L'analyse thermogravimétrique est utilisée en complément des deux précédentes analyses pour affiner la caractérisation des Rc. Sur la **Figure 3-8** sont présentées les courbes moyennes d'ATG et de DTG des Rc.

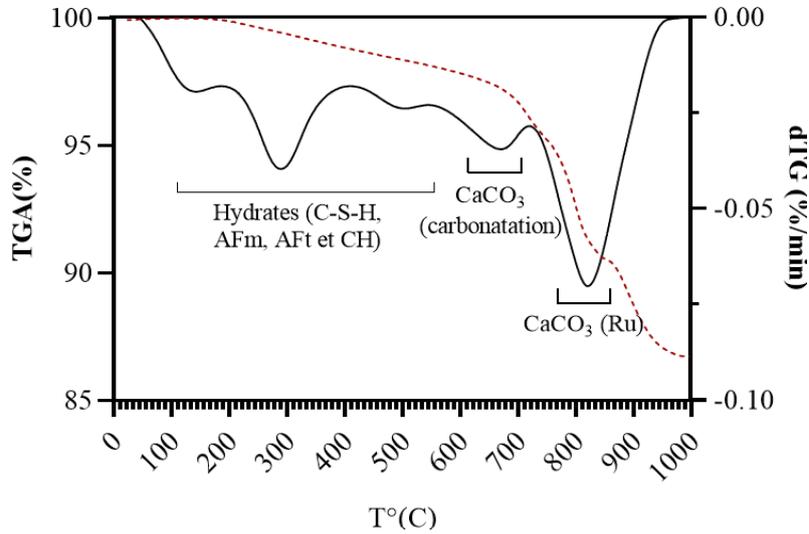


Figure 3-8: Courbes ATG/DTG moyennes des Rc réalisées sur 4 échantillons déshydratés de 150g. La courbe dérivée est représentée en ligne pointillée et la courbe ATG en ligne continue.

La décomposition thermique des Rc s'établit en deux étapes principales : la décomposition thermique des hydrates cimentaires, observée entre 120 et 550°C, et celle des carbonates de calcium, observée entre 550 et 950°C. Plus précisément, la déshydratation des phases hydratées C-S-H, AFm et AFt, et du gypse ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) correspond à la plage de température 120-150°C avec son maximum à 130°C (observée entre 120-150°C) (41–45) alors que la déshydroxylation de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  se produit à 500°C (49). À partir de 550°C se produit la calcination du  $\text{CaCO}_3$  conduisant à la perte de  $\text{CO}_2$  et à la formation de  $\text{CaO}$  (52–55). À 650°C, se produit la première calcination pouvant correspondre, en raison d'un faible réseau cristallin, aux carbonates de calcium formés lors du phénomène de carbonatation (79), alors que celle observée vers 800°C, correspond à la phase carbonatée des matériaux naturels (Ru).

Il est important de noter que les courbes ATG/DTG sont une moyenne de plusieurs analyses thermogravimétriques. Les plages de températures peuvent varier de plusieurs dizaines de degrés d'un échantillon à l'autre.

À partir des analyses thermogravimétriques, le  $\text{CaCO}_3$  (carbonatation et Ru) ainsi que les hydrates (C-S-H, AFm, AFt et CH) sont quantifiés pour nous donner une indication sur la réactivité des granulats recyclés dans l'eau de mer. Selon les équations données dans le **Chapitre 2**, la masse de l'échantillon décarbonaté et déshydraté ( $m_d$ ) (Eq.2-17) peut être, à partir des pertes de masses observées dans la **Figure 3-8**, exprimée selon l'expression suivante (Eq.3-1) :

$$m_d = m_s - \left( \underbrace{\Delta m_{105-550}}_{\text{Hydrates}} + \underbrace{\Delta m_{550-720}}_{\text{CaCO}_3 \text{ (carbonatation)}} + \underbrace{\Delta m_{720-975}}_{\text{CaCO}_3 \text{ (Ru)}} \right) \quad \text{Eq.3-1}$$

La proportion de  $\text{CaCO}_3$  contenue dans les Rc est estimée à  $25 \pm 7$  % en masse dont 6% attribués à la carbonatation et 19% aux Ru. Les hydrates cimentaires ( C-S-H, AFm, AFt et CH) correspondent approximativement à 10% en masse des Rc et le reste, soit 65%, correspond aux Ru.

### 3.3.2. Les pierres naturelles (Ru) et les terre cuites (Rb)

La classe minéralogique Ru représente environ 30 % en masse des GR. Elle comprend principalement des roches magmatiques et sédimentaires. Elles sont principalement composées de carbonates et de silicates (**Figure 3-9**). Les composés carbonatés détectés sont la calcite et la calcite magnésienne ( $\text{Ca}_{1-x}\text{Mg}_x\text{CO}_3$  avec  $x=0,06$ ) et correspondent à  $89 \pm 14$  % en masse de  $\text{CaCO}_3$  (ATG).

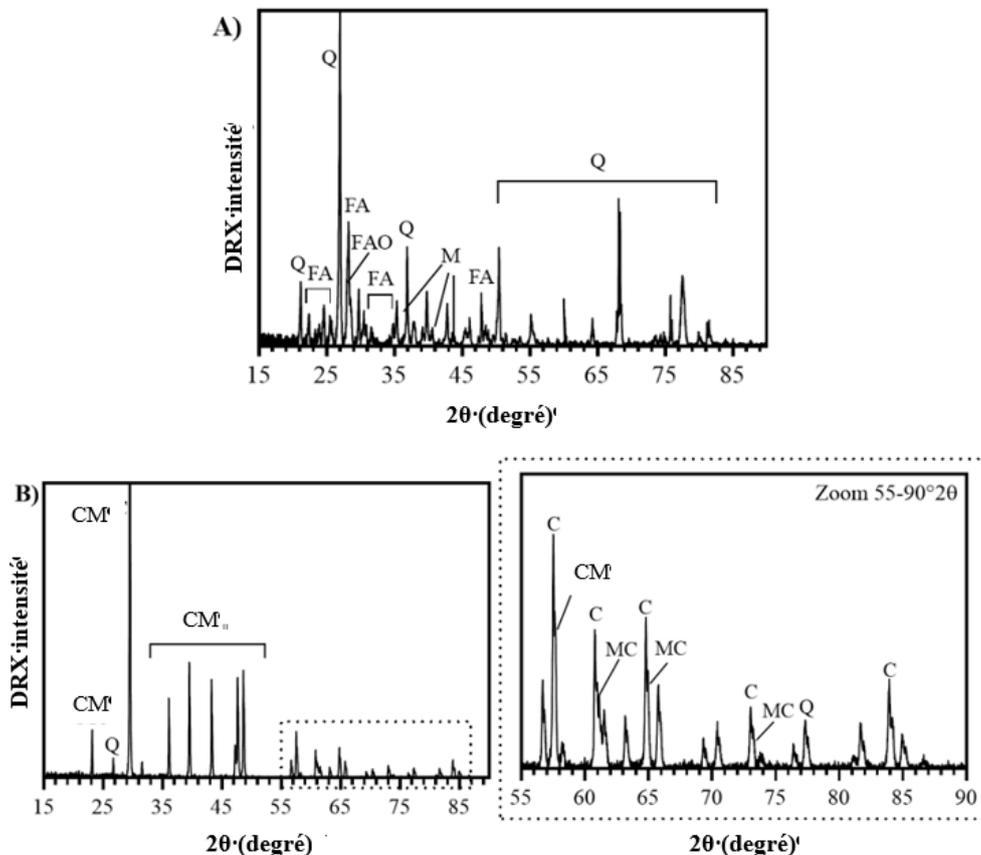


Figure 3-9: Diffractogrammes caractéristiques de la classe minéralogique Ru. A) les pierres calcaires et B) les pierres naturelles. Abréviations : les composés carbonatés : C = Calcite et CM= Calcite magnésienne et silicatés : Q=Quartz, FA(O)=Feldspath Albite (Anorthite) et M=Muscovite.

Les terre cuites (Rb), représentant 8% des GR, sont constituées de silicates ou d'aluminosilicates hydratés. Les composants généralement présents dans les briques ont été identifiés dans nos échantillons, à savoir le feldspath (56,57), le quartz (57,58), la microcline (57) et l'hématite (57,59) (**Figure 3-10.A**). La goéthite ( $\beta\text{-FeOOH}$ ) est identifiée dans le diagramme DRX et sa transformation en hématite correspond à la décomposition thermique à  $300^\circ\text{C}$  (**Figure 3-10.B**).

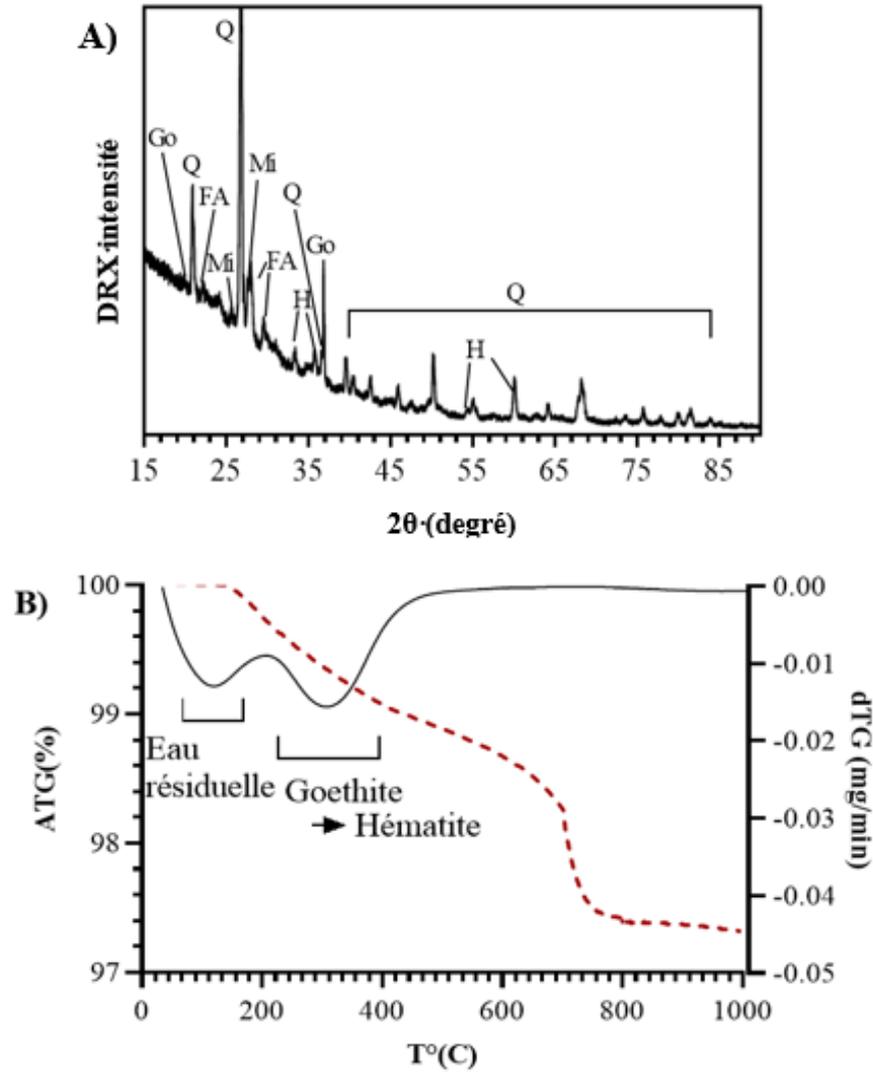


Figure 3-10: Diffractogramme (A) et courbes ATG/DTG (B) des Rb. Abréviations : FA=Feldspath Albite, Q=Quartz, H=Hématite, Mi=Microcline et Go=Goethite. La courbe dérivée est représentée en ligne pointillée et la courbe ATG en ligne continue.

### 3.3.3. Les granulats naturels (GN)

Les granulats naturels, considérés inertes chimiquement au contact de l'eau de mer, sont utilisés pour comparaison avec les GR. En effet, ce sont principalement des roches magmatiques de type diorite majoritairement constituées de Feldspath et de Quartz comme en témoigne l'analyse DRX, présentée sur la **Figure 3-11** avec la détection de l'Albite et de l'Orthoclase.

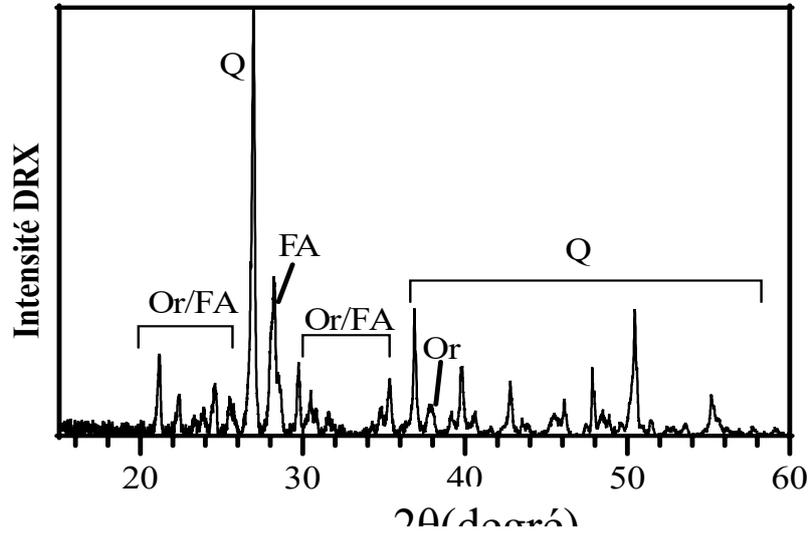


Figure 3-11: Diffractogramme caractéristique des GN. Abréviations : FA=Feldspath Albite, Or=Orthoclase, Q=Quartz.

### 3.4. Réactivité des sables recyclés (SR)

La réactivité des SR et du sable naturel SN dans l'EDMN pendant respectivement 9 et 2 jours d'immersion est présentée dans la **Figure 3-12**.

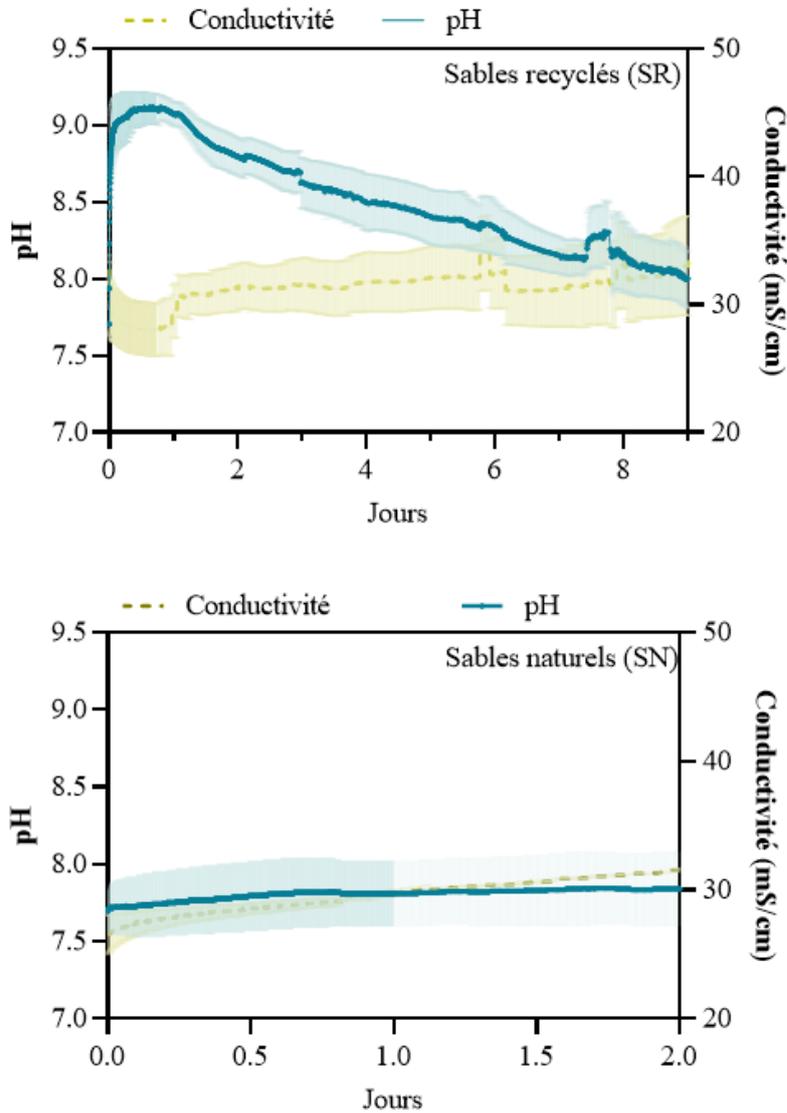


Figure 3-12: Réactivité des SR et du SN dans l'EDMN en fonction du temps d'immersion, respectivement de 9 et 2 jours. La conductivité ionique est représentée en jaune et le pH en vert. Les écarts types sont représentés en couleur clairs. Une moyenne de 7 expériences pour les SR et 3 expériences pour le SN.

Dès l'immersion des SR, on observe des variations marquées du pH et de la conductivité en solution. Le pH de l'EDMN, initialement d'environ 7,7, augmente instantanément jusqu'à 9,1. Constat inverse pour la conductivité puisqu'elle diminue significativement pendant les premières 24h. Ces variations de mesure témoignent d'un effet lixiviant de l'EDMN sur le SR, et plus certainement au niveau des phases hydratées contenues dans les Rc. A ces valeurs de pH, ces hydrates, chimiquement instables, se

dissolvent au contact de l'eau de mer conduisant à des fluctuations du pH et de la conductivité. À l'inverse, le sable naturel est totalement inerte dans l'eau de mer comme en témoigne les valeurs constantes de pH et conductivité au cours du temps. L'inactivité du SN met en avant le rôle prédominant des matériaux Rc, en particulier des phases hydratées, sur les variations de pH et conductivité.

À partir des données relatives à la stabilité des hydrates en solution, exposées dans la partie (**Chapitre 3.3.3**). On peut dans un premier temps attribuer cette alcalinisation de l'EDMN à la dissolution de la Portlandite, instable pour des  $\text{pH} < 12,5$ , qui conduit à la libération d' $\text{OH}^-$  et de  $\text{Ca}^{2+}$ . Il en vient par la suite, la déstabilisation des phases C-S-H, AFm suivie des AFt, instables pour des pH inférieurs à 10 et 13 qui, par dissolution, peuvent constituer une source en ions calcium, aluminium, silicium, ou sulfate et générer une alcalinisation du milieu.

Lorsque le pH augmente, la conductivité diminue immédiatement, ce qui indique que les réactions de précipitation se produisant en solution sont prédominantes par rapport aux phénomènes de dissolution. Nous suggérons que les ions  $\text{Ca}^{2+}$  provenant de la lixiviation des hydrates peuvent rapidement réagir avec les ions carbonates ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) de l'eau de mer pour précipiter sous la forme de carbonates de calcium. Cette augmentation du pH entraîne un déplacement de l'équilibre calco-carbonique de  $\text{HCO}_3^-$  à  $\text{CO}_3^{2-}$  (9,10) dans l'eau de mer favorisant ainsi les ions carbonates en solution et, par association avec les  $\text{Ca}^{2+}$  amène à la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ , en particulier à un pH 8-9. Par ailleurs, la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  permettrait d'expliquer cette baisse de conductivité au cours des premières 24h.

Comme la teneur en ions  $\text{Ca}^{2+}$  est supposée être en excès par rapport au  $\text{CO}_3^{2-}$  disponible, cela peut suggérer que les ions calcium peuvent se combiner avec des anions disponibles en solution tels que les ions  $\text{SO}_4^{2-}$  pour former du gypse dissous.

À 24h d'immersion, les valeurs du pH atteignent leur maximum ( $\text{pH}=9,1$ ) et celles de la conductivité leur minimum (28 mS/cm) et puis adoptent un comportement inverse.

Le pH diminue tandis que la conductivité augmente jusqu'à la fin de l'expérience. L'acidification du milieu résulte d'un ajustement de l'équilibre calcocarbonique dans l'eau de mer. De fait, l'eau de mer possède un fort pouvoir tampon via le couple  $\text{CO}_{2(\text{aq})}/\text{HCO}_3^-$ . L'ionisation des ions  $\text{HCO}_3^-$  en  $\text{CO}_3^{2-}$  induit par l'alcalinisation du milieu, et la consommation des ions  $\text{CO}_3^{2-}$  pour former du  $\text{CaCO}_3$ , amène à la dissolution progressive du  $\text{CO}_2$  atmosphérique sous une forme majoritairement ionisée  $\text{HCO}_3^-$  pour atteindre l'équilibre calcocarbonique et conduit naturellement à une diminution du pH.

Parallèlement, cette acidification progressive favorise la déstabilisation des phases hydratées (CH, C-S-H, AFm et AFt) qui expliquent l'augmentation de la conductivité. L'équilibre du pH semble être atteint en 8 jours autour d'un pH 8. La dissolution d'autres phases minérales provenant d'autres constituants (i.e. pierres naturelles, terre cuite) n'est pas exclue mais devrait être moins importante au regard de leur stabilité chimique. C'est d'ailleurs pour cette raison que ces familles de constituants ont été étudiés d'une manière moins approfondie que les Rc.

### 3.4.1. Réactivité des Rc

Comme pour le SR, la réactivité des matériaux à matrices cimentaires (Rc) ainsi que les suivis élémentaires des éléments chimiques de Ca, Mg, Al, Si dans l'eau de mer sont présentées sur la **Figure 3-13**.

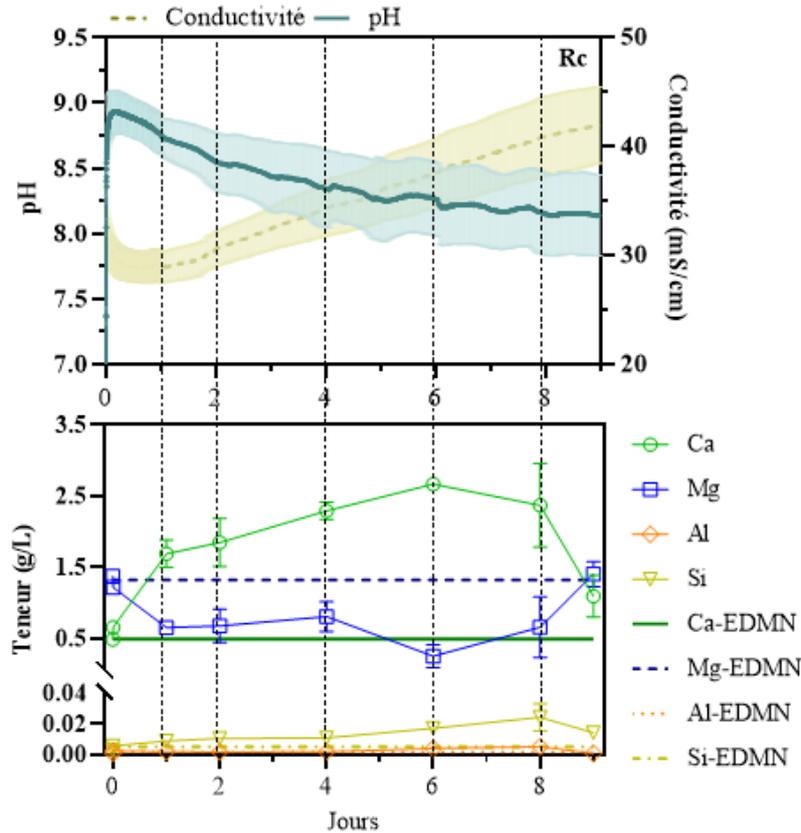


Figure 3-13: Réactivité des Rc dans l'EDMN et suivi des teneurs élémentaires (g/L) en calcium (Ca), magnésium (Mg), aluminium (Al) et silicium (Si) en fonction du temps d'immersion. La conductivité est représentée en ligne discontinue jaune et le pH en ligne continue verte. Ecarts types en couleur claires. Une moyenne de 4 expériences.

À partir de ces résultats, il est possible de constater que les Rc adoptent un comportement quasi-similaire dans l'EDMN que les SR. On peut d'ores et déjà affirmer que la réactivité des SR est principalement contrôlée par la stabilité physico-chimique des Rc via les phases hydratées qu'ils contiennent. La lixiviation des Rc se caractérise par des phases de dissolution/précipitation dans les premières heures d'immersion, suivi de phénomènes de dissolution et d'acidification du milieu sur 9 jours.

En quelques heures, le milieu s'alcalinise jusqu'à atteindre une valeur de pH de 9. Cette valeur de pH est intimement liée à l'état initial de carbonatation du matériau, qui en raison d'une exposition prolongée au CO<sub>2</sub> atmosphérique, amoindrit la matrice cimentaire en phases hydratées et affaiblit l'effet de sa dissolution dans l'eau de mer.

En comparant avec la réactivité des SR, on remarque un décalage au niveau du temps de début d'acidification du milieu. Le pH commence à diminuer seulement 2 à 3 heures après l'immersion des

Rc alors qu'il faut 24h dans le cas des SR. Ce décalage peut correspondre à la dissolution partielle des autres matériaux contenus dans les SR, notamment les terre cuites (Rb) que nous verrons par la suite.

Avec un filtre de porosité 20 $\mu$ m, l'acidification réalisée pour les besoins des analyses ICP, a pu dans une certaine mesure dissoudre les éventuels précipités passés à travers le filtre et ainsi légèrement majorer les teneurs élémentaires. Ces dosages révèlent une augmentation significative de la teneur en calcium dès l'immersion des Rc, confirmant la dissolution des différents hydrates (Portlandite, C-S-H, AFm et AFt). La teneur en calcium quadruple par rapport à celle de l'EDMN en seulement 24h allant de 0,5 g/L à 2 g/L puis atteint son maximum à 6-8 jours, dosée à 3 g/L avant de diminuer jusqu'à environ 1g/L. La dissolution des hydrates se confirme également par l'augmentation des ions silicium et aluminium provenant de la déstabilisation respective des C-S-H et des phases AFm/AFt. L'augmentation des ions aluminium est peu visible en raison de la faible quantité des AFt et AFm dans la matrice cimentaire. Néanmoins, sa teneur est double en 24h, passant de  $1,7 \cdot 10^{-3}$  g/L à  $3 \cdot 10^{-3}$  g/L puis augmente pour atteindre un maximum de  $1 \cdot 10^{-2}$  g/L. Quant au silicium, sa teneur est doublée allant de  $5 \cdot 10^{-3}$  g/L à  $1 \cdot 10^{-2}$  g/L en 24h puis se stabilise. L'analyse ATG réalisée avant et après immersion des Rc révèle une diminution de la quantité des hydrates (C-S-H, AFm et AFt) allant de  $0,3 \pm 0,1$  %<sub>m</sub> à  $0,03 \pm 0,02$  %<sub>m</sub>. La dissolution des hydrates, également validée par l'augmentation continue de la conductivité, suppose la libération de  $SO_4^{2-}$  provenant de la dissolution de l'AFt.

Nous avons suggéré que la diminution de la conductivité au cours des premières 24h pouvait être attribuée à la précipitation de  $CaCO_3$ . Cependant, à partir du suivi des teneurs en Ca et Mg, on peut également supposer la précipitation des ions magnésium car leur teneur diminue rapidement par deux pendant 8 jours passant de 1,5 g/L à 0,6 g/L.

Les précipités récupérés sur le filtre ont été également caractérisés par analyse DRX à la fin de l'expérience. Le diffractogramme illustré sur la **Figure 3-14**, montre la disparition de CH, témoignant de sa dissolution au cours du processus de lixiviation. Trois composés carbonatés ont par ailleurs été identifiés, la calcite, la calcite magnésienne et l'aragonite. Leur présence indique concrètement un phénomène de carbonatation dans l'eau de mer et renforce l'hypothèse de précipitation de  $CaCO_3$  au cours des 24h d'immersion. En fin d'expérience, nous avons détecté la présence du gypse ( $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ ). Nous avons aussi analysé par DRX le matériau Rc après immersion mais les précipités détectés sont les mêmes que sur le filtrat. Nous nous abstenons ainsi de montrer le diffractogramme du fait de la similitude avec celui du filtre.

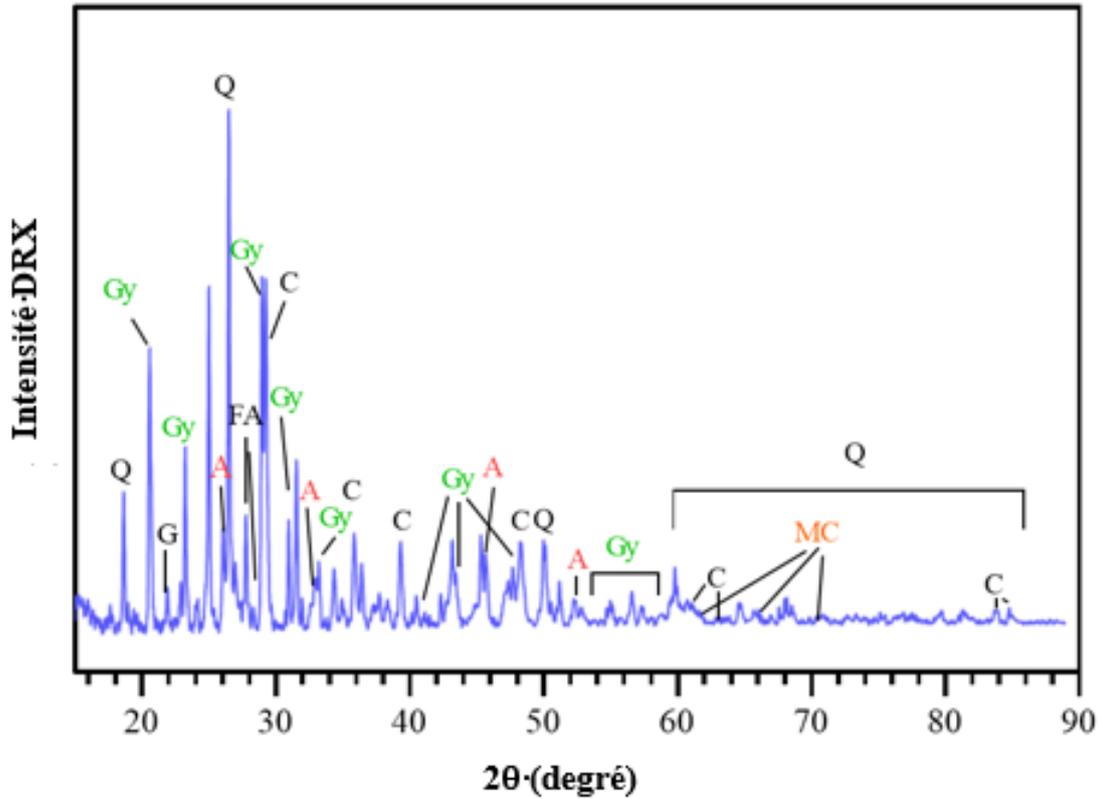


Figure 3-14: Diffractogramme représentatif des précipités détectés sur le filtre après 9 jours d'immersion. Abréviations : Q=Quartz, Gy = Gypse, C = Calcite, A = Aragonite et MC= calcite magnésienne.

L'augmentation significative des ions calcium induit par la dissolution des phases hydratées pourrait être une source non négligeable pour la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  dans le dépôt calcomagnésien ce qui exercerait une influence sur sa cinétique de formation. À contrario, la diminution de la teneur en d'ions magnésium limiterait la précipitation de la brucite ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ) et favoriserait le  $\text{CaCO}_3$ .

### 3.4.2. Réactivité des Rb et Ru

La réactivité des Rb et Ru dans l'eau de mer n'a été étudiée que sur 2 jours d'immersion compte tenu de l'évolution des valeurs de pH et de conductivité mesurés. Les mesures pH/conductivité accompagnées des dosages élémentaires sont pour chacun représentés dans la **Figure 3-15**.

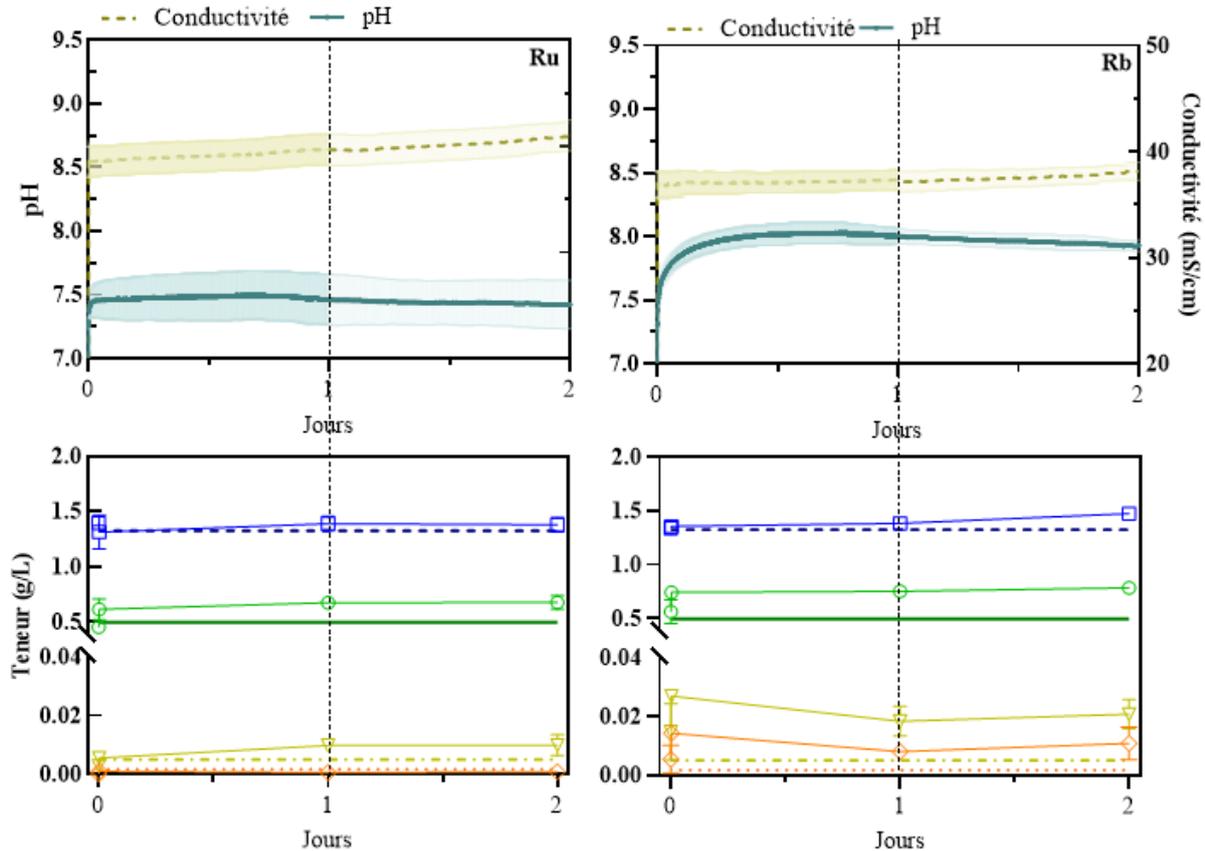
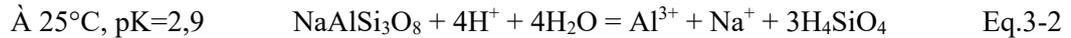


Figure 3-15: Réactivité des Ru (gauche) et Rb (droite) dans l'EDMN et suivi des teneurs élémentaires (g/L) en calcium (Ca), magnésium (Mg), aluminium (Al) et silicium (Si) en fonction du temps d'immersion. La conductivité est représentée en ligne discontinue jaune et le pH en ligne continue verte. Écarts-types en couleur claires. Chaque essai correspond à une moyenne de 3 expériences.

Les Ru sont chimiquement inertes dans l'eau de mer, comme l'indiquent les valeurs du pH et de la conductivité qui restent stables tout au long de l'expérience. Le contrôle des teneurs en Ca, Mg, Si et Al confirme également cette observation. L'absence de réactivité dans le cas des pierres calcaires peut s'expliquer par l'effet inhibiteur des ions  $Mg^{2+}$  qui par absorption au niveau de la surface du matériau limite leur dissolution (60, 61). Il est également suggéré que le milieu n'est pas suffisamment agressif (pH trop élevé) pour déclencher le phénomène de dissolution (62).

Pour les Rb, la réactivité dans l'EDMN est marquée par une légère augmentation du pH, allant de 7,5 à 8 quelques minutes après l'immersion des matériaux puis se stabilise. Les teneurs en Al et Si augmentent simultanément, correspondant à  $1.10^{-2}$  g/L et  $2,5.10^{-2}$  g/L, respectivement. Ces observations peuvent

correspondre à la dissolution de l'albite ( $\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$ ) qui conduit à la libération d'ions  $\text{Al}^{3+}$  et d'acide orthosilicique selon l'équation suivante (Eq.3-2) (15) :



Dans l'eau de mer, l'aluminium se présente sous sa forme aqueuse  $\text{Al}(\text{OH})_3$ . L'acide orthosilicique ou acide silicique représente la forme de silicium dissous généralement retrouvée dans l'eau de mer.

### 3.5. Discussion

#### 3.5.1. Dissolution/précipitation des phases hydratées

À partir des résultats obtenus et des données recueillies dans la littérature, plusieurs hypothèses sont émises sur les réactions de dissolution/précipitation se produisant lors de l'essai de lixiviation des Rc dans l'eau de mer naturelle.

Trois grandes étapes chronologiques sont identifiées, à savoir :

- Début immersion : 0 à 2-3h – Étape n°1 : Dissolution des hydrates et carbonatation en solution

Au contact de l'eau de mer, les phases hydratées (CH, C-S-H, AFm et AFt) sont immédiatement déstabilisées par le caractère acide du milieu et l'attaque ciblée des ions sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) présents en solution. Il en résulte ainsi une libération d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  en solution ainsi qu'une élévation rapide du pH. La diminution de la conductivité, synonyme de précipitation, est attribuée à la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ , conséquence du déplacement de l'équilibre calcocarbonique favorisant la production de  $\text{CO}_3^{2-}$ , autrement dit la carbonatation. À cet instant, les réactions de précipitation sont prédominantes par rapport aux réactions de dissolution.

La diminution rapide du Mg peut être attribuée à l'échange cationique entre le calcium et le magnésium donnant lieu à la formation des M-S-H. Nous n'avons cependant pas détecté les particules de M-S-H que ce soit sur le filtre ou le matériau probablement en raison de la taille des particules (de l'ordre du nanomètre (62,63) qui sont trop petites pour être retenues sur le filtre mais aussi de la quantité apparemment insuffisante pour être observés. Ils n'ont par ailleurs pas été observés sur les matériaux Rc. Bien que non observé, la présence des M-S-H est possible en raison de ces conditions de formation et de sa stabilité. En effet, Bernard *et al.* ont montré que la formation des M-S-H dans l'eau de mer est favorable pour des concentrations en  $\text{Mg}^{2+}$  allant de 0,7 à 1,44 g/L (23) ce qui coïncide avec celles rencontrées dans notre étude 0,8 à 1,3 g/L au cours des 4 premiers jours. Par ailleurs, les M-S-H sont particulièrement stables à des pH se situant entre 7,5 et 10 (22,24). En revanche, l'incorporation du magnésium dans la structure cristalline de la calcite offre une explication plus que plausible à la diminution du Mg d'autant que la calcite magnésienne a été détectée tout au long de l'expérience. Contrairement aux données relatives à la littérature, la précipitation du magnésium sous la forme de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  est limitée par les valeurs de pH observées en solution, trop basses pour envisager sa précipitation. Ce point conforte aussi l'hypothèse de l'insertion du magnésium dans les C-S-H et dans la structure cristalline de la calcite pour donner respectivement des M-S-H et de la calcite magnésienne.

Les phases hydratées AFm et AFt se dissolvent en libérant des ions  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Al}^{3+}$ . Malheureusement, le suivi des ions sulfates n'a pas été réalisé dans notre étude car le protocole dédié au suivi des sulfates diffère de celui utilisé pour les éléments Ca, Mg, Al et Si par ICP-AES, et notre quantité d'échantillons était insuffisante pour procéder à une autre campagne de mesure. Contrairement à ce qui est observé dans la littérature, la précipitation de l'ettringite n'est pas possible dans notre étude puisque ce composé est stable pour des pH allant de 10 à 13 et commence à précipiter à partir de  $\text{pH} > 12,5$  (7, 63,64). En revanche les mécanismes impliqués dans la dissolution des AFm sont sujet à questionnement en raison de la présence du gypse. Même si la précipitation du gypse est largement mentionnée en ce qui concerne la dissolution des CH et des AFm, certaines études utilisent des concentrations élevées en sulfates qui ne sont pas représentatives des conditions réelles. Gollop et Taylon ont montré que le gypse ne peut se former qu'en présence de solutions sulfatées très concentrées ( $> 24\text{g/L}$ ) (65,66) alors que la teneur en sulfates dans l'eau de mer est d'environ  $2,7\text{g/L}$  (67,68). Bellman *et al.* se sont interrogés sur les mécanismes d'action du gypse sur la Portlandite. Ils mettent en évidence que le gypse peut précipiter à une concentration en sulfate de  $3\text{g/L}$  mais à des valeurs de pH relativement élevées ( $\sim 12$ ) (69). Dans notre cas, les conditions de formation du gypse ne sont à cet instant réunies pour permettre sa précipitation et induire la dissolution des AFm. Seuls les ions sulfates sous forme dissoute peuvent intervenir pour déstabiliser les AFm.

- Immersion : 3h à 6-8 jours- Etape n°2 : Dissolution du  $\text{CO}_2$

Lors de la carbonatation, la quantité de  $\text{CO}_3^{2-}$  diminue au fur et à mesure que les produits carbonatés précipitent et n'assure plus le maintien de l'équilibre calcocarbonique. Pour contrebalancer cet équilibre le  $\text{CO}_2$  atmosphérique se dissout sous forme ionisée  $\text{HCO}_3^-$  conduisant à une diminution progressive du pH. Cette acidification contribue à la dissolution des hydrates et se traduit par une augmentation significative de la conductivité et un accroissement de la teneur en Ca et probablement en  $\text{SO}_4^{2-}$ . Les composés carbonatés sont stables dans ces conditions de pH.

- Fin d'immersion : 6-8 à 9 jours- Étape n°3 : Dissolution partielle des composés carbonatés et précipitation du gypse

Entre 6 et 8 jours, la concentration en Ca élémentaire atteint son maximum ( $3\text{g/L}$ ) à la suite de la dissolution continue des hydrates puis décroît. À l'inverse, le Mg augmente après 8 jours. Après 8 jours, les produits carbonatés tels que le  $\text{CaCO}_3$  et la  $\text{MgCaCO}_3$  commencent à être déstabilisés par l'acidité du milieu ( $\text{pH}=8$ ) mais aussi par l'augmentation de la teneur en sulfates du fait de la condensation de l'eau de mer. Barchiche *et al.* (70) ont montré que dans une solution enrichie en ions sulfate, le  $\text{CaCO}_3$  est presque totalement inhibé au sein d'un dépôt calcomagnésien. Le montage expérimental étant sous atmosphère ouverte, la quantité d'eau de mer dans le réacteur s'est vue diminuée de près de 20% en volume. Cette diminution induite par des phénomènes de condensation a temporairement augmenté la concentration en ions sulfates et conduit à la précipitation de gypse, comme observée sur l'analyse DRX (**Figure 3-16**) (71). La précipitation de gypse permettrait ainsi d'expliquer la diminution de la teneur en calcium à cet instant. Un dosage des ions sulfates permettrait de confirmer cette hypothèse.

### 3.5.2. Carbonatation dans l'eau de mer

Trois composés carbonatés ont été détectés en solution tout du long de l'expérience : la calcite, l'aragonite et la calcite magnésienne. Dans l'eau de mer, les travaux de Morse *et al.* (72) ont montré une corrélation étroite entre la précipitation des polymorphes du  $\text{CaCO}_3$ , la température et le ratio Mg/Ca.

À une température de 22°C, la forme polymorphique de  $\text{CaCO}_3$  prédominante dans les conditions normales d'eau de mer (Mg/Ca = 2,7) est l'aragonite. La lixiviation des hydrates et la précipitation des  $\text{Mg}^{2+}$  sous la forme de calcite magnésienne et potentiellement de M-S-H conduit manifestement à une inversion du rapport Mg/Ca dans l'eau de mer avec une prédominance pour le calcium.

La variation du rapport Mg/Ca au cours de l'essai de lixiviation des Rc est représentée sur la **Figure 3-17**.

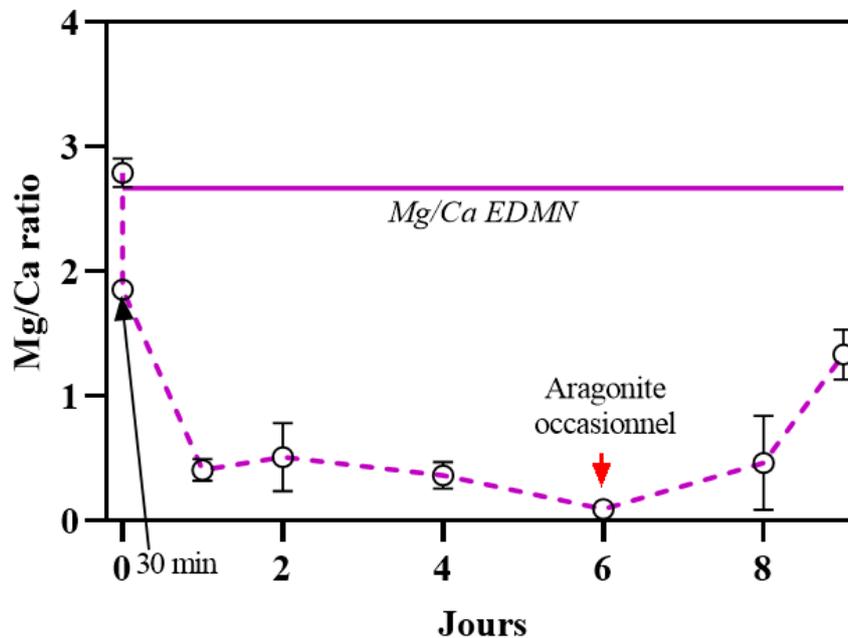


Figure 3-16: Variation du ratio Mg/Ca en fonction du temps d'immersion des Rc dans l'EDMN et nature des composés carbonatés détectés par DRX. Moyenne du ratio Mg/Ca de l'EDMN = 2,7.

Le ratio passe de 2,7 à 0,3 en 24h, reste relativement constant jusqu'à 4 jours puis atteint son minima à 6j avec une valeur de 0,09 avant de remonter à 1,2 sous l'effet de la précipitation du gypse et la déstabilisation des produits carbonatés. Pour un rapport Mg/Ca <1, la précipitation de la calcite et de la calcite magnésienne à faible teneur en Mg sont favorisées, expliquant ainsi la détection de cette dernière en solution. La présence d'aragonite au début de l'expérience (t = 30 min) peut s'expliquer par un rapport Mg/Ca favorable (>1), si l'on se réfère aux prédictions de Morse *et al.* (72). La présence d'aragonite à des rapports Mg/Ca faibles peut en partie s'expliquer par la présence d'ions sulfate. Plusieurs auteurs ont démontré que la présence d'ions sulfate pouvait favoriser la précipitation de l'aragonite (73–76). Bots *et al.* (74) ont montré que l'incorporation d'ions sulfate dans l'aragonite est 2 à 4 fois plus lente que dans la calcite, mais aussi que le  $\text{SO}_4^{2-}$  a peu d'effet sur la structure de l'aragonite. Dans notre étude, où l'on

suppose que les hydrates AFm et AFt libèrent des ions sulfate lors de leur dissolution, l'aragonite devient plus stable que la calcite, ce qui explique sa précipitation.

Nous n'avons pas systématiquement détecté l'aragonite à 6 jours. À cet instant, le ratio Mg/Ca est le plus bas ( $<0,09$ ) ce qui limite la précipitation de l'aragonite et favorise préférentiellement la forme calcite. La présence de l'aragonite est, à ce moment de l'immersion, dépendante de la température qui peut varier de 2°C entre chaque expérience

La proportion de Mg incorporée dans la calcite, donnée par la fiche ICDD de la calcite magnésienne, est  $x=0,06$  et reste stable tout au long de l'expérience. Plummer *et al.* (77) prédisent que la calcite contenant un taux d'insertion de Mg pour  $0,02 < x < 0,07$  est la plus thermodynamiquement stable dans l'eau de mer. Elle est en revanche instable par rapport à l'aragonite lorsque le taux d'insertion dépasse  $x=0,085$  (78).

Finalement, la réactivité des SR est contrôlée par la stabilité des phases hydratées présentes dans les Rc : CH, C-S-H, AFm et AFt. Leur dissolution, dans l'eau de mer favorise le phénomène de carbonatation, et pourrait être un moyen efficace de piéger le  $\text{CO}_2$ . La consommation de  $\text{CO}_3^{2-}$  dans le  $\text{CaCO}_3$  entraîne une acidification du milieu. La diminution de la concentration en magnésium est probablement due à l'incorporation de magnésium dans le réseau cristallin de la calcite et probablement à la formation de M-S-H. Entre 1 et 6-8 jours d'immersion, la lixiviation de Ca prédomine par rapport au processus de carbonatation, tandis que la concentration en Mg reste assez stable. À partir de 6 jours, la concentration en Mg augmente tandis que la concentration en Ca diminue. Cette augmentation de la concentration en Mg peut être attribuée à la dissolution partielle des phases carbonatées alors que la diminution de la concentration en Ca peut correspondre à la précipitation de gypse. Le suivi du niveau de sulfate aurait pu valider la diminution du calcium et évaluer l'impact de la lixiviation des hydrates sur la précipitation des composés carbonatés, en particulier sous forme d'aragonite. Le suivi de la concentration des ions sulfates est donc une perspective à envisager pour mieux comprendre les phénomènes chimiques se produisant dans l'eau de mer en contact avec des Rc.

### 3.6. Conclusion

Dans ce chapitre, la réactivité physico-chimique des granulats recyclés dans l'eau de mer, a été étudiée sous la fraction sableuse SR 0/5, au travers de mesures pH/conductimétrique et de dosages ioniques et selon les catégories de matériaux majoritaires du mélange à savoir, Rc, Rb et Ru. En complément, des caractérisations minéralogiques ont été menées par analyse DRX et ATG pour suivre l'évolution de la composition des matériaux et comprendre les réactions chimiques se produisant dans l'eau de mer.

L'ensemble des résultats montrés ici permettent de constater que :

- Les sables recyclés sont particulièrement réactifs dans l'eau de mer. Cette réactivité est principalement attribuée à la dissolution des phases hydratées contenues dans les Rc, qui par lixiviation, entraînent des variations notables de pH et de conductivité dans l'eau de mer. Les

terres cuites (Rb) se dissout en libérant des ions aluminiums et silicium tandis qu'aucune réactivité n'est observée pour les pierres naturelles (Ru).

- Pendant les premières heures d'immersion des Rc, la dissolution des hydrates (CH, C-S-H, AFm et AFt) conduit à une alcalinisation temporaire du milieu et un apport en  $\text{Ca}^{2+}$  6 fois supérieures à celui rencontré dans l'EDMN. L'alcalinisation induit un déplacement de l'équilibre calcocarbonique vers la forme ionisée  $\text{CO}_3^{2-}$  et contribue à la précipitation de composés carbonatés tels que la calcite, l'aragonite et la calcite magnésienne.
- L'alcalinisation temporaire de l'eau de mer et la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ , favorise la dissolution du  $\text{CO}_2$  atmosphérique sous la forme  $\text{HCO}_3^-$ .
- À l'inverse du Ca, la teneur en magnésium chute de moitié en s'incorporant au sein de la structure de la calcite pour former de la calcite magnésienne et peut être en formant des M-S-H par insertion dans la matrice des C-S-H.

Pour conclure, les matériaux Rc contenus dans les SR entraînent des changements significatifs de la composition de l'eau de mer. Le rapport Mg/Ca est inversé. Le calcium est largement prédominant au détriment du magnésium. En conséquence, la composition chimique du dépôt calcomagnésien peut être modifiée en limitant la précipitation de la brucite et favorisant le  $\text{CaCO}_3$  sous la forme calcite plutôt que de l'aragonite. Bien que la polarisation cathodique implique une augmentation locale du pH à la surface du métal et amène à la précipitation de la brucite et de l'aragonite, nous pouvons nous demander si, éloignée du métal, la lixiviation des SR peut influencer sa composition chimique et privilégier le  $\text{CaCO}_3$ . Dans tous les cas, la réactivité des GR dans l'eau de mer peut conduire à des modifications au niveau de la précipitation du dépôt calcomagnésien que ce soit d'un point de vue cinétique ou minéralogique. L'influence des GR sur la précipitation du dépôt calcomagnésien sous polarisation cathodique sera étudiée dans le chapitre suivant. En présence de bactéries marines, les modifications chimiques de l'eau de mer apportées par les granulats recyclés peuvent avoir un effet sur la croissance des bactéries et leur capacité de bio-précipité du  $\text{CaCO}_3$ . Cette partie sera abordée dans le **chapitre 5**.

### 3.7. Références

1. Bullard JW, Jennings HM, Livingston RA, Nonat A, Scherer GW, Schweitzer JS, *et al.* Mechanisms of cement hydration. *Cem Concr Res.* 2011;41(12):1208-23.
2. Marchon D, Flatt RJ. 8 - Mechanisms of cement hydration. In: Aïtcin PC, Flatt RJ, éditeurs. *Science and Technology of Concrete Admixtures*. Woodhead Publishing; 2016. p. 129-45. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081006931000084>
3. Philippe Souchu. Hydratation du ciment Portland. Setec Ierm. 2009;
4. Taylor HFW. *Cement chemistry* [Internet]. 2nd edition. Thomas Telford Publishing; 1997. Disponible sur: <https://www.icevirtuallibrary.com/doi/abs/10.1680/cc.25929>
5. Liu X, Feng P, Li W, Geng G, Huang J, Gao Y, *et al.* Effects of pH on the nano/micro structure of calcium silicate hydrate (C-S-H) under sulfate attack. *Cem Concr Res.* 2021;140:106306.
6. Bernard E, Lothenbach B, Cau-Dit-Coumes C, Chlique C, Dauzères A, Pochard I. Magnesium and calcium silicate hydrates, Part I: Investigation of the possible magnesium incorporation in calcium silicate hydrate (C-S-H) and of the calcium in magnesium silicate hydrate (M-S-H). *Appl Geochem.* 2018;89:229-42.
7. Mehta PK. Mechanism of sulfate attack on portland cement concrete — Another look. *Cem Concr Res.* 1983;13(3):401-6.
8. Marty N, Grangeon S, Catherine L, Warmont F, Rozenbaum O, Conte T, *et al.* Dissolution kinetics of hydrated calcium aluminates (AFm-Cl) as a function of pH and at room temperature. *Mineral Mag.* janv 2016;81.
9. Lower SK. Carbonate equilibria in natural waters. *Simon Fraser Univ.* 1999;544.
10. Fontela M, Velo A, Brown PJ, Pérez FF. Carbonate System Species and pH. In: Blasco J, Tovar-Sánchez A, éditeurs. *Marine Analytical Chemistry Cham: Springer International Publishing*; 2023. p. 1-37. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-14486-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-031-14486-8_1)
11. Nishikawa T, Suzuki K, Ito S, Sato K, Takebe T. Decomposition of synthesized ettringite by carbonation. *Cem Concr Res.* 1992;22(1):6-14.
12. Xiantuo C, Ruizhen Z, Xiaorong C. Kinetic study of ettringite carbonation reaction. *Cem Concr Res.* 1994;24(7):1383-9.
13. Thiery M, Villain G, Dangla P, Platret G. Investigation of the carbonation front shape on cementitious materials: Effects of the chemical kinetics. *Cem Concr Res.* 2007;37(7):1047-58.
14. Zhou Q, Glasser FP. Kinetics and mechanism of the carbonation of ettringite. *Adv Cem Res.* 2000;12(3):131-6.
15. Thèse de HOU Y. Contribution au développement de la valorisation des déchets inertes du BTP : Étude de la carbonatation des granulats recyclés compactés. 2021 [Laboratoire des Sciences de l'Ingénieur pour l'Environnement]: La Rochelle;
16. Feng P, Miao C, Bullard J. Factors Influencing the Stability of AFm and AFt in the Ca - Al - S - O - H System at 25 ° C. *J Am Ceram Soc.* oct 2015;99:n/a-n/a.
17. E.E. Hekal EK, H. Mostafa. Magnesium sulfate attack on hardened blended cement pastes under different circumstances. 2002;(32):1421-7.
18. Weerdt KD, Justnes H, Geiker MR. Changes in the phase assemblage of concrete exposed to sea water. *Cem Concr Compos.* 2014;47:53-63.
19. Islam MdS, Kaushik SK, Islam MdM. Physical and mechanical behavior of concrete in seawater under high hydrostatic pressure. *Physical and Mech.* 29 nov 2005;46.
20. Buenfeld NR, Newman JB. The development and stability of surface layers on concrete exposed to sea-water. *Cem Concr Res.* 1986;16(5):721-32.
21. Santhanam M, D.Cohen M, Olek J. Mechanism of sulfate attack : a fresh look Part 2. Proposed mechanisms. *Cement and concrete research.* Pergamon. 31 juill 2002;341-6.
22. Bernard E, Lothenbach B, Rentsch D, Pochard I, Dauzères A. Formation of magnesium silicate hydrates (M-S-H). *Phys Chem Earth Parts ABC.* 2017;99:142-57.
23. Bernard E, Lothenbach B, Goff F, Pochard I, Dauzères A. Effect of magnesium on calcium silicate hydrate (C-S-H). *Cem Concr Res.* juill 2017;97:61-72.
24. Zhang T, Cheeseman CR, Vandeperre LJ. Development of low pH cement systems forming magnesium silicate hydrate (M-S-H). *Cem Concr Res.* 2011;41:439-42.

25. Menendez E, Matschei T, Glasser FP. Sulfate attack of concrete. In: Performance of Cement-Based Materials in Aggressive Aqueous Environments. RILEM. 2013.
26. Harrisson AM. 4 - Constitution and Specification of Portland Cement. In: Hewlett PC, Liska M, éditeurs. *Lea's Chemistry of Cement and Concrete*. Fifth Edition. Butterworth-Heinemann; 2019. p. 87-155. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081007730000046>
27. Beaudoin J, Odler I. 5 - Hydration, Setting and Hardening of Portland Cement. In: Hewlett PC, Liska M, éditeurs. *Lea's Chemistry of Cement and Concrete*. Fifth Edition. Butterworth-Heinemann; 2019. p. 157-250. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081007730000058>
28. Baquerizo LG, Matschei T, Scrivener KL, Saeidpour M, Wadsö L. Hydration states of AFm cement phases. *Cem Concr Res*. 2015;73:143-57.
29. Frost BR, Barnes CG, Collins WJ, Arculus RJ, Ellis DJ, Frost CD. A Geochemical Classification for Granitic Rocks. *J Petrol*. nov 2001;42(11):2033-48.
30. Pietranik A, Waight TE. Processes and Sources during Late Variscan Dioritic-Tonalitic Magmatism: Insights from Plagioclase Chemistry (Gęsiniec Intrusion, NE Bohemian Massif, Poland). *J Petrol*. sept 2008;49(9):1619-45.
31. Deak T, Czigany T. Chemical composition and mechanical properties of Basalt and Glass Fibers : a comparison. *Textile Reserach Journal*. 2009;645-51.
32. Tiburu EK, Kankpeyeng BW, Nkumbaan SN, Salifu A, Zhuang JQ. Novel Nanocrystal Clay Materials with Potential Bone Cells Growth Enhancement or Inhibition Characteristics In Vitro. *J Biomim Biomater Biomed Eng*. févr 2017;30:45-60.
33. Perraki T, Kakali G, Kontoleon F. The effect of natural zeolites on the early hydration of Portland cement. *Microporous Mesoporous Mater*. 2003;61(1):205-12.
34. Okoronkwo MU, Mondal SK, Wang B, Ma H, Kumar A. Formation and stability of gismondine-type zeolite in cementitious systems. *J Am Ceram Soc*. 2021;104(3):1513-25.
35. Samen VELK, Kaze RC, Nemaleu JGD, Tchakoute HK, Meukam P, Kamseu E, *et al*. Engineering properties, phase evolution and microstructure of the iron-rich aluminosilicates-cement based composites: Cleaner production of energy efficient and sustainable materials. *Clean Mater*. 2021;1:100017.
36. KRISHNAN RS. Raman Spectrum of Quartz. *Nature*. 1 avr 1945;155(3937):452-452.
37. Legodi MA, Waal D de. Raman spectroscopic study of ancient South African domestic clay pottery. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2007;66(1):135-42.
38. Saikia B, Parthasarathy G, Borah R, Borthakur R. Raman and FTIR Spectroscopic Evaluation of Clay Minerals and Estimation of Metal Contaminations in Natural Deposition of Surface Sediments from Brahmaputra River. *Int J Geosci*. 2016;(7):873-83.
39. Kodera P, Murphy PJ, Rankin AH. Retrograde mineral reactions in saline fluid inclusions: The transformation ferropyrosmalite ↔ clinopyroxene. *Am Mineral*. janv 2003;88(1):151-8.
40. Faria DLA de, Lopes FN. Heated goethite and natural hematite: Can Raman spectroscopy be used to differentiate them? *Vib Spectrosc*. 2007;45(2):117-21.
41. Bizzozero J, Scrivener K. Hydration and microstructure of rapid-strength binders based on OPC accelerated by early ettringite formation. In 2014.
42. Ramachandran V, Paroli R, Beaudoin J, Delgado A. Handbook of Thermal Analysis of Construction Materials. *Thermochem Acta*. nov 2003;406.
43. Pièce R. Analyse thermique différentielle et thermogravimétrique simultanées du gypse et de ses produits de déshydratation. *e-periodica*. 1961;
44. Alarcon-Ruiz L, Platret G, Massieu E, Ehrlicher A. The use of thermal analysis in assessing the effect of temperature on a cement paste. *Cem Concr Res*. 2005;35(3):609-13.
45. Gallucci E, Zhang X, Scrivener KL. Effect of temperature on the microstructure of calcium silicate hydrate (CSH). *Cem Concr Res*. 2013;53:185-95.
46. Ajala O, Ajala MA, Ayinla I, Sonusi AD, Fanodun S. Nano-synthesis of solid acid catalysts from waste-iron-filling for biodiesel production using high free fatty acid waste cooking oil. *Sci Rep*. août 2020;10.
47. Rufus A, Sreeju N, Vilas V, Philip D. Biosynthesis of hematite ( $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanostructures: Size effects on applications in thermal conductivity, catalysis, and antibacterial activity. *J Mol Liq*. 2017;242:537-49.

48. Song L, Zhang S, Chen B, Ge J, Jia X. A hydrothermal method for preparation of  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanotubes and their catalytic performance for thermal decomposition of ammonium perchlorate. *Colloids Surf Physicochem Eng Asp.* 2010;360(1):1-5.
49. Villain G, Thiery M, Platret G. Measurement methods of carbonation profiles in concrete: Thermogravimetry, chemical analysis and gammadensimetry. *Cem Concr Res.* 2007;37(8):1182-92.
50. Figueirêdo J, Costa F, Fernandes J, M. Rodrigues A, Neves G, Menezes R, *et al.* Development of Scheelite Tailings-Based Ceramic Formulations with the Potential to Manufacture Porcelain Tiles, Semi-Stoneware and Stoneware. *Materials.* nov 2020;13:5122.
51. Johnson SE, Song WJ, Cook AC, Vel SS, Gerbi CC. The quartz  $\alpha \leftrightarrow \beta$  phase transition: Does it drive damage and reaction in continental crust? *Earth Planet Sci Lett.* 2021;553:116622.
52. Koch B, Cahay R. Thermogravimetric analysis of synthetic magnesian calcites: preliminary results. In: *Oceanologica Acta.* 1990.
53. M. Singh, , S. Vinodh Kumar, , Sujata A. Waghmare, , P.D. Sabale. Aragonite–vaterite–calcite: Polymorphs of CaCO<sub>3</sub> in 7th century CE lime plasters of Alampur group of temples, India. 2016;112:386-97.
54. Georgieva V, Vlaev L, Gyurova K. Non-Isothermal Degradation Kinetics of CaCO<sub>3</sub> from Different Origin. *J Chem.* janv 2013;2013.
55. Zdeněk \vSauman. Carbonization of porous concrete and its main binding components. *Cem Concr Res.* 1971;1:645-62.
56. Bernasconi A, Marinoni N, Pavese A, Francescon F, Young K. Feldspar and firing cycle effects on the evolution of sanitary-ware vitreous body. *Ceram Int.* 2014;40(5):6389-98.
57. Pardo F, Meseguer S, Jordán MM, Sanfeliu T, González I. Firing transformations of Chilean clays for the manufacture of ceramic tile bodies. *Appl Clay Sci.* 2011;51(1):147-50.
58. TEDMN+e S, Lockner DA, Wong TF. Effect of clay content and mineralogy on frictional sliding behavior of simulated gouges: Binary and ternary mixtures of quartz, illite, and montmorillonite. *J Geophys Res Solid Earth.* 2010;115(B3). <https://agupubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1029/2009JB006383>
59. Salati A, Share Isfahani H, Roshanzamir MA, Azhari A. Investigating the effect of hematite additive on the performance of clay barriers for radioactive waste disposals. *Bull Eng Geol Environ.* 14 sept 2022;81(10):415.
60. Barnes I, O'Neil J. Calcium-magnesium carbonate solid solutions from Holocene conglomerate cements and travertines in the Coast Range of California. *Geochim Cosmochim Acta.* juill 1971;35:699-718.
61. Pearson F, McDonnell A. Use of Crushed Limestone to Neutralize Acid Wastes. *ASCE J Env Eng Div.* févr 1975;101:139-58.
62. Wang J, Keener T, LI G, Khang SJ. The Dissolution Rate of Ca(OH)<sub>2</sub> in Aqueous Solutions. *Chem Eng Commun.* oct 1998;169:167-84.
63. Nurmesniemi ET, Hu T, Rajaniemi K, Lassi U. Sulphate removal from mine water by precipitation as ettringite by newly developed electrochemical aluminium dosing method. *Desalination Water Treat.* mars 2021;217:195-202.
64. Zahedi R, Mirmohammadi SJ. Sulfate removal from chemical industries' wastewater using ettringite precipitation process with recovery of Al(OH)<sub>3</sub>. *Appl Water Sci.* 15 août 2022;12(9):226.
65. Gollop R, Taylor HF. Microstructural and microanalytical studies of sulfate attack. IV. Reactions of a slag cement paste with sodium and magnesium sulfate solutions V. Comparison of different slag blends. *Cem Concr Res.* 1996;26:1747.
66. Gollop RS, Taylor HFW. Microstructural and microanalytical studies of sulfate attack. I. Ordinary portland cement paste. *Cem Concr Res.* 1992;22(6):1027-38.
67. Canfield DE, Farquhar J. Animal evolution, bioturbation, and the sulfate concentration of the oceans. *Proc Natl Acad Sci.* 2009;106(20):8123-7.
68. Anes B, Oliveira C, Bettencourt da Silva R, Camoes MF. Characterization of Seawaters by Ion Chromatography-Comparison of ionic patterns and balances. In: *Metrology for the Sea. Italy;* 2019.

69. Bellmann F., Moeser B, Stark J. Influence of sulfate solution concentration on the formation of gypsum in sulfate resistance test specimen. *Cem Concr Res.* 2006;36(2):358-63.
70. Thèse de Barchiche C. Caractérisation et cinétique de formation des dépôts calcomagnésiens sur acier en eau de mer artificielle. [France]: La Rochelle; 2004.
71. Copin-Montégut G. Chimie de l'eau de mer [Internet]. Gap: #3, Impr. Louis-Jean; 1996. 1 vol. (319 p.). (Synthèses). Disponible sur: <http://www.sudoc.fr/003885828>
72. Morse JW, Wang Q, Tsio MY. Influences of temperature and Mg:Ca ratio on CaCO<sub>3</sub> precipitates from seawater. *Geology.* janv 1997;25(1):85-7.
73. Cuesta Mayorga I, Astilleros JM, Fernández-Díaz L. Precipitation of CaCO<sub>3</sub> Polymorphs from Aqueous Solutions: The Role of pH and Sulphate Groups. *Minerals.* 2019;9(3). <https://www.mdpi.com/2075-163X/9/3/178>
74. Bots P, Benning LG, Rickaby REM, Shaw S. The role of SO<sub>4</sub> in the switch from calcite to aragonite seas. *Geology.* avr 2011;39(4):331-4.
75. Walter LM. Relative Efficiency of Carbonate Dissolution and Precipitation During Diagenesis: A Progress Report on the Role of Solution Chemistry. In: *Roles of Organic Matter in Sediment Diagenesis.* SEPM Society for Sedimentary Geology; 1985. <https://doi.org/10.2110/pec.86.38.0001>
76. Busenberg E, Plummer LN. Kinetic and thermodynamic factors controlling the distribution of SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> and Na<sup>+</sup> in calcites and selected aragonites. *Geochim Cosmochim Acta.* 1985;49(3):713-25.
77. Plummer LN, Mackenzie FT. Predicting mineral solubility from rate data; application to the dissolution of magnesian calcites. *Am J Sci.* 1974;274(1):61-83.
78. Berner RA. The role of magnesium in the crystal growth of calcite and aragonite from sea water. *\gca.* avr 1975;39(4):489,IN3,495-494,IN3,504.
79. Lothenbach B, Durdzinski P, De Weerd K. Thermogravimetric analysis. 2016;1:177-211.





## **Chapitre 4 : Précipitation du dépôt calcomagnésien à la formation de l'agglomérat en écoulement**



**4. PRECIPITATION DU DEPOT CALCOMAGNESIEN A LA FORMATION DE L'AGGLOMERAT EN ECOULEMENT 155**

<b>4.1. INTRODUCTION.....</b>	<b>155</b>
<b>4.2. CONDITIONS EXPERIMENTALES ET SELECTION DU SQUELETTE GRANULAIRE.....</b>	<b>156</b>
4.2.1. CONDITIONS EXPERIMENTALES : COURANT ET ECOULEMENT	158
4.2.2. SELECTION DU SQUELETTE GRANULAIRE : ANALYSE GRANULOMETRIQUE	158
<b>4.3. DEPOT CALCOMAGNESIEN EN ECOULEMENT .....</b>	<b>161</b>
4.3.1. PRECIPITATION DU DC	161
4.3.2. CARACTERISATION DU DEPOT CALCOMAGNESIEN	164
<b>4.4. FORMATION DE L'AGGLOMERAT CALCOMAGNESIEN .....</b>	<b>167</b>
4.4.1. COURBES CHRONOPOTENTIOMETRIQUES	167
4.4.2. OBSERVATIONS VISUELLES	169
4.4.3. CROISSANCE VOLUMIQUE ET COMPACTITE DES AGGLOMERATS	171
4.4.3.1. Influence de l'écoulement et squelette granulaire	172
4.4.3.2. Influence des granulats recyclés : comparaison avec des granulats naturels	175
4.4.3.3. Cycle de polarisation	176
4.4.4. PROPRIETES CHIMIQUES DU DEPOT CALCOMAGNESIEN DANS L'AGGLOMERAT	177
4.4.4.1. Coupes transversales/longitudinales des AG	178
4.4.4.2. Composition chimique	183
<b>4.5. CONCLUSION .....</b>	<b>190</b>
<b>4.6. REFERENCES.....</b>	<b>194</b>

## 4. Précipitation du dépôt calcomagnésien à la formation de l'agglomérat en écoulement

### 4.1. Introduction

Dans l'eau de mer, la polarisation cathodique conduit, par précipitation des ions magnésium et calcium, à la formation d'un Dépôt Calcomagnésien (DC) à la surface d'une grille métallique immergée dans l'environnement marin. Ce principe est largement mentionné dans la littérature (3–7). Lorsque la grille métallique est enfouie dans les sédiments marins, le DC joue le rôle de liant entre les grains avoisinant la cathode pour former un agglomérat calcomagnésien. Ce procédé, développé par l'entreprise SEACURE (anciennement Géocorail), représente une solution innovante et prometteuse dans la consolidation des aménagements littoraux déjà présents sans l'apport de matières premières telles que des blocs rocheux (1,8). Ce procédé s'applique essentiellement pour le renforcement des pieds des ouvrages longitudinaux immergés une grande partie du temps bien que soumis à la marée. Dans le cas particulier des falaises ou des talus des ouvrages, zones particulièrement sensibles à l'érosion, l'application de ce procédé est limitée par le positionnement de la grille dans des zones très peu recouvertes par l'eau de mer à l'exception des phénomènes extrêmes. Cela suppose le développement d'un système adapté à une géométrie verticale pouvant accueillir une grille et des granulats, dans le cas où très peu de sédiments sont présents, mais aussi de permettre une interaction continue entre l'eau de mer et le métal. Au cours de ma thèse, j'ai développé et mis en place au laboratoire ce nouveau système conçu pour permettre un écoulement d'eau de mer à la surface d'une grille verticalisée enterrée dans des granulats recyclés.

Outre le dispositif, la nature du squelette granulaire peut influencer la précipitation du DC. Contrairement aux sédiments marins, nous avons montré dans le chapitre précédent que les granulats recyclés réagissent dans l'eau de mer en libérant majoritairement des ions calcium et en favorisant la précipitation de produits carbonatés par dissolution des hydrates contenus dans les Rc. Cet apport en  $\text{Ca}^{2+}$  pourrait contribuer à la précipitation du  $\text{CaCO}_3$  plutôt que de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  au sein du DC. Nous avons aussi constaté que le rapport Mg/Ca de l'eau de mer s'inversait temporairement en présence de GR. Cette inversion pourrait modifier la forme cristalline du  $\text{CaCO}_3$  en favorisant la calcite plutôt que l'aragonite. Ces hypothèses doivent être confirmées par l'étude du DC formé en présence de GR.

La polarisation cathodique est responsable des réactions électrochimiques se produisant à la surface de l'acier. À cet effet, l'intensité du courant appliquée agit non seulement sur la cinétique de croissance du dépôt mais aussi sur l'évolution du rapport  $\text{CaCO}_3/\text{Mg}(\text{OH})_2$ . L'application d'un courant continu sur la surface d'une grille permet une précipitation continue du DC qui dans le cas d'une immersion permanente est majoritairement composé de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  lié à une forte augmentation du pH interne. L'utilisation d'un système d'écoulement pourrait apporter en continu des ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  et abaisser

le pH interne de l'agglomérat. Cela pourrait alors favoriser une dissolution partielle de la brucite au profit de la formation de  $\text{CaCO}_3$ . De plus, ce processus de dissolution/précipitation pourrait être renforcé à l'aide d'une polarisation cyclique. Ces 2 processus expérimentaux, à savoir la polarisation cyclique et le procédé électrochimique par écoulement, seraient en mesure d'améliorer grandement les propriétés mécaniques des agglomérats calcomagnésiens. Par ailleurs, l'application d'une polarisation cyclique plutôt que continue implique une diminution de la consommation énergétique ou alors la polarisation d'une surface 2 fois plus grande de grille métallique en répartissant la polarisation de manière cyclique sur différentes zones.

Ainsi, dans ce quatrième chapitre, plusieurs questions relatives à la précipitation du DC et sa capacité à agglomérer les GR sont posées : la formation de l'agglomérat calcomagnésien est-il possible avec un écoulement d'eau de mer ? Si oui, l'écoulement et les granulats recyclés influencent-ils la précipitation et la composition chimique du ciment calcomagnésien ? Obtient-on des agglomérats de même nature avec une polarisation cyclique plutôt que continue ?

Pour y répondre, trois grands axes ont été développés. Après une présentation des conditions expérimentales retenues (densités de courant/débit d'écoulement), nous nous intéressons dans un premier temps à la capacité d'un dépôt calcomagnésien à précipiter à la surface d'une grille verticale à l'aide d'un écoulement d'eau de mer. Dans un second temps, nous nous sommes focalisés sur la formation de l'agglomérat calcomagnésien en étudiant plusieurs paramètres à savoir : l'optimisation du squelette granulaire, la nature des granulats (naturels/recyclés), les dispositifs (écoulement/immersion) et les paramètres électrochimiques (densités de courant et continu/cyclique). Cette deuxième partie présente également des résultats sur la cinétique de formation des agglomérats (volume apparent) ainsi que sur leur porosité. Enfin, en dernière partie, la composition chimique du dépôt calcomagnésien collecté entre les grains de l'agglomérat a été analysée.

## 4.2. Conditions expérimentales et sélection du squelette granulaire

Pour rappel, les montages expérimentaux utilisés pour la formation de l'agglomérat calcomagnésien en immersion et en écoulement (écoulement d'eau de mer) sont constitués d'un dispositif électrochimique et d'un aquarium alimenté en continu d'eau de mer (**Figure 2-9**). En immersion, le panier (granulats + cathode) est immergé dans l'eau de mer alors qu'en écoulement, celui-ci est positionné à la surface de l'eau (**Figure 4-1**).

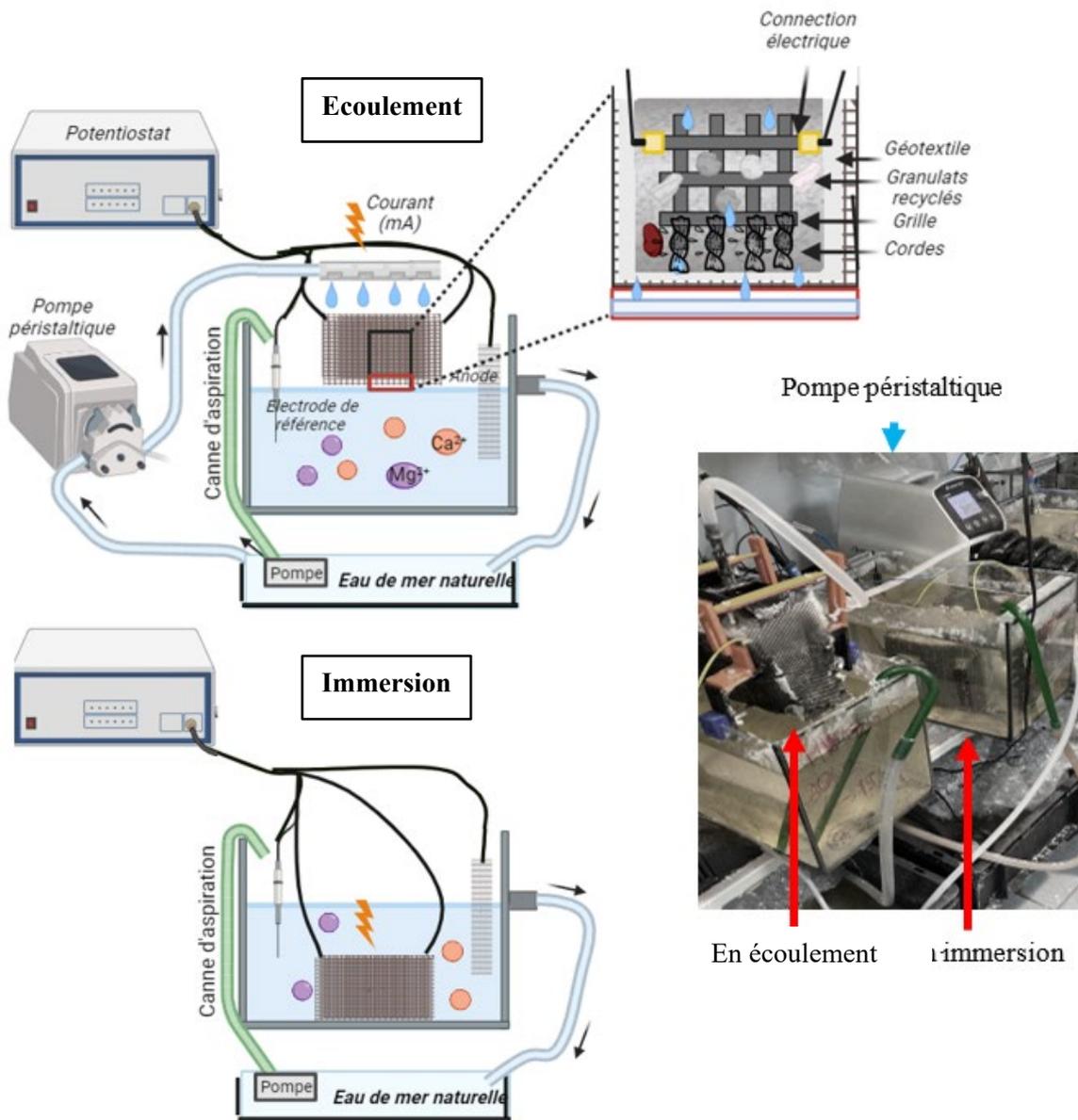


Figure 4- 1 : Rappel des montages expérimentaux pour la formation d'un agglomérat calcomagnésien en écoulement (écoulement) et immersion accompagnée d'une photo illustrant les deux montages et la disposition du panier dans les deux conditions.

Dans cette dernière situation, l'arrivée en eau de mer est assurée par une pompe péristaltique connecté à un bac réservoir (40L) jusqu'en haut du REEM (Réservoir d'Écoulement d'Eau de Mer), lequel permet, au moyen de plusieurs perforations, l'écoulement de l'eau au-dessus du panier (**Figure 2-12**).

#### 4.2.1. Conditions expérimentales : courant et écoulement

Une optimisation du débit d'écoulement de la pompe péristaltique a été réalisée. En dessous d'une consigne (fixée sur la pompe péristaltique) de débit de 80 mL/min, le débit est trop faible pour que l'eau s'écoule de façon homogène sur les quatre sorties du REEM. Au-dessus de 95 mL/min, le débit est cette fois-ci trop rapide pour que le DC ait le temps de précipiter en volume sur la grille (nue) pendant la durée de l'expérience (7 jours). Ainsi, la consigne de débit d'écoulement d'eau de mer a été réglée à 87 mL/min pour un débit réel entre 20 et 25 mL/min sur chacune des sorties du REEM.

Une polarisation cathodique à courant imposé est utilisée dans le cadre de la formation de l'agglomérat calcomagnésien. Pour sélectionner le(s) courant(s) d'étude, des suivis de croissance du DC à la surface d'une grille nue dont la base était en contact avec l'eau de mer, sont réalisés via le système d'écoulement (consigne de débit réglée à 87 mL/min) à différentes densités de courant (-24, -60, -120, -180 et -500  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ) pendant 7 jours. Nous avons observé qu'en dessous de -120  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , aucune précipitation de DC n'était visible pendant cette période. Cependant, à partir de -120  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , le DC commence à précipiter aux extrémités basses de la grille (zones en contact avec l'eau de mer). La présence du dépôt en bas de la grille correspond à un effet de pointe, lieu où les lignes de courant électrique s'échappent vers l'anode, et donc lieu de l'augmentation du pH interfacial liée à la réduction de l'oxygène et de l'eau. À la suite de ces observations, nous avons entrepris une nouvelle série d'expériences en maintenant uniquement les densités de courant de -120, -180 et -500  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  qui permettaient une précipitation rapide du DC. Dans cette série, nous avons éloigné la grille de la surface de l'eau et ajouté des petits bouts de ficelle entre l'extrémité basse de la grille et la surface de l'eau pour assurer la continuité ionique. Cette expérience a été menée sur une période de 15 jours afin d'évaluer la croissance du DC dans ces conditions. Les résultats ont montré qu'à une densité de courant de -120  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , la précipitation du DC n'a été clairement visible qu'à partir du 8<sup>ème</sup> jour, tandis qu'à -180  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et -500  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , la précipitation a débuté plus rapidement dès le 3<sup>ème</sup> jour. Par conséquent, nous avons décidé de retenir ces deux densités de courant continu, soit -180 et -500  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  pour la suite des expérimentations aussi bien en immersion permanente que par écoulement. Pour les besoins de certaines expériences, nous avons également appliqué une polarisation cyclique sur un intervalle 6h/6h faisant référence au cycle de marnage classiquement rencontré sur la façade atlantique, tout en conservant une densité de courant moyenne de -180 et -500  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  (application d'un courant de -360  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et -1000  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , respectivement).

En résumé, les paramètres retenus pour les expériences au laboratoire pour la formation de l'agglomérat sont une consigne de débit de l'eau de mer s'écoulant sur le système réglée à 87 mL/min et des courants imposés de -180 et -500  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ .

#### 4.2.2. Sélection du squelette granulaire : analyse granulométrique

La **Figure 4-2** présente la distribution granulométrique moyenne des GR (0/31,5) réalisée par tamisage et granulométrie laser sur trois essais de 10kg de GR ainsi que la courbe granulaire de référence obtenue

par la méthode Dreux-Gorisse (1970) (9). Cette courbe de référence, largement employée pour la formulation d'un béton, représente une distribution granulométrique idéale d'un matériau avec un minimum de vides. Elle permet ainsi de définir un squelette granulométrique optimisé pour une compacité optimale.

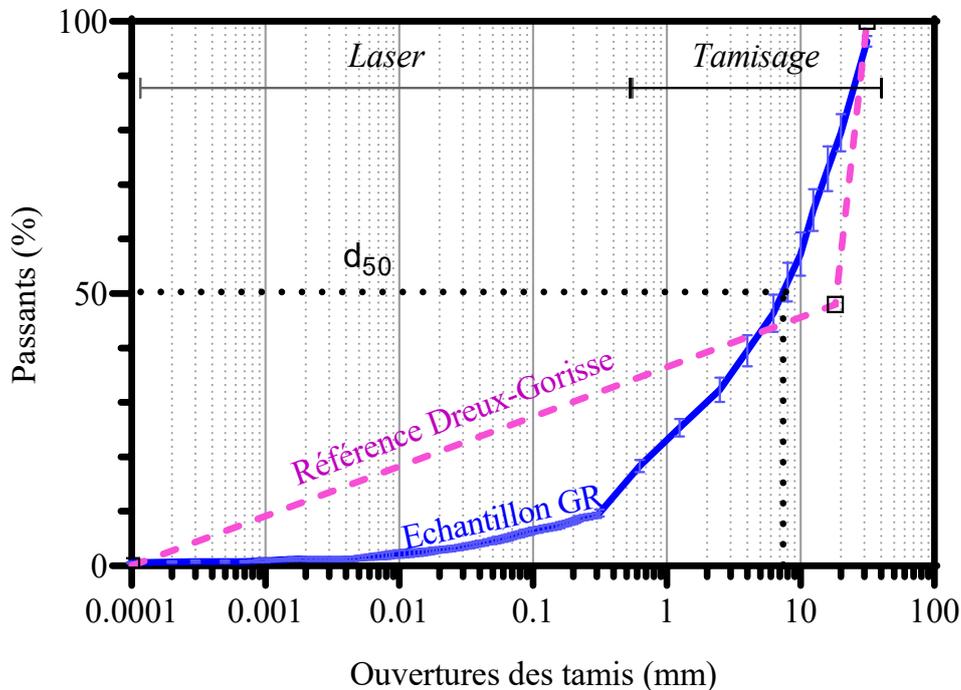


Figure 4- 2: Courbe granulométrique d'une prise d'essai de 30kg de GR (0/31,5) obtenue par tamisage et granulométrie laser et courbe granulométrique de référence proposée par Dreux-Gorisse.

À partir de la courbe granulométrique de l'échantillon de GR (0/31,5), on peut noter que le diamètre médian  $d_{50}$  est de 7 mm contre 18 mm pour la courbe de référence. La fraction sableuse (0/6,3) contenue dans les GR est jusqu'à 20% plus faible que celle dans une distribution granulométrique idéale.

Dans le cadre de notre étude qui vise à la formation d'un agglomérat, cet écart doit être ajusté et surtout minimisé par rapport à la courbe de référence pour réduire la proportion de vides et maximiser la compacité au sein du squelette granulométrique pour améliorer la cohésion initiale (les contacts) entre les grains. Pour cela, la distribution granulométrique des GR a été optimisée par la méthode de Dreux-Gorisse (8). Seule la fraction 0/20 de notre échantillon de GR a été retenue pour la structure granulométrique de l'agglomérat en référence à celle utilisée pour la formulation d'un béton classique. Après optimisation de la distribution granulométrique, les proportions de chaque fraction sont présentées dans le **Tableau 4-1**.

Tableau 4- 1 : Composition en % massique des fractions granulaires pour un squelette granulaire optimisé (SO) et non optimisé (SNO) des GR (0/20).

	Sables (0,08/6,3)	Gravillons (6/10)	Graves (10/20)
SNO	48%	10%	42%
SO	68%	9%	23%

Cette distribution granulaire optimisée, nommée « squelette granulaire optimisé (SO) », est utilisée dans la structure granulaire de l'agglomérat. En comparaison, nous avons utilisé un « squelette granulaire non optimisé (SNO) » qui correspond simplement à la distribution granulaire initiale des GR.

Les fines (fractions inférieures à 80 $\mu$ m) ont été retirées par tamisage au préalable car nous avons initialement supposé que cette fraction aurait pût limiter le passage du dépôt calcomagnésien entre les grains et qu'elle serait lessivée par l'écoulement de l'eau de mer passant au travers du géotextile.

Les masses volumiques réelles des différentes fractions granulaires et des squelettes granulaires sont représentées dans le **Tableau 4-2**. Pour chaque fraction, les mesures ont été réalisées sur une moyenne de 6 échantillons. La masse volumique des squelettes granulaires optimisé (SO) et non optimisé (SNO) est calculée à partir des pourcentages massiques des différentes fractions granulaires que constitue le squelette (**Tableau 4-1**).

Tableau 4- 2: Masses volumiques réelles des fractions granulaires des sables recyclés (SR) 0,08/6,3, GR 6/10 et GR 10/20 et des squelettes granulaires (SNO et SO), obtenues par calcul.

Grave	Masse volumique réelle (kg/m <sup>3</sup> )
SR 0,08/6,3	2,38 $\pm$ 0,03
GR 6/10	2,44 $\pm$ 0,01
GR 10/20	2,46 $\pm$ 0,02
SO	2,40 $\pm$ 0,03
SNO	2,42 $\pm$ 0,02

Nous observons peu de différences entre les masses volumiques réelles des GR 6/10 et GR 10/20. Ces valeurs sont proches de celles généralement mesurées pour les bétons. Une masse volumique légèrement plus faible peut néanmoins être observée pour la fraction SR 0,08/6,3. Cette différence peut s'expliquer par une quantité de matrice cimentaire plus importante. En effet, la masse volumique réelle des hydrates est en moyenne de 2 g/cm<sup>3</sup>. Du fait d'une plus grande proportion de fraction SR 0,08/6,3 dans le SO, sa masse volumique est donc plus faible que celle du SNO.

Pour des besoins de comparaison, un squelette granulaire optimisé à base de granulats naturels est utilisé. Après une analyse granulométrique du squelette, les proportions massiques (%) de chaque fraction sont de 4% pour les graviers, 45% pour les gravillons et 51% pour la fraction sableuse.

### 4.3. Dépôt calcomagnésien en écoulement

#### 4.3.1. Précipitation du DC

Nous avons dans un premier temps étudié la précipitation du DC en écoulement sur 28 jours selon deux densités de courant : -180 et -500  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ . Des observations visuelles ainsi que des analyses Raman, ATG et DRX ont été réalisées sur le dépôt formé pour en déterminer la composition chimique et la nature minéralogique.

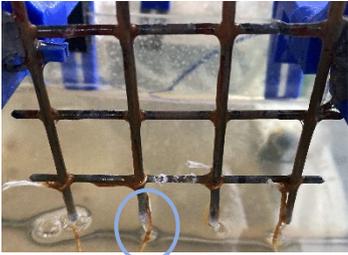
Pour chaque densité de courant, la précipitation du DC est observée dès 3 jours. Des photographies du DC sur la grille sont prises à 3, 15 et 28 jours de polarisation pour chaque densité de courant. Elles sont présentées sur le **Tableau 4-3**.

À partir des observations visuelles, on remarque la précipitation d'un dépôt blanchâtre plutôt gélatineux sous la forme de petites sphères exclusivement au niveau des extrémités basses de la grille. Cette texture gélatineuse est typique de la Brucite. La précipitation du DC dans cette zone ciblée est liée à l'effet de pointe qui se produit lorsqu'un courant électrique important se concentre ou se focalise sur une petite zone ou un point particulier.

Au bout d'une dizaine de jours, il est possible de constater que ces petites sphères de DC grossissent en s'accrochant aux cordes puis continuent de croître sur leur longueur. À 28 jours, pour chaque densité de courant, le DC précipite longitudinalement aux cordes et commence à apparaître sur l'ensemble de la grille. En effet, le DC formé en bas de grille bloque partiellement la surface active de la grille ce qui limite le passage du courant à cet endroit et amène les lignes de courant à se déplacer vers les parties plus hautes de la grille, permettant ainsi la réduction de l'eau et donc la précipitation du dépôt. Contrairement à la partie haute de la grille, la quantité d'eau absorbée par les cordes permettrait une augmentation significative du pH par libération des ions hydroxydes et la précipitation du DC. Malheureusement, nous n'avons pas été en mesure de procéder à des mesures de pH spécifiques à cet emplacement, puisque nous n'avons pas de micro-électrode de pH appropriée.

En fin d'expérience, des gros blocs de DC sont visibles. Certains morceaux se sont d'ailleurs détachés et sont tombés dans l'aquarium. À -500 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , la quantité de DC précipitée est plus importante qu'à -180 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  en fin d'expérience.

Tableau 4- 3: Observations visuelles des dépôts calcomagnésiens formés par écoulement sur une grille d'acier pendant 28 jours à  $i = -180 \mu A/cm^2$  et  $i = -500 \mu A/cm^2$ .

	$i = -180 \mu A/cm^2$	$i = -500 \mu A/cm^2$
3 jours		
15 jours		
28 jours		

Outre le DC, nous remarquons la formation de rouille de couleur orange-rougeâtre à certains endroits de la grille notamment sur les zones où l'eau s'écoule préférentiellement, c'est-à-dire le long des barreaux et en partie haute. La présence de rouille correspond à une corrosion résiduelle de l'acier, ce qui signifie que dans ces zones, la grille n'est pas suffisamment polarisée. Sous PC, la vitesse de corrosion de l'acier est certes limitée mais pas nulle. Le courant électrique circule à travers la grille en suivant le chemin de moindre résistance offert par l'eau de mer pour ressortir au plus proche de l'anode, c'est-à-dire dans la partie basse de la grille. Ainsi, la partie basse est suffisamment polarisée pour permettre la réduction de l'oxygène et de l'eau et donc la précipitation du DC alors qu'en partie haute de la grille, la corrosion se produit.

Par ailleurs, en s'écoulant, l'eau crée un film d'eau à la surface de la grille qui favorise la corrosion. Liu *et al.* (10) observent que pour un film d'eau de mer à la surface d'un acier au carbone inférieur à 500  $\mu m$ , le courant augmente au fur et à mesure que l'épaisseur du film décroît du fait de l'augmentation du

taux de diffusion de l'oxygène. Tsuru *et al.* (11) et Yamashita *et al.* (12) observent également une accélération de la vitesse de corrosion pour des épaisseurs de films inférieures à respectivement 1 mm et 100  $\mu\text{m}$ . Dans notre situation, nous pouvons supposer que l'épaisseur du film d'eau en haut de la grille est plus faible qu'en bas de la grille, ce qui en plus de la première hypothèse, contribuerait à la corrosion résiduelle de l'acier.

Pour mieux comprendre les phénomènes électrochimiques se produisant à la surface de l'électrode, il est possible de regarder la réponse en potentiel des grilles d'acier au cours du temps. La **Figure 4-3** présente la réponse en potentiel de grilles d'acier polarisées à  $-180$  et  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  en situation d'écoulement d'eau de mer naturelle.

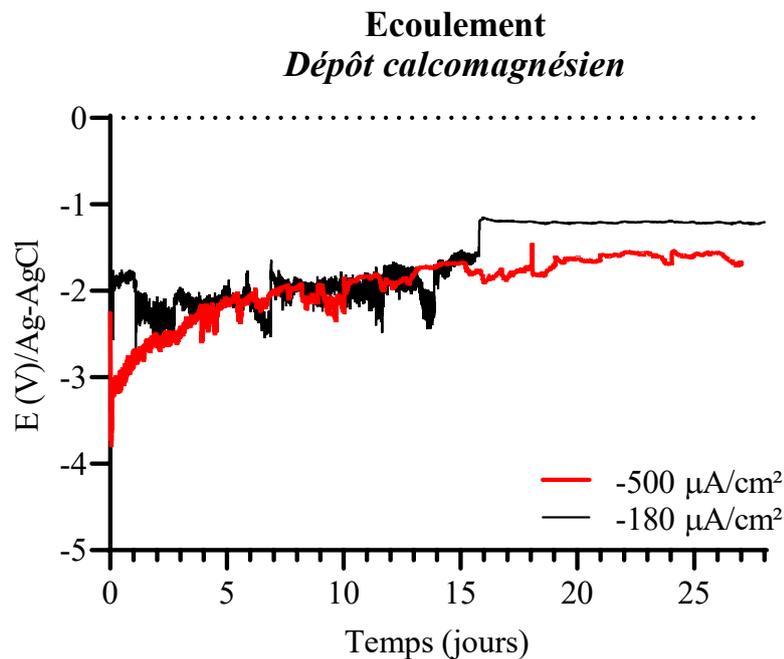


Figure 4- 3 : Courbes chronopotentiométriques de grilles d'acier émergées avec un écoulement d'eau de mer (consigne de débit = 87 mL/min) pendant 28 jours à  $-180 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  (courbe noire) et  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  (courbe rouge).

Nous pouvons dans un premier temps remarquer que des polarisations à  $-180$  et  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  permettent un abaissement instantané du potentiel de l'électrode vers des valeurs cathodiques élevées, respectivement autour de  $-2$  et  $-3$  V/Ag-AgCl-sat. De telles valeurs sont dues au fait que le courant électrique passe par les pointes de la grille au début et que la surface métallique sur laquelle se produit les réactions électrochimiques est très faible. On observe ensuite des fluctuations qui pourraient être liées au blocage partiel de la grille par la croissance du dépôt calcomagnésien. À ces potentiels, la réaction cathodique se produisant à la cathode est majoritairement celle de la réduction de l'eau, ce qui signifie que la libération excessive d'ions  $\text{OH}^-$  amène à une augmentation significative du pH à l'interface métal/eau de mer, favorisant la précipitation de la brucite. Plus la densité de courant, en valeur absolue, est forte et plus la valeur du potentiel est cathodique. Au cours du temps, le potentiel évolue

vers les valeurs les moins cathodiques ce qui indique que le DC bloque partiellement les pointes et que les réactions électrochimiques se produisent sur une plus grande surface d'acier. Ce phénomène est d'autant plus marqué pour la polarisation la plus forte ( $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ). Quoi qu'il en soit, le potentiel reste très cathodique ce qui prouve que seule la partie basse de la grille est polarisée. Cela explique la formation de rouille sur la partie haute de la grille, malgré la polarisation et l'écoulement d'eau de mer à sa surface.

### 4.3.2. Caractérisation du dépôt calcomagnésien

Des analyses par micro-spectroscopie Raman sont réalisées sur les dépôts à 3, 15 et 28 jours de polarisation. Les spectres Raman réalisés sur le dépôt calcomagnésien sont présentés sur la **Figure 4-4**.

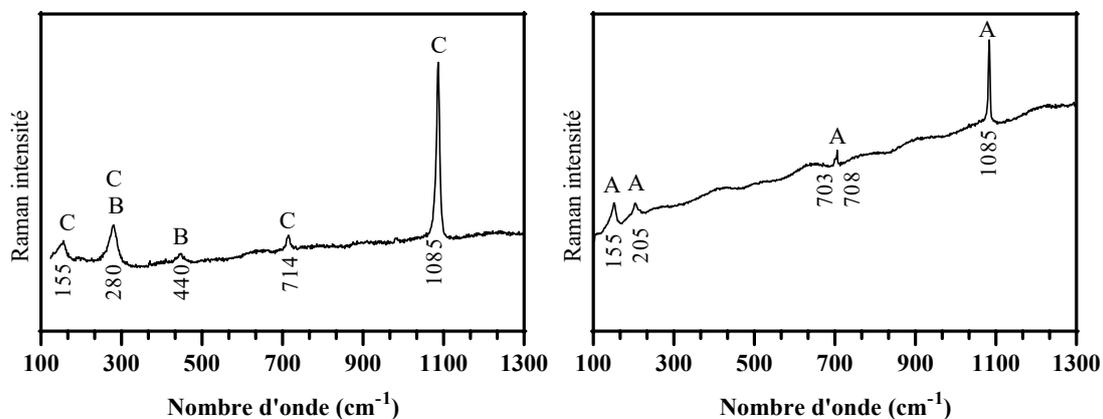


Figure 4- 4 : Exemple de spectres Raman d'un dépôt calcomagnésien obtenu sur la grille polarisée à  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  après 3 jours de polarisation : C = Calcite, A = Aragonite et B = Brucite,

À 3 jours de polarisation, pour chaque densité de courant, les analyses Raman révèlent la présence de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  avec les pics caractéristiques  $280\text{ cm}^{-1}$  et  $440\text{ cm}^{-1}$  (13,14) et de composés carbonatés, avec la bande de vibration caractéristique des ions carbonates à  $1085\text{ cm}^{-1}$  (15,16). Pour les deux densités de courant, nous constatons la présence d'aragonite caractérisée par ses modes de vibration à  $155, 205, 703, 708$  et  $1085\text{ cm}^{-1}$  (15–17). A  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , nous retrouvons également du  $\text{CaCO}_3$  sous la forme calcite caractérisée par ses bandes de vibration à  $155, 280, 714$  et  $1085\text{ cm}^{-1}$  (8,15,17,18). Compte tenu des potentiels (**Figure 4-3**), le pH interfacial est contrôlé par la réduction de l'eau, ce qui signifie que dans cette zone, le pH est suffisamment élevé pour favoriser la précipitation de la brucite. Le magnésium est généralement considéré comme un inhibiteur de croissance de la calcite (7,16,19). En précipitant, le magnésium est piégé dans la brucite ce qui permet, avec les ions calcium en solution, la formation de la calcite au lieu de l'aragonite. De ce fait, la calcite est souvent retrouvée en présence de brucite comme en témoigne la **Figure 4-4** ainsi que les analyses réalisées par Zanibellato (1) sur un dépôt calcomagnésien ( $i=-1\text{mA}/\text{cm}^2$ ) dans lequel environ 2% en masse de calcite ont été systématiquement retrouvés. En revanche, lorsque la brucite se dissout, le pH augmente et la libération du magnésium en

solution inhibe la croissance de la calcite et favorise l'aragonite. L'aragonite et la brucite sont retrouvées pour chaque densité de courant à 15 et 28 jours.

Les proportions de  $\text{CaCO}_3$  et de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  dans le DC ont été déterminées par analyses thermogravimétriques à 15 et 28 jours pour  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et seulement à 28 jours pour  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ .

Les résultats sont présentés sur la **Figure 4- 5**.

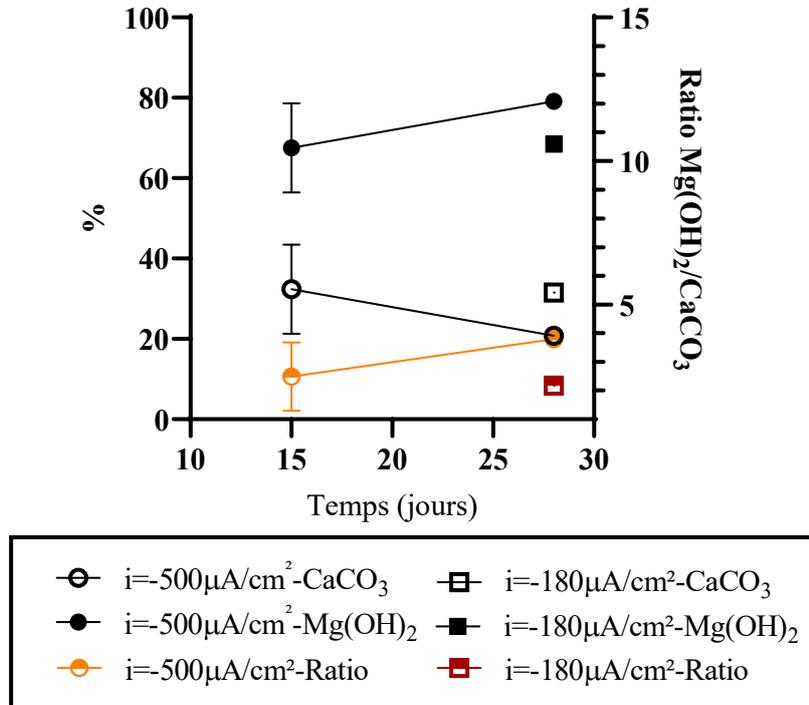


Figure 4- 5: Proportion moyenne (%) de  $\text{CaCO}_3$  et de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  dans le DC et ratio de  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  obtenus par mesures ATG sur 28 jours.

À  $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , nous remarquons que la proportion de brucite augmente au fur et à mesure du temps de polarisation et qu'à l'inverse, la quantité de  $\text{CaCO}_3$  diminue. Ces variations se traduisent par une élévation du ratio  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  passant de 2,5 à 3,8. Pour  $i = -180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , le DC se compose également d'une part plus importante de brucite que de carbonate de calcium mais avec une proportion en  $\text{CaCO}_3$  plus grande qu'à  $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  soit un ratio  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  de 2,17. La proportion de brucite, qui est toutefois plus importante à  $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , dépend principalement du pH interfacial et du courant imposé. À  $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , la production d' $\text{OH}^-$ , provenant majoritairement de la réduction de l'eau, est plus importante qu'à  $-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  ce qui signifie, qu'avec le renouvellement de l'eau de mer et donc l'apport continu en ions  $\text{Mg}^{2+}$  et  $\text{Ca}^{2+}$ , la quantité de brucite formée est plus importante. La formation du  $\text{CaCO}_3$  est liée aux mécanismes de dissolution/précipitation du dépôt. La brucite, qui se forme à proximité de l'électrode en raison de l'augmentation significative du pH, devient instable une fois qu'elle s'éloigne de cette zone alcaline, ce qui la rend sujette à une dissolution partielle (Eq.4-1) (1,20).



Cette dissolution partielle de la brucite entraîne localement une hausse du pH via la libération des ions  $\text{OH}^-$  et un déplacement de l'équilibre calcocarbonique vers la formation d'ions carbonate  $\text{CO}_3^{2-}$  qui vont ensuite réagir avec le  $\text{Ca}^{2+}$  pour former le  $\text{CaCO}_3$ . Cette dissolution de la brucite est d'autant plus rapide que la surface de contact avec l'eau de mer est importante (49). Dans notre cas, l'élévation importante du pH à  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  a pu constituer un frein dans le mécanisme de dissolution de la brucite, ce qui peut expliquer que la proportion de  $\text{CaCO}_3$  à 28 jours soit plus faible par rapport à  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ . Ce résultat se corrèle avec ceux de Carré (21) où, pour des densités de courant allant de  $-150$  à  $-400\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , l'auteur constate une augmentation de la proportion en brucite dans un DC formé sur un acier galvanisé polarisé 40 jours dans l'eau de mer naturelle, passant de 28 à 65% en masse et parallèlement, une décroissance en carbonate de calcium (aragonite + calcite) de 68 à 32% en masse. De même, Humble (22) observe que la teneur en Mg augmente avec la densité de courant imposée. Pour des densités allant de  $-50$  à  $-430 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , le ratio  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  dans le DC varie de 1:6 à 6:1 au plus fort courant. La quantité maximale de  $\text{CaCO}_3$  est observée à  $i=-50 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  alors qu'à  $i=-430\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , c'est l'hydroxyde de magnésium qui est prédominant.

Dans notre étude, pour  $i=-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , la plus importante proportion de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  à 28 jours se justifie donc par l'élévation de la concentration en  $\text{OH}^-$  (22,23). Le ratio  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  varie de 2:1 à pratiquement 4:1 au bout de 28 jours à  $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et pour  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , le ratio est à 2:1 à 28 jours. Outre la densité de courant appliquée, Gartland *et al.* (24) ont étudié l'effet de l'écoulement de l'eau de mer sur la formation du dépôt calcomagnésien. Ils expliquent qu'à débit fixe et densité de courant appliquée variable, et à l'inverse, débit variable et courant fixe, le gradient de concentration en  $\text{OH}^-$  est augmenté à la surface de l'acier, induisant une élévation du pH interfacial.

Ces premiers résultats sur la formation du DC par écoulement soulèvent plusieurs points. L'écoulement d'eau de mer permet la précipitation du DC, mais seulement aux extrémités basses de la grille par effet de pointe. À mesure que le DC se forme aux extrémités de la grille, celui-ci va progressivement bloquer le passage du courant et amène progressivement à la formation du DC de plus en plus haut sur la cathode. Quant à la composition chimique, les analyses Raman ont montré que le DC est principalement composé d'hydroxyde de magnésium et de  $\text{CaCO}_3$  sous la forme d'aragonite, avec une proportion de  $\text{CaCO}_3$  plus importante à  $-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  à 28 jours. La présence de granulats devrait permettre d'homogénéiser l'écoulement de l'eau de mer sur la grille, favorisant ainsi la formation d'une couche humide plus étendue et donc une couche plus épaisse où le pH peut augmenter et favoriser la précipitation du DC.

Par ailleurs, nous avons vu dans le chapitre précédent que la lixiviation des granulats recyclés, particulièrement des hydrates des matériaux cimentaires, entraîne la libération d'ions calcium et la précipitation de composés carbonatés induit par l'augmentation du pH. Ainsi, les granulats peuvent contribuer ou dans une moindre mesure, amorcer la précipitation du DC sur l'ensemble de la structure métallique et entre les grains.

#### 4.4. Formation de l'agglomérat calcomagnésien

La formation d'un agglomérat calcomagnésien (AG) repose principalement sur les propriétés physico-chimiques du dépôt et sa capacité à lier les grains entre eux. La cinétique et le taux de précipitation du DC constituent également des paramètres à prendre en compte pour permettre une formation rapide des concrétions. D'un point de vue applicatif, l'utilisation d'un système d'écoulement représente une nouveauté dans la formation d'un agglomérat calcomagnésien. Dans cette partie, la cinétique de formation de l'agglomérat est étudiée en fonction de plusieurs facteurs tels que la densité de courant imposé et le temps de polarisation, la distribution et la nature du squelette granulaire mais aussi et surtout l'écoulement d'eau mer. Ce dernier point est évalué par comparaison avec un agglomérat formé en totale immersion dans l'eau de mer.

##### 4.4.1. Courbes chronopotentiométriques

Les courbes chronopotentiométriques d'une grille polarisée à  $-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et  $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  en écoulement et en immersion, enfouie avec des granulats, sont présentées sur la **Figure 4-6**.

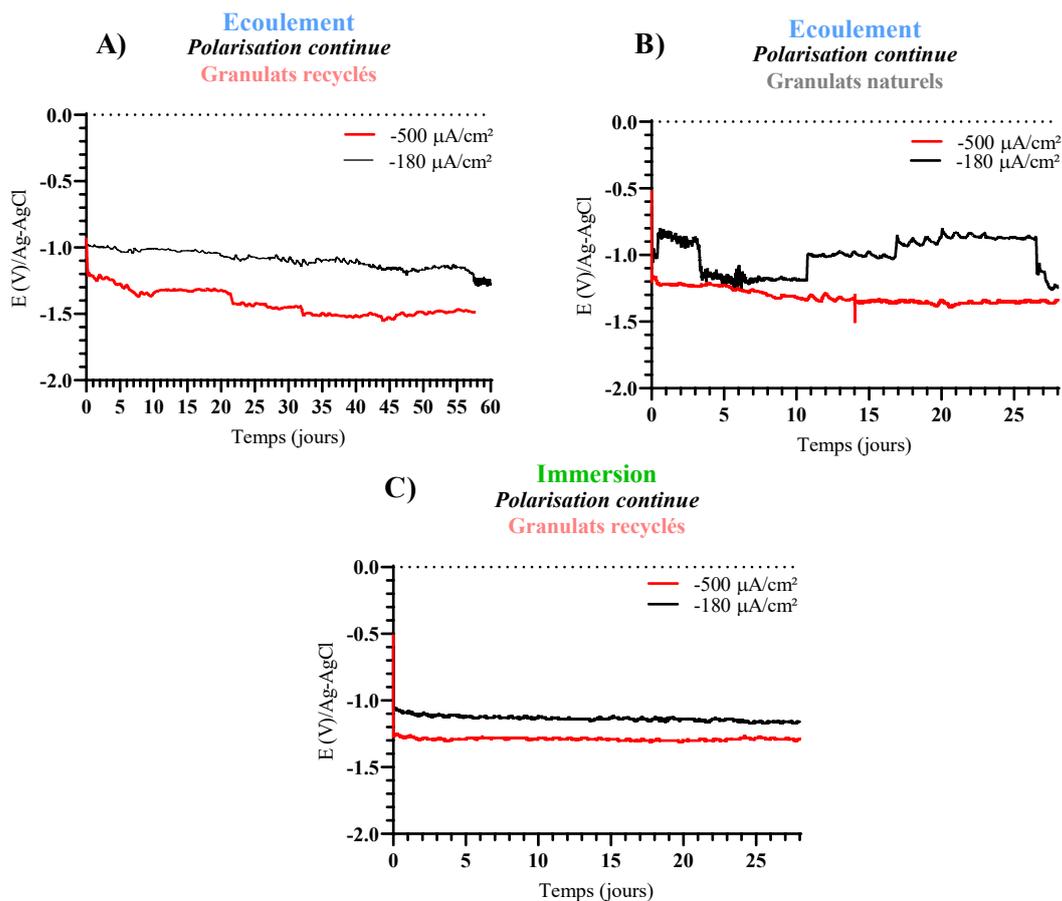


Figure 4- 6 : Courbes chronopotentiométriques de grilles d'acier enfouies dans des granulats et polarisées à  $-180$  et  $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  dans les conditions suivantes : en écoulement A) granulats recyclés, polarisation continue pendant 60 jours, B) granulats naturels, polarisation continue pendant 28 jours ; en immersion C) granulats recyclés, polarisation continue pendant 28 jours.

En présence de granulats, il semble que les réactions électrochimiques se produisent sur toute la grille. En effet, le potentiel cathodique pris par la grille est cette fois-ci beaucoup plus élevé (moins cathodique) qu'en l'absence de granulat car il est compris entre  $-1\text{V}/\text{Ag-AgCl-sat}$  et  $-1,2\text{V}/\text{Ag-AgCl-sat}$  pour  $-180\text{mA}/\text{cm}^2$  et  $-500\text{mA}/\text{cm}^2$  respectivement au début de la polarisation. On rappelle qu'il était entre  $-2\text{V}/\text{Ag-AgCl-sat}$  et  $-3\text{V}/\text{Ag-AgCl-sat}$  pour la grille nue en écoulement. On peut donc dire que l'effet de pointe est beaucoup moins important dans ces conditions et que la matrice granulaire arrosée en permanence tend à maintenir une humidité relativement homogène sur toute la hauteur de la grille. Toute la grille est alors polarisée et participe à la formation du dépôt calcomagnésien.

Avec le temps, le potentiel décroît très légèrement quelle que soit la polarisation, indiquant un blocage très partiel de la grille par le dépôt calcomagnésien. En présence de granulats naturels, ce blocage est plus marqué comme nous pouvons l'observer sur la Figure 4- 6.B, où une chute du potentiel passant de  $-0,9$  à  $-1,2\text{V}/\text{Ag-AgCl-sat}$  est observée à 4 jours d'écoulement pour  $i = -180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ . Au bout de 5 jours, le potentiel remonte en réponse d'une surface active de l'électrode disponible pour le passage du courant. En effet, Zanibelatto (1) et Colin *et al.* (25) observent des décroissances beaucoup plus importantes en potentiel pour un acier carbone polarisé par courant imposé avec le temps, décroissances attribuées au dépôt calcomagnésien qui vient bloquer des zones de la cathode.

Après 60 jours de polarisation, le potentiel pris par les grilles atteint  $-1,2\text{V}/\text{Ag-AgCl-sat}$  pour  $i = -180\text{mA}/\text{cm}^2$  et  $-1,45\text{V}/\text{Ag-AgCl-sat}$  pour  $i = -500\text{mA}/\text{cm}^2$ . Cela indique un blocage partiel des réactions électrochimiques par le dépôt et les granulats. Cela pourrait indiquer que le dépôt calcomagnésien se forme non pas sur la grille mais au sein de la matrice granulaire, laissant pratiquement toute la grille active. En effet, le même comportement est observé pour une grille placée dans des granulats en immersion permanente. Dans ce cas, l'eau de mer est présente sur toute la surface de la grille et toute la grille participe au passage du courant. Les mêmes valeurs de potentiel observées dans le cas de l'écoulement confirment que toute la grille participe dans ce dernier cas. De plus, en immersion, le potentiel décroît très peu, quelle que soit la densité de courant, indiquant l'absence de blocage par le dépôt calcomagnésien. Ce résultat correspond aux travaux de Zanibelatto (7) qui observe l'absence de dépôt calcomagnésien autour d'une grille immergée dans du sable pour les plus fortes densités de courant.

#### 4.4.2. Observations visuelles

Les agglomérats calcomagnésiens sont formés avec un squelette granulaire à base de granulats recyclés ou naturels en écoulement (écoulement) sous polarisation continue, en écoulement sous polarisation cyclique, et en immersion sous polarisation continue avec un squelette optimisé à base de granulats recyclés uniquement. La condition « en immersion » signifie que le panier (contenant les granulats recyclés et la grille) est directement immergé dans l'eau de mer. La **Figure 4-7** donne un aperçu de l'évolution du volume d'agglomérats formés en fonction du temps pour chaque condition et densité de courant.

ÉCOULEMENT		Granulats recyclés		
		15 jours	28 jours	60 jours
		$i = -500$ $\mu\text{A}/\text{cm}^2$		
$i = -180$ $\mu\text{A}/\text{cm}^2$				
		Granulats Naturels		
		15 jours	20 jours	28 jours
		$i = -500$ $\mu\text{A}/\text{cm}^2$		
$i = -180$ $\mu\text{A}/\text{cm}^2$				

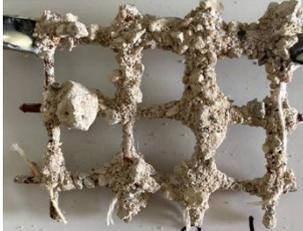
		Polarisation cyclique		
		15 jours	28 jours	60 jours
	$i_{\text{moyen}} = -500$ $\mu\text{A}/\text{cm}^2$			<b>Non réalisé</b>
	$i_{\text{moyen}} = -180$ $\mu\text{A}/\text{cm}^2$			<b>Non réalisé</b>
		Granulats recyclés		
		15 jours	28 jours	60 jours
IMMERSION	$i = -500$ $\mu\text{A}/\text{cm}^2$			<b>Non réalisé</b>
	$i = -180$ $\mu\text{A}/\text{cm}^2$			<b>Non réalisé</b>

Figure 4- 7 : Illustrations des agglomérats calcomagnésiens formés (squelette granulaire optimisé) dans chaque condition, à savoir : en écoulement avec un squelette granulaire à base de granulats recyclés ou naturels sous polarisation continue, en écoulement en polarisation cyclique, ainsi qu'en immersion en polarisation continue. Les dimensions des agglomérats sont de l'ordre de 12 cm de hauteur et 12 cm de largeur et, selon les agglomérats, l'épaisseur peut varier de 2 à 7 cm.

En seulement 15 jours de polarisation, et pour chaque densité de courant, la précipitation du DC en écoulement a conduit à la formation d'une concrétion calcomagnésienne sur les barreaux de la grille en cimentant les granulats recyclés. En écoulement, il semble que l'agrégation commence initialement au niveau de la partie inférieure de la grille, puis progresse sur l'ensemble de la structure avec les temps de polarisation. Cette amorce dans la partie basse de la grille a d'ailleurs été constatée dans le cas de la précipitation du DC sur la grille seule (voir (Chapitre 4)-4.3). À partir de 28 jours, quasiment toute la surface de la grille est recouverte de concrétion ce qui signifie que le DC arrive également à précipiter

sur la partie haute. Il semblerait ainsi que la présence de granulats, recyclés ou non, favorise la précipitation du DC sur la grille, probablement en modifiant l'écoulement de l'eau et laissant le temps au dépôt de se former. Bien que la grille soit recouverte de concrétion, on peut cependant noter l'absence de concrétion au centre des mailles de la grille. La formation de l'agglomérat se présente sous forme d'une poire avec une partie basse plus volumineuse que la partie haute. En fin de polarisation c'est-à-dire à 60 jours, l'agglomérat croit en comblant le centre des mailles.

En se référant à la **Figure 4-7**, on observe qu'à  $i = -500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , pour une même échéance, les AG formés en immersion sont plus volumineux que ceux obtenus en écoulement. En écoulement, les AG formés avec des granulats naturels paraissent plus volumineux à 15 et 28 jours de polarisation par rapport à ceux obtenus avec des granulats recyclés.

Pour chaque condition, le volume d'agglomérat paraît sensiblement plus important à  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , probablement en raison des cinétiques de réduction de l'eau et de l'oxygène. Néanmoins, un plus gros volume ne signifie pas que l'agglomérat est plus résistant. La robustesse de l'agglomérat est fonction de la porosité, des propriétés chimiques du DC et de sa capacité à lier les granulats.

Ces observations visuelles, bien qu'informatives, ne sont pas suffisantes pour évaluer de manière exhaustive l'influence de toutes les variables (nature du squelette, écoulement/immersion, ...) sur la formation de l'agglomérat. Ainsi, pour obtenir une compréhension approfondie des facteurs influençant la formation de l'agglomérat et la précipitation du DC, nous avons réalisé un suivi cinétique des volumes apparents des AG en fonction du temps de polarisation. Nous avons également réalisé des mesures de porosité des AG et caractérisé la composition chimique du DC, pour obtenir des informations sur les propriétés du liant en écoulement et sur la durabilité de l'ensemble du matériau.

#### **4.4.3. Croissance volumique et compacité des agglomérats**

La cinétique de croissance des agglomérats est obtenue par détermination de leur volume apparent ( $V_{\text{app}}$ ) à plusieurs échéances de temps allant de 15 à 28 ou 60 jours pour certains cas. Ce volume apparent est déterminé par scanner 3D. Il correspond au volume d'agglomérat formé sans prendre en compte celui de la grille. Pour des raisons de reproductibilité des résultats, deux agglomérats sont systématiquement formés pour les mêmes conditions expérimentales et mêmes échéances. A titre d'illustration, la **Figure 4-8** donne un exemple d'un scan 3D et d'une photo réalisée sur agglomérat calcomagnésien.

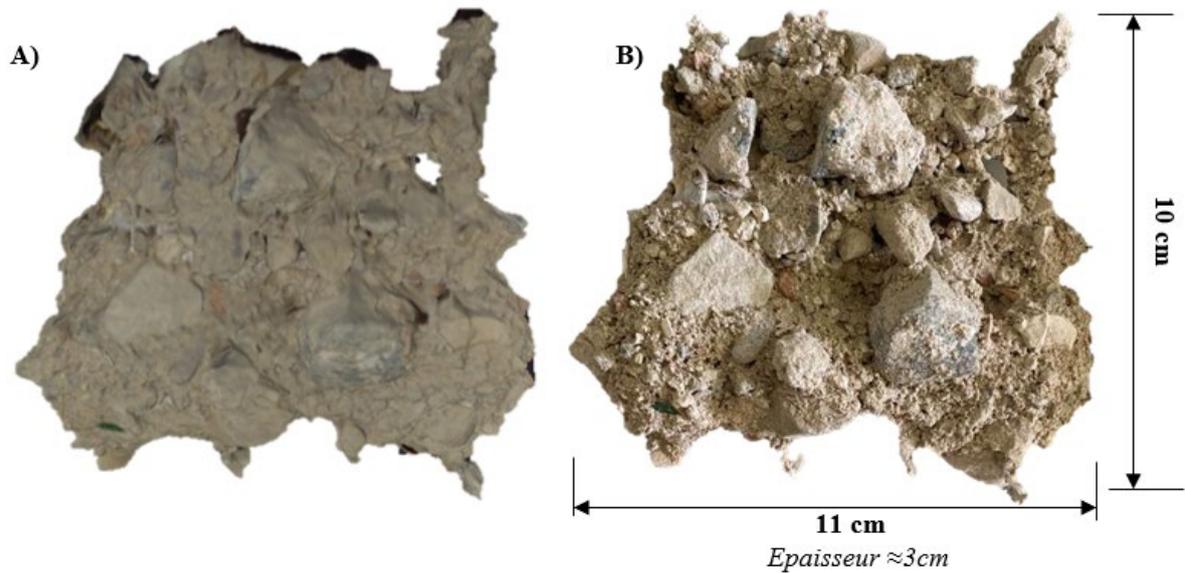


Figure 4- 8 : A) Scan 3D (Einscan) et B) Photo d'un AG formé en écoulement pendant 28 jours, à polarisation cyclique pour  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  (densité de courant moyenne,  $i_{\text{appliquée}}=-1000\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ).

#### 2.6.3.6. 4.4.3.1. Influence de l'écoulement et squelette granulaire

La croissance de l'agglomérat est suivie sur 60 jours en écoulement et jusqu'à 28 jours en immersion. Pour chaque condition, les deux squelettes granulaires optimisé (SO) et non optimisé (SNO) ont été étudiés. Pour rappel, le squelette granulaire optimisé (SO) représente une distribution des grains de manière à optimiser la compacité initiale alors que le squelette non optimisé (SNO) peut conduire à la présence de plus de vides entre les grains. Le volume apparent de croissance des agglomérats calcomagnésiens formés en écoulement et en immersion, pour des densités de courant à  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  est présentée sur la **Figure 4-9**.

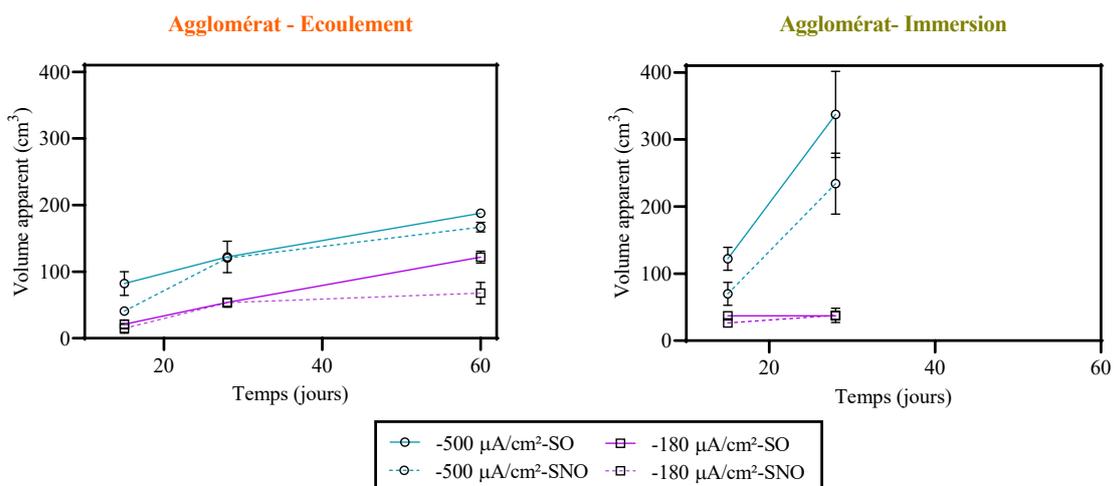


Figure 4- 9: Évolution du volume apparent des agglomérats calcomagnésiens ( $\text{cm}^3$ ) formés en écoulement jusqu'à 60 jours et en immersion jusqu'à 28 jours, avec un squelette granulaire optimisé (SO) qui est représenté en ligne continue et non optimisé (SNO) en ligne discontinue, pour  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ .

En écoulement, le volume apparent des AG (SO et SNO) croît jusqu'à 60 jours. Le volume est multiplié par 6 en pratiquement 1 mois et demi pour  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  passant d'environ  $15\text{ cm}^3$  à  $120\text{ cm}^3$  et double pour  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  allant de  $80\text{ cm}^3$  à quasiment  $190\text{ cm}^3$ . Les volumes apparents des AG sont cependant plus importants au plus fort courant en raison des cinétiques de réduction de l'eau et de l'oxygène à la surface de l'acier.

L'optimisation du squelette granulaire semble contribuer à améliorer la formation de l'AG, notamment au plus haut courant. En écoulement ou en immersion, le volume apparent des AG est légèrement plus élevé avec un SO. Cet écart est particulièrement observable en immersion où le volume de l'AG est pratiquement 1,5 fois plus petit avec un SNO avec une cinétique de  $11\text{ cm}^3/\text{jour}$ . Le SO contient moins de vide que le SNO ce qui permet une meilleure cohésion entre les grains. Nous remarquons cependant que l'optimisation du squelette ne semble pas affecter la formation de l'AG pour  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  sur 28 jours. En revanche à 60 jours, il est possible de constater que le volume stagne avec un SNO en écoulement, avec une cinétique de  $0,5\text{ cm}^3/\text{jour}$ . Ce ralentissement de la croissance de l'AG peut être attribué à un plus grand volume de vide à combler par le dépôt à mesure qu'il précipite (le volume de vide à combler augmente en s'éloignant de la grille).

En immersion, la cinétique de formation des agglomérats est quasiment quatre fois plus rapide au plus fort courant, atteignant  $330\text{ cm}^3$  en 28 jours contre  $120\text{ cm}^3$  en écoulement. À l'inverse, à  $-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , le volume atteint  $37\text{ cm}^3$  au bout de 15 jours et n'évolue pas. Il semblerait ainsi que la cinétique de formation de l'AG pour  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  soit favorisée en immersion mais que le phénomène s'inverse pour  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ .

En résumé, l'écoulement d'eau de mer permet la formation d'un agglomérat calcomagnésien en seulement 15 jours. Le volume apparent de l'AG augmente jusqu'à 60 jours pour finalement former des concrétions d'environ  $190\text{ cm}^3$  et  $120\text{ cm}^3$  à respectivement  $-500$  et  $-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ . À 28 jours, les AG formés en immersion possèdent des volumes apparents deux voire trois fois plus importants que ceux formés en écoulement. L'optimisation du squelette granulaire semble favoriser la croissance en volume de l'AG à partir de 15 jours à  $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et 28 jours à  $-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ . Après 28 jours, la croissance en volume est ralentie avec un SNO en écoulement.

Néanmoins, la détermination de ces volumes apparents donne seulement un aperçu de la croissance des AG. Cette donnée ne prend pas en compte la présence de vides entre les grains ce qui constitue une limite quant à l'interprétation des résultats précédents, en particulier sur la robustesse des AG. En effet, un AG avec un volume apparent élevé peut également être caractérisé par une porosité importante, une trop grande quantité de gel de brucite ou encore de faibles liaisons chimiques, ce qui limiterait la cohésion entre les grains via le DC et donc affaiblirait la résistance du matériau. À partir de mesures de porosité ( $\phi$ ) (déterminée par porosité accessible à l'eau, cf. **Chapitre 2**) réalisées sur les AG, nous avons calculé la compacité ( $c=1-\phi$ ) des matériaux. Les porosités initiales ( $\phi_i$ ) de ces squelettes granulaires sont respectivement de 35% pour le SO et 41% pour le SNO, soit un écart de 6%. En termes de compacité

( $c_i = 1 - \phi_i$ ) (%), elles sont de 65% pour le SO et 59% pour le SNO. Pour étudier le volume de vide dans les AG, nous parlerons de compacité ( $c$ ). Les compacités des AG formés avec un SO et SNO, en écoulement et immersion sont présentées sur la **Figure 4-10**.

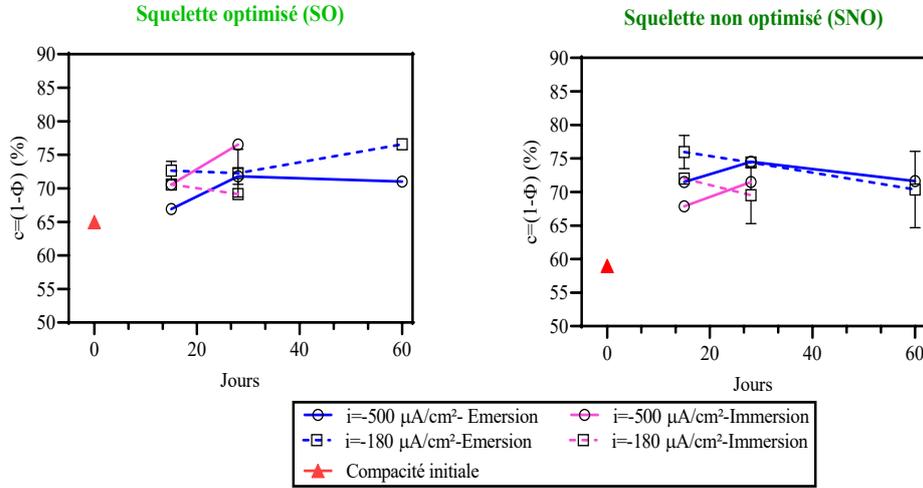


Figure 4- 10: Compacité des agglomérats calcomagnésiens formés en écoulement et en immersion avec un SO (figure de gauche) et un SNO (figure de droite) en fonction du temps. La compacité initiale de chaque squelette dans le panier est indiquée par un triangle rouge.

Quel que soit le squelette granulaire utilisé, l'application d'une polarisation cathodique entraîne une augmentation de la compacité sur les 15 premiers jours en raison du DC qui vient combler les vides intergranulaires pour cimenter les particules. Cette amélioration de la compacité semble plus significative dans le cas du SNO ( $i = -500 \mu A/cm^2$ ), où elle augmente de 14% par rapport à la porosité initiale (59 à 73%), contre seulement 2% avec le SO (65 à 67%). Notons également que la compacité est globalement plus élevée à 15 jours pour  $i = -180 \mu A/cm^2$  qu'à  $i = -500 \mu A/cm^2$  pour les deux squelettes. Au-delà des 15 jours, les compacités des AG formés en écoulement et en immersion sont relativement stables et fluctuent aux alentours de 72% pour les deux squelettes et les deux densités, excepté pour  $i = -180 \mu A/cm^2$  avec un SO où la compacité augmente jusqu'à 23% en 60 jours. Au vu des résultats, il semblerait que la compacité semble atteindre un optimum entre 65-70% après 15 jours de polarisation et ce, peu importe que le squelette granulaire soit optimisé ou non. En immersion, pour les mêmes densités, la compacité est globalement plus faible qu'en écoulement, excepté au plus fort courant avec SO où elle atteint 77% contre 72% en écoulement. Cette stabilisation du volume des vides a également été observée dans les travaux de Zadi (25) dans le cadre de la formation de concrétions calcomagnésiennes formées en courant imposé pendant 24 mois (grilles immergées). Sur ces matériaux, cet auteur détermine une compacité comprise entre 65 et 75% au bout de 10 mois, alors que celle du squelette granulaire (sédiments) était initialement de 57%. Le DC est donc venu combler une partie des vides du squelette. Cet auteur constate également que la compacité diminue de manière linéaire avec l'augmentation de la densité de courant électrique mais que la durée de polarisation n'apparaît pas comme un facteur apparent dans l'évolution de la compacité. Zadi (26) note qu'au-delà de 10 mois de

polarisation (sur 24 mois), le temps n'a pas d'influence significative sur la compacité du matériau formé. Dans le même contexte, Carré *et al.* (27) ont étudié la compacité d'un agglomérat calcomagnésien formé sur 30 mois dans le cas d'une grille enfouie dans des sédiments. Par analogie avec nos résultats, ils constatent une augmentation progressive de la compacité, passant de 70 à 75%, sur une période de 10 mois, suivie d'une stabilisation entre 75 et 80%, ainsi qu'une corrélation entre l'évolution de la compacité et l'augmentation de la résistance mécanique en compression des agglomérats (10-12 MPa). Ces auteurs supposent que la libération du H<sub>2</sub> lors des réactions de réduction constitue un facteur limitant pour les propriétés mécaniques du matériau. Cette hypothèse pourrait être corrélée avec les valeurs de compacité plus élevée à -180μA/cm<sup>2</sup> observées en écoulement, où la libération de H<sub>2</sub> est supposée plus faible à la surface de la grille. Des mesures de porosité au mercure permettraient d'avoir une idée sur la distribution de la taille des pores. Globalement, pas de différence significative des valeurs de compacité n'est constatée entre les deux densités de courant pour le SNO et SO ainsi qu'au niveau de l'écoulement et de l'immersion. Nous pouvons tout de même noter que même si la croissance en volume apparent des AG est plus lente en écoulement qu'en immersion, il apparaît des similitudes au niveau des propriétés physiques des agglomérats. Il semblerait également que l'optimisation du squelette granulaire facilite, sur le long terme, la précipitation en volume du DC entre les grains et conduise, au fur à mesure du temps, à la formation d'un agglomérat de plus en plus compact et volumineux.

#### 2.6.3.7. 4.4.3.2. Influence des granulats recyclés : comparaison avec des granulats naturels

Nous avons émis l'hypothèse que les granulats recyclés pouvaient influencer ou amorcer la précipitation du DC en fournissant des ions calcium et un environnement alcalin propice à la précipitation du CaCO<sub>3</sub>. La **Figure 4-11** rapporte les volumes apparents et la compacité des AG formés en écoulement avec des granulats recyclés et naturels avec un SO en fonction du temps. En raison d'un problème technique, nous avons dû stopper certaines expériences à 20 jours de polarisation plutôt qu'à 28 jours ce qui explique l'absence d'écart type pour les volumes apparents à 20 et 28 jours dans le cas des AG avec granulats naturels (GN).

À partir des photos des AG présentées sur la **Figure 4-7**, nous avons constaté que le volume des AG formés avec des granulats naturels était plus important qu'avec des granulats recyclés. Cette observation est confirmée par les résultats présentés dans la **Figure 4-11** où l'on remarque qu'au bout de 28 jours de polarisation, le volume apparent des AG avec GN atteint 230 cm<sup>3</sup> à -500μA/cm<sup>2</sup>, c'est-à-dire pratiquement 2 fois plus élevé qu'avec des GR. La cinétique de formation en volumique est calculée à 13 cm<sup>3</sup>/jour sur 1 mois. Pour i=-180μA/cm<sup>2</sup>, le volume apparent des AG avec GN est stable dès 15 jours de polarisation, atteignant 60 cm<sup>3</sup>.

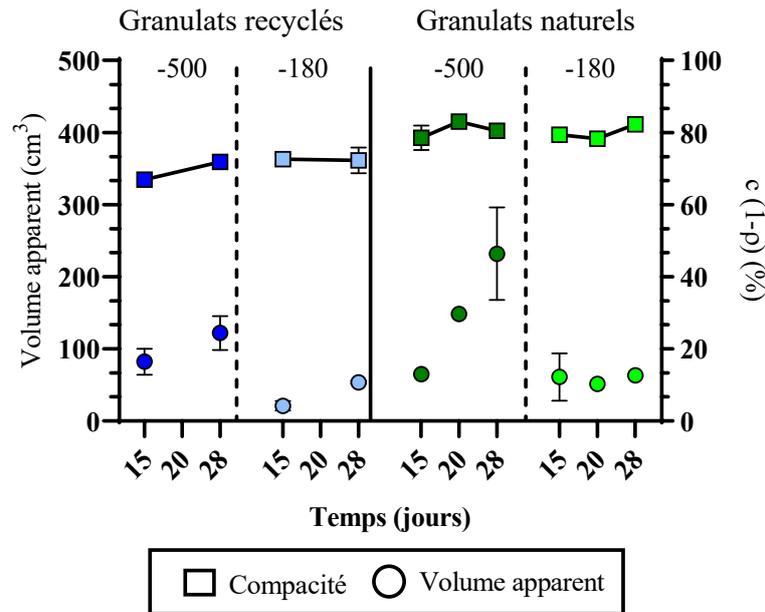


Figure 4- 11: Evolution du volume apparent ( $\text{cm}^3$ ) et de la compacité ( $1-\phi$ )(%) des AG formés sous écoulement avec des granulats recyclés (gauche) et des granulats naturels (droite) en fonction du temps. Les densités de courant sont exprimées en  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ .

La compacité initiale du squelette est de 68%, soit 3% de plus que les granulats recyclés (GR) (65%). La compacité des AG avec GN atteint pratiquement 80% contre environ 70% avec des GR en seulement 15 jours, tout courant confondu, puis fluctue entre 78 et 82%. La précipitation du dépôt à travers les grains augmente la compacité de près de 10%.

#### 2.6.3.8. 4.4.3.3. Cycle de polarisation

D'après la littérature, l'application d'une polarisation cyclique permettrait d'uniformiser la distribution du dépôt à la surface du métal et de réduire la porosité de la couche de  $\text{CaCO}_3$  (28). En effet, en l'absence de polarisation, la dissolution de la brucite favoriserait la précipitation du carbonate de calcium au sein de l'agglomérat. Le  $\text{CaCO}_3$  étant plus résistant mécaniquement que la brucite qui précipite initialement sous forme de gel, une augmentation de sa proportion dans le DC favoriserait la cohésion entre les grains et la résistance de l'ensemble du matériau. La polarisation cyclique appliquée ici consiste en une alternance toutes les 6 heures d'une polarisation cathodique et d'un potentiel à l'abandon.

La **Figure 4-12** montre la comparaison de l'évolution du volume apparent et de la compacité des AG formés sous écoulement, avec une polarisation cyclique et continue, en fonction du temps. Au vu des résultats, l'application d'une polarisation cyclique en écoulement ne semble pas affecter la croissance en volume des agglomérats ni la compacité.

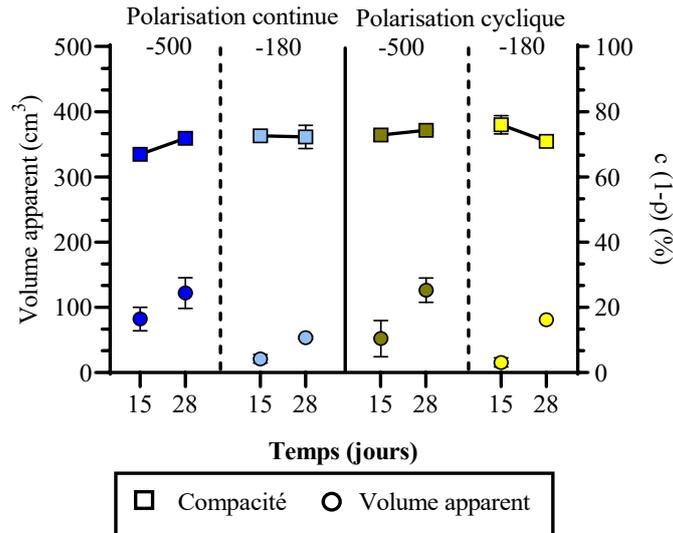


Figure 4- 12: Evolution du volume apparent ( $\text{cm}^3$ ) et de la compacité ( $1-\phi$ )(%) des AG formés en polarisation continue (gauche) et cyclique (droite) en fonction du temps. Les densités de courant sont exprimées en  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ .

A partir des observations visuelles, de l'évolution du volume apparent des AG et des mesures de porosité (compacité), plusieurs conclusions sont rapportées. La formation de l'agglomérat calcomagnésien est possible en écoulement et en immersion en seulement 15 jours. Pour les deux dispositifs, les volumes apparents des agglomérats suivent une croissance « quasi linéaire » en fonction du temps. La cinétique de croissance reste cependant plus significative en immersion à forte densité probablement en raison d'une alcalinisation liée à la polarisation plus importante qu'en écoulement où le milieu est lessivé en continu. La densité de courant influence la cinétique de croissance des AG c'est-à-dire que plus la densité de courant est élevée, plus la croissance des AG est rapide. L'optimisation du squelette granulaire n'a pas eu de réels effets sur la compacité ni la croissance des matériaux sauf à forte densité où l'on a pu observer des volumes apparents plus faibles pour les deux dispositifs. La compacité augmente au cours du temps mais se stabilise rapidement après 15 jours de polarisation et ce, quels que soit la nature des granulats, la polarisation appliquée et le dispositif (immersion/écoulement). Nous allons dans la partie suivante nous intéresser à la composition chimique et minéralogique du dépôt calcomagnésien précipité entre les granulats.

#### 4.4.4. Propriétés chimiques du dépôt calcomagnésien dans l'agglomérat

Les propriétés chimiques (nature et proportions relatives des éléments chimiques) du dépôt calcomagnésien au sein des AG ont été caractérisées. Pour ce faire, il a fallu procéder à une destruction des agglomérats calcomagnésiens, soit partielle avec l'élaboration de coupes transversales, soit totale pour récupérer le DC.

#### 2.6.3.9. 4.4.4.1. Coupes transversales/longitudinales des AG

La robustesse de l'AG est évaluée à partir de coupes transversales de certains agglomérats. Ces coupes transversales sont obtenues par découpe des AG, préalablement enrésinés (résines époxy prise rapide), à l'aide d'une tronçonneuse à lame diamant. Les AG sont sectionnés à sec sur l'axe horizontal pour éviter la dissolution du dépôt.

L'enrésinement des AG permet le maintien mécanique de la structure lors du découpage et notamment des grains externes qui adhèrent peu du fait d'une très petite surface en contact avec le ciment calcomagnésien. En effet, sans résine, les AG peuvent s'effriter lors de la coupe et progressivement créer une décohésion des grains au sein de l'AG. L'utilisation d'une résine à prise rapide permet donc de maintenir ces grains dans l'agglomérat, mais du fait de sa viscosité et de sa prise rapide, cette résine ne pénètre pas au sein des AG. La **Figure 4-13** montre le résultat d'un découpage à la tronçonneuse d'un agglomérat formé en écoulement à  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ .



*Figure 4- 13: Découpage d'un agglomérat calcomagnésien enrésiné à la tronçonneuse à lame diamant. Conditions de formation de l'agglomérat présenté ici : écoulement, granulats recyclés, polarisation continue à  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  pendant 28 jours.*

Bien que l'enrésinement des AG maintienne suffisamment la structure de l'AG pour faire des tranches, nous pouvons tout de même constater une perte de matière conséquente dans la partie centrale du matériau, synonyme de très peu de dépôt calcomagnésien liant les granulats. À  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , la polarisation conduit à la fois à un bullage important de  $\text{H}_2$  mais aussi à une alcalinisation très importante de l'espace inter-granulaire. On a ainsi un gradient de pH du métal vers l'extérieur et les ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ , arrivant avec l'écoulement ou par diffusion, précipitent loin de la grille. L'eau arrivant sur la grille est donc appauvrie en ions  $\text{Mg}^{2+}$  et  $\text{Ca}^{2+}$  et aucun dépôt ne précipite. Ce phénomène a été également observé par Zanibelatto (7) au cours de sa thèse pour une grille enfouie dans du sable. Il a ainsi observé

l'absence de dépôt calcomagnésien et de sable autour de la grille, le sable ayant été repoussé par l'hydrogène. Le même phénomène a pu être observé dans nos dépôts obtenus à  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  (**Figure 4-13** et **Figure 4-14**). Aucun dépôt n'est visible sur la grille dans certaines zones. Ce phénomène reste néanmoins aléatoire, il ne se produit pas partout et ne s'observe pas pour la plus faible polarisation, *i.e.*  $-180 \text{ mA}/\text{cm}^2$ , car l'alcalinisation et le bullage de  $\text{H}_2$  est moindre et l'écoulement permet de rééquilibrer le pH interne.

Nous présentons dans la **Figure 4-14** quelques coupes transversales réalisées sur deux agglomérats formés à  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  dans les conditions suivantes : écoulement, 60 jours avec squelette optimisé. Ces coupes sont de 1 cm d'épaisseur pour les besoins des analyses MEB.

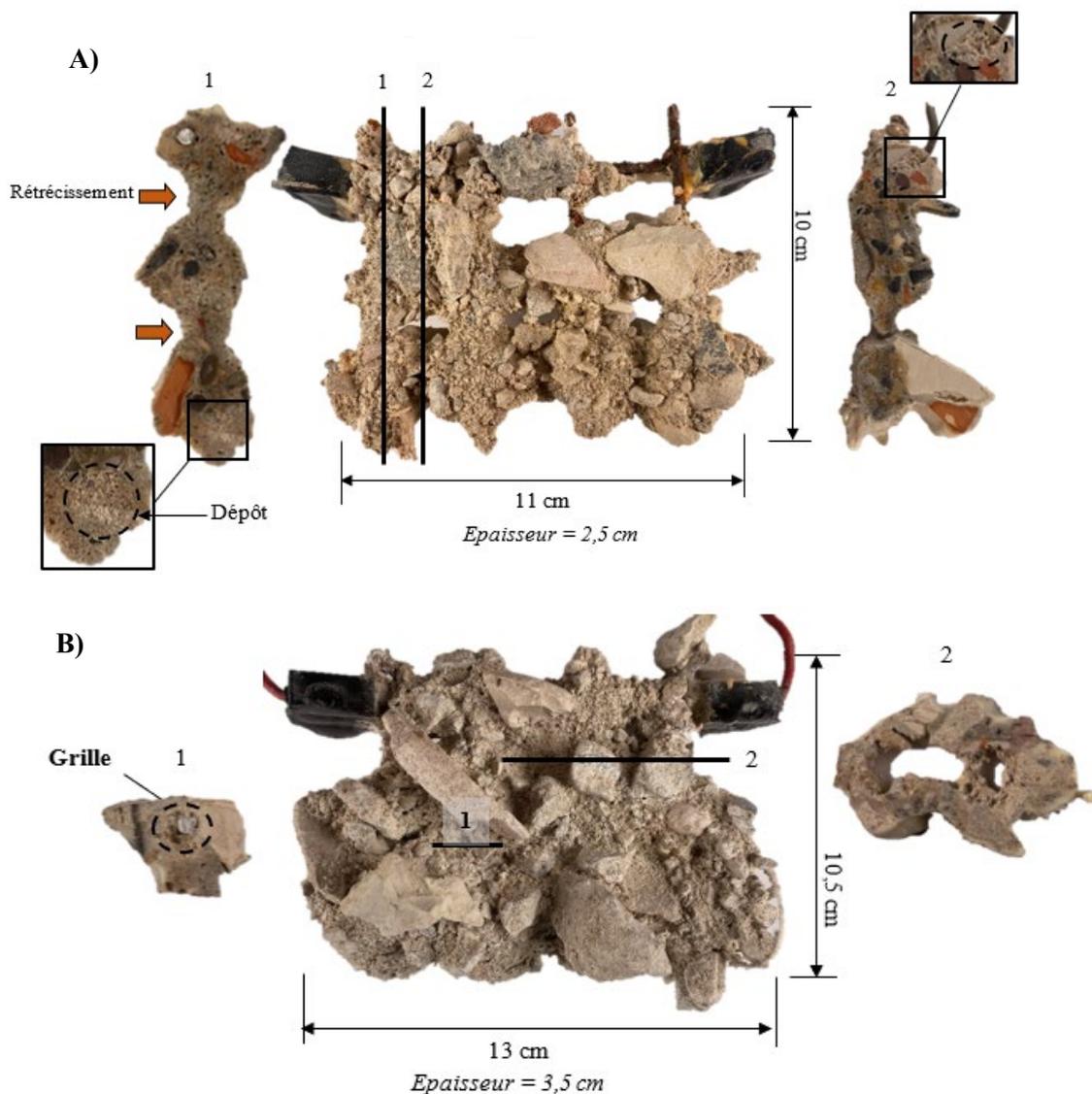


Figure 4- 14: Zones de sectionnement des agglomérats obtenus après 60 jours sous écoulement pour un squelette granulaire optimisé, accompagnées des coupes des deux agglomérats. A)  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  (coupes verticales) et B)  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  (coupes horizontales).

À  $-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  (**Figure 4-14.A**), les coupes verticales révèlent la structure interne et la morphologie de l'agglomérat. On peut distinguer différentes tailles et natures de granulats recyclés tels que la terre cuite ou les pierres naturelles ainsi qu'une certaine cohésion de la matrice où les granulats les plus fins viennent combler les espaces entre les éléments les plus grossiers. Autour de la grille, on ne dénote quasiment pas de vides. Globalement, l'agglomérat se caractérise par un empilement granulaire plutôt uniforme et homogène avec, toutefois, la présence de microcavités sur la longueur probablement à cause des bulles de  $\text{H}_2$ . On remarque plusieurs zones blanches qui semblent correspondre au dépôt calcomagnésien (cercles en pointillés). La quantité d'agglomérat formé est plus importante autour des barreaux métalliques qu'au niveau des mailles (flèches orange) (**Figure 4-14.A**) en raison de la précipitation du DC qui débute sur la surface métallique. Quant au courant le plus fort (**Figure 4-14.B**), les coupes transversales mettent en avant la présence de plus grosses cavités autour de la grille ainsi qu'une perte de matière au centre de l'agglomérat.

Pour aller plus loin dans l'observation de la structure et de la composition des AG, des analyses au microscope électronique à balayage (MEB) sont réalisées sur l'une des coupes transversales de l'AG obtenu dans les conditions suivantes : écoulement, 60 jours,  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , SO. Des microanalyses EDS ainsi que des cartographies élémentaires X du Ca, Mg et Si sont également effectuées pour examiner la répartition des éléments chimiques au sein de l'agglomérat. Les échantillons ont été préalablement polis (P4000) pour retirer les rayures liées à la découpe et obtenir une surface nette. Les micrographies correspondantes à l'analyse d'une coupe transversale sont présentées sur les **Figures 4-16** et **4-17**. La **Figure 4-15** montre les images MEB d'une coupe transversale de l'AG obtenues par le détecteur FEG accompagnées des microanalyses EDS.

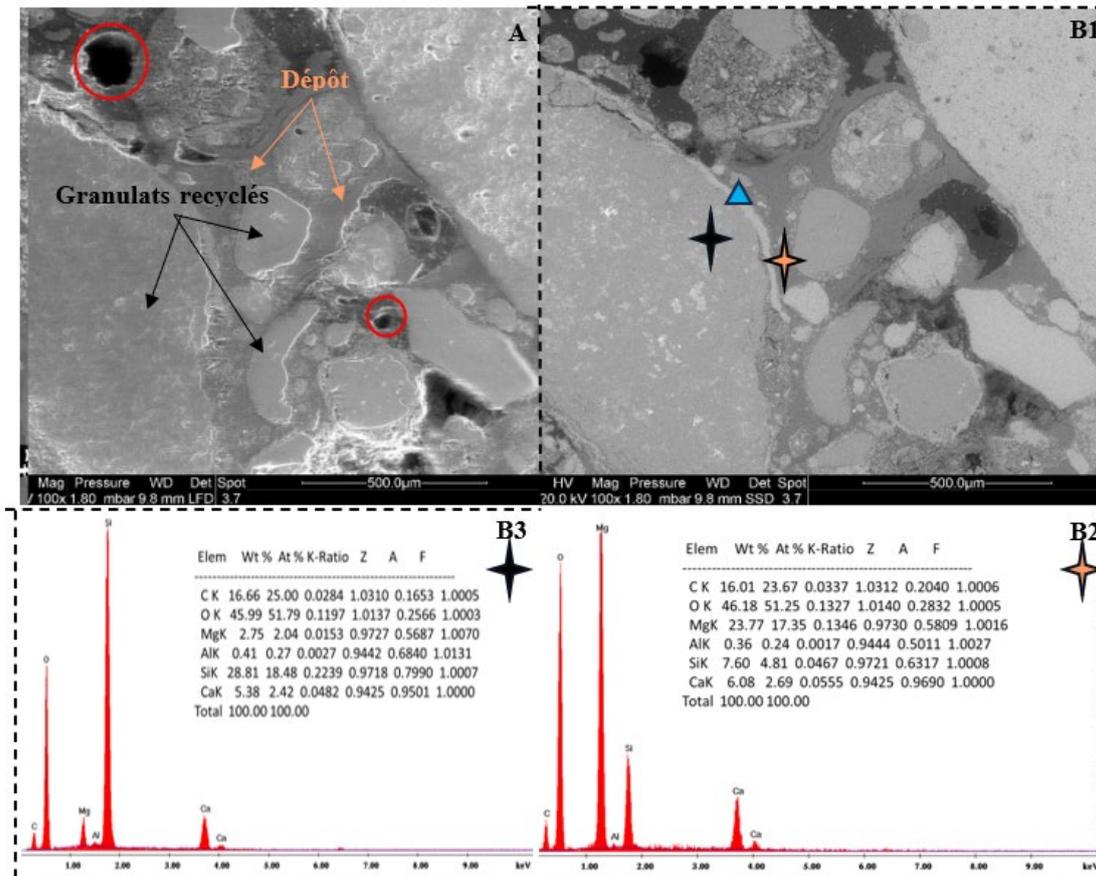


Figure 4- 15 : Images MEB réalisées sur la coupe transversale de l'agglomérat. A) Contraste topographique (électrons secondaires) ; B.1. Contraste chimique (électrons rétrodiffusés) accompagné d'une microanalyse EDS réalisée sur le dépôt calcomagnésien (étoile orange) (B.2) et sur les granulats recyclés (étoile noire) (B.3). Les cercles rouges représentent des pores/aspérités. Le triangle bleu correspond à une zone spécifique d'interface analysée par cartographie (Figure 4-16).

La micrographie électronique de la **Figure 4-15A**, qui représente le contraste topographique de la surface de l'échantillon, montre des zones lisses avec un contour bien défini correspondant aux granulats recyclés. Ces grains semblent piégés dans une matrice gris foncé de dépôt calcomagnésien. Plusieurs aspérités/pores sont visibles en surface, plus particulièrement au niveau des jonctions entre les granulats recyclés (**cercles rouges**). La couche de dépôt présente une surface plus lisse et homogène. La détection du dépôt et des granulats recyclés est confirmée par le contraste chimique (**Figure 4-15.B1**) et les analyses EDS (électrons rétrodiffusés) réalisées sur les deux zones (**étoile noire** (granulats recyclés) (**Figure 4-15.B3**) et étoile orange (dépôt calcomagnésien) (**Figure 4-15.B2**)). Ce mode chimique révèle un contraste de gris suivant le numéro atomique. Plus Z est grand, plus l'image est claire (**Chapitre 2**). On constate un dégradé de nuances de gris correspondant, à l'aide des microanalyses EDS, pour les zones les plus claires, aux granulats recyclés particulièrement riches en silicium ( $Z_{Si}=13$ ) et les zones foncées au dépôt calcomagnésien où le magnésium et l'oxygène sont prédominants, synonyme de la brucite ( $Z_{Mg}=12$  et  $Z_{O}=8$ ). La présence de la silice au sein du dépôt provient des particules de granulats

recyclés. De plus, nous distinguons une couche distincte de couleur claire (**triangle bleu**) en périphérie d'un granulats, qui est riche en calcium ( $Z_{Ca}=20$ ) comme le montre les cartographies EDS réalisées dans cette zone, présentées sur la **Figure 4-16**.

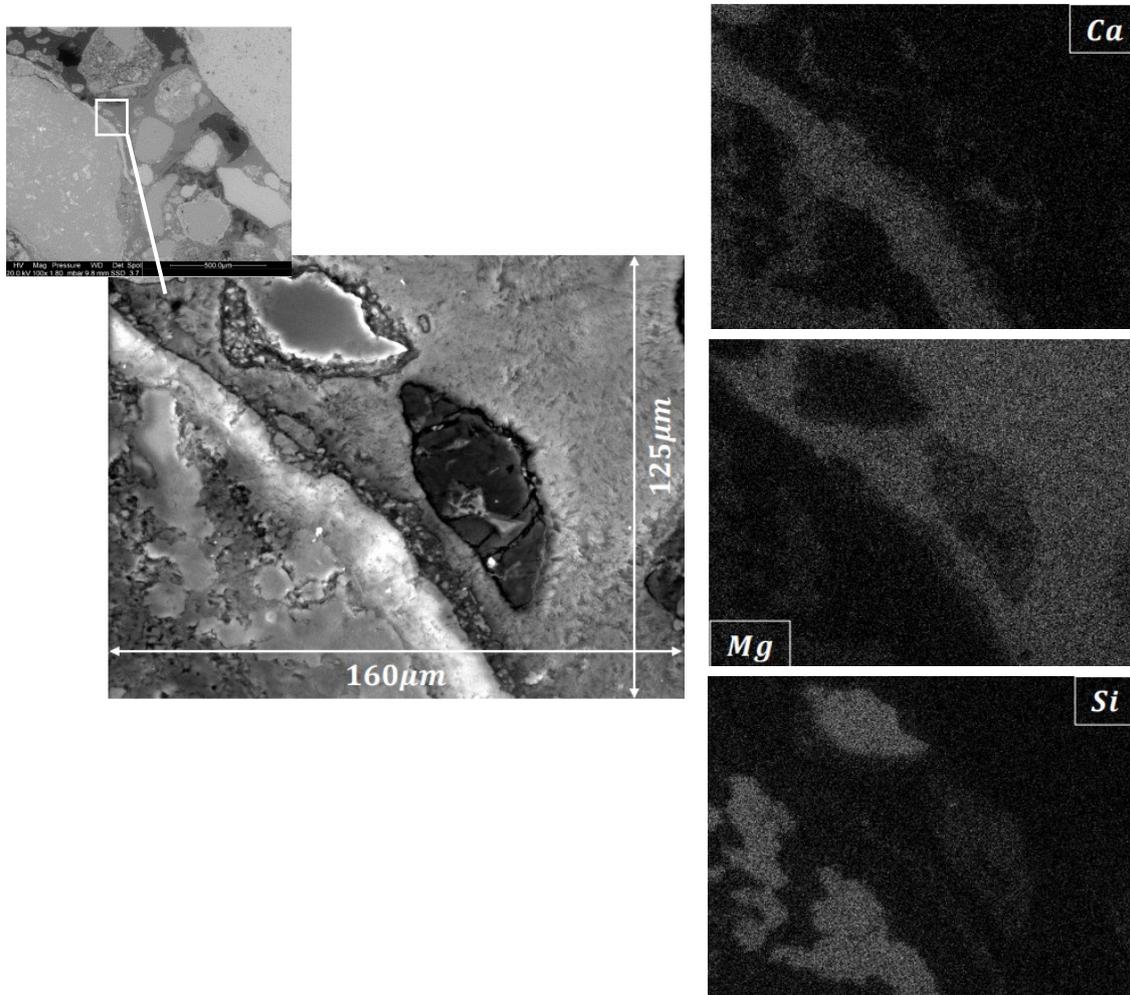


Figure 4- 16 : Image MEB optique réalisée sur la zone indiquée par le **triangle bleu** d'une coupe transversale de l'agglomérat calcomagnésien (conditions expérimentales : écoulement, 60 jours,  $i=-500\mu A/cm^2$ , SO) accompagnées des cartographies élémentaires de Ca, Mg et Si.

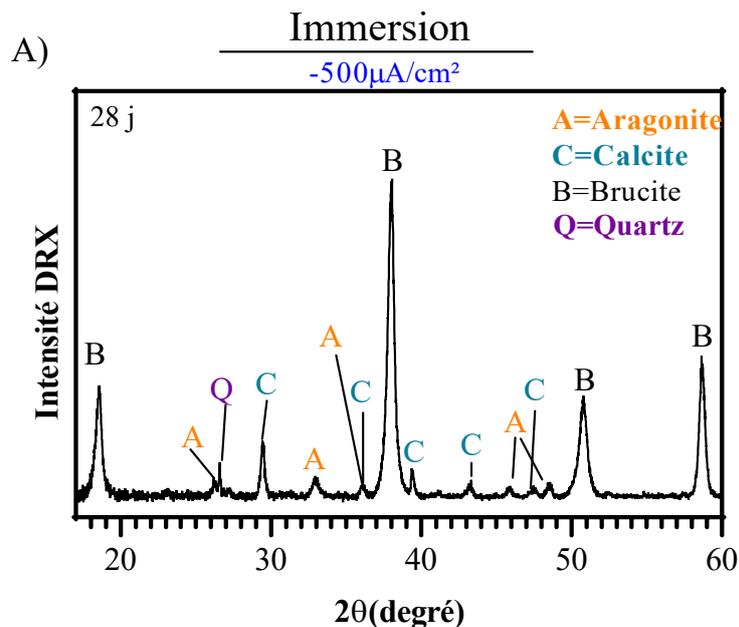
Cette couche riche en calcium qui n'a pas été observée sur des matériaux à matrice cimentaire (Rc) avant immersion/lixiviation s'avère être de la calcite qui pourrait résulter soit de l'interaction avec l'eau de mer de la matrice cimentaire qui aurait pu entraîner la précipitation de carbonate de calcium à la surface du granulats (voir **Chapitre 3**), soit de la précipitation du dépôt calcomagnésien ou un effet conjugué des deux phénomènes.

Cette couche riche en calcium se retrouve également et essentiellement en périphérie d'autres granulats (zones riches en silicium). Cela suggère que les granulats recyclés pourraient potentiellement servir de points d'amorçage dans la précipitation de  $CaCO_3$ , peut-être en raison de la libération d'ions calcium et/ou d'ions sulfates lors de leur lixiviation, créant ainsi un environnement riche en ions calcium. Le  $CaCO_3$  peut également provenir de la dissolution de la brucite et de l'écoulement le long des grains.

2.6.3.10. 4.4.4.2. Composition chimique

Afin d'étudier et d'analyser sa composition chimique, le DC est collecté manuellement dans les AG à l'aide d'une pince à pointe courbe. Cette étape chronophage implique une destruction progressive des agglomérats pour extraire le DC, qui est visuellement identifiable par sa teinte blanchâtre. Si en immersion le DC précipite simultanément sur l'ensemble de la surface de la grille, en écoulement, il précipite d'abord au niveau de la partie basse puis remonte progressivement vers la partie haute à mesure que le dépôt calcomagnésien bloque la grille. Cette distinction suggère que les propriétés du DC peuvent différer entre les deux zones. En conséquence, nous avons entrepris la récupération et l'analyse distincte du DC à la fois dans la partie haute (du côté de la connexion électrique) et la partie basse des agglomérats. L'analyse de certaines zones des agglomérats s'est avérée difficile en raison de la faible quantité de dépôt récupérée.

La composition chimique du DC est déterminée par des analyses par DRX et Raman. La **Figure 4-17** présente des diffractogrammes obtenus sur des dépôts calcomagnésiens prélevés dans des agglomérats formés en immersion à 28 jours et en écoulement à 15, 28 et 60 jours de polarisation.



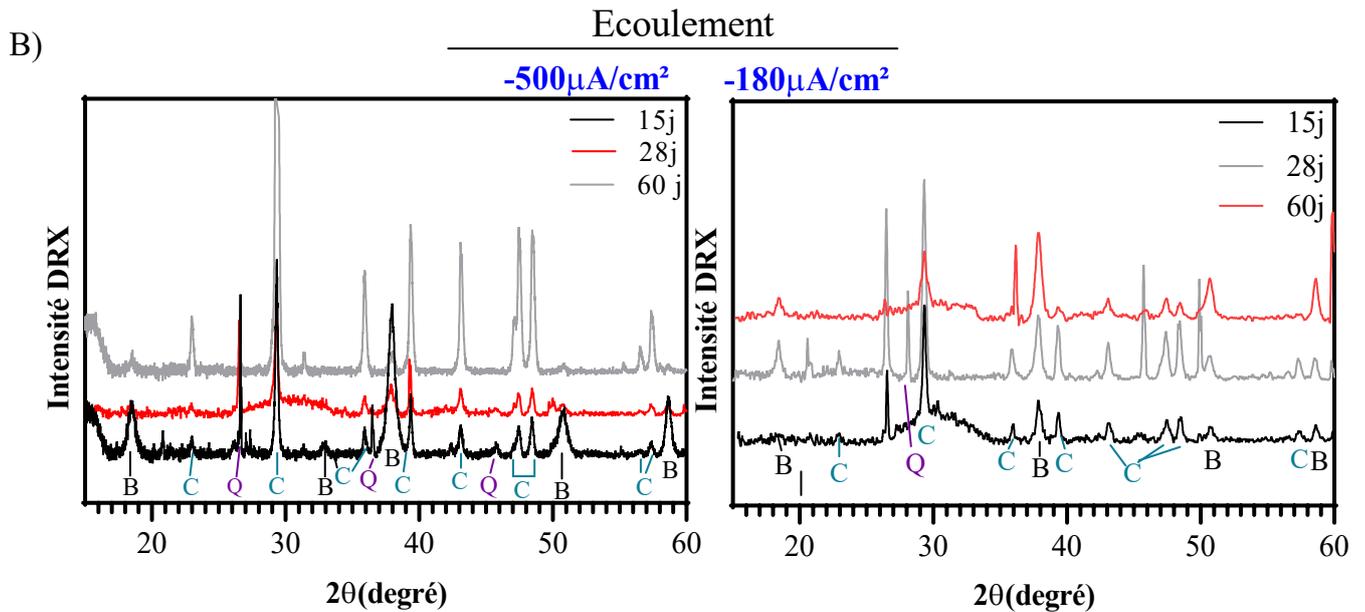


Figure 4- 17: Diffractogrammes de rayons X de dépôts calcomagnésiens prélevés dans différents agglomérats : A) en immersion, 28 jours,  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  (partie basse) et B) en écoulement à 15, 28 et 60 jours pour  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  (partie basse).

D'après les diffractogrammes, nous constatons que le dépôt calcomagnésien formé en immersion (**Figure 4-17.A**) se compose, en plus de la brucite, de deux formes allotropiques de  $\text{CaCO}_3$ , la calcite et l'aragonite. Ces trois composés sont détectés quasi systématiquement en immersion au cours du temps. Dans le cas d'un agglomérat calcomagnésien formé en immersion, l'aragonite constitue la forme de  $\text{CaCO}_3$  la plus retrouvée au sein du dépôt (1,21,26). La calcite est également retrouvée dans ces conditions en immersion mais en moindre quantité par rapport à l'aragonite. En effet, Zanibellato (7) trouve, dans le cas d'une grille enfouie et polarisée à  $-1\text{mA}/\text{cm}^2$ , près de 5% en masse d'aragonite contre 2% de calcite. De même, Carré (21) a mis en évidence moins de 3% massique de calcite dans l'eau de mer naturelle contre 66% d'aragonite pour une grille polarisée à  $-300\mu\text{A}/\text{cm}^2$ . En écoulement, les diffractogrammes (**Figure 4- 17.B**) montrent que seules deux phases ont été identifiées, la calcite et la brucite. Ces deux composés sont systématiquement détectés au cours du temps (15 à 60 jours), et pour les deux densités de courant. L'aragonite a néanmoins été identifiée seulement à 28 jours pour  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ . La quasi-absence de l'aragonite et la prédominance de la calcite sont assez surprenantes puisque l'écoulement est, d'après notre hypothèse, censé favoriser la dissolution partielle de la brucite et donc libérer des ions magnésium susceptibles d'inhiber la calcite. Par ailleurs, nous avons vu précédemment (**Chapitre 4.4.3**) que sans granulat, le dépôt contient de la calcite et de l'aragonite. À ce titre, nous avons montré dans le **Chapitre 3** que la lixiviation des granulats recyclés dans l'eau de mer conduit à la libération excessive de calcium en solution, entraînant une inversion du rapport  $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$  de l'eau de mer. La prédominance du calcium par rapport au magnésium dans l'eau de mer peut, d'après les prédictions de Morse (29), favoriser la précipitation de la calcite lorsque le rapport est inférieur à 1 (à  $T\approx 20^\circ\text{C}$ ). De plus, la présence quasi-exclusive de la calcite peut être justifiée par l'augmentation de

la concentration en ions sulfate induite par la lixiviation des Rc. En effet, plusieurs études ont mis en avant que les ions sulfate sont considérés comme des inhibiteurs de la dissolution de la calcite (30–32). Par ailleurs, Sjöberg *et al.* (30) ainsi que Gledhill et Morse (31) ont également constaté que l'effet inhibiteur des ions sulfate sur la vitesse de dissolution de la calcite s'intensifiait avec l'augmentation des ions calcium en solution. Ainsi, il semblerait que la réactivité des granulats recyclés, via la libération d'ions calcium et sulfate favorise la précipitation de la calcite. Également, la libération excessive d'ions calcium par les GR a pu entraîner un abaissement du rapport  $Mg^{2+}/Ca^{2+}$  suffisamment important au niveau de l'interface métal/électrolyte pour favoriser la précipitation de la calcite (22,29). Il apparaît donc un effet non négligeable des granulats recyclés sur la composition chimique du dépôt.

Pour aller plus loin, nous avons analysé la composition chimique du dépôt dans les autres conditions de formation de l'agglomérat, à savoir en présence de granulats naturels et en polarisation cyclique (granulats recyclés). Le **Tableau 4-4** résume les composés retrouvés dans les DC en haut et en bas de l'agglomérat pour chaque condition expérimentale en fonction du temps.

Tableau 4- 4: Composition chimique du dépôt calcomagnésien dans les agglomérats (SO) pour les deux densités de courant : **C**=Calcite, **A**=Aragonite et **B**=Brucite.

<b><math>i=-500\mu A/cm^2</math></b>	Ecoulement (écoulement)						Immersion	
	Cyclique		Continue		Continue		Continue	
Nature des granulats	Recyclés		Naturels		Recyclés		Recyclés	
Temps (jours)	Haut	Bas	Haut	Bas	Haut	Bas	Haut	Bas
15	<b>B+C+A</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C+A</b>
20			<b>B+C+A ?</b>	<b>B+C+A ?</b>				
28	<b>B+C</b>	<b>B+C+A ?</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C+A</b>	<b>B+C+A</b>
60					<b>B+C</b>	<b>B+C</b>		

<b><math>i=-180\mu A/cm^2</math></b>	Ecoulement (écoulement)						Immersion	
	Cyclique		Continue		Continue		Continue	
Nature des granulats	Recyclés		Naturels		Recyclés		Recyclés	
Temps (jours)	Haut	Bas	Haut	Bas	Haut	Bas	Haut	Bas
15	<b>B+C</b>	<b>B+C</b>	<b>C</b>	<b>B+C+A ?</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C</b>	<b>C</b>	<b>B+C</b>
20			<b>B+C</b>	<b>B+C+A</b>				
28	<b>B+C</b>	<b>B+C+A</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C+A</b>	<b>B+C</b>	<b>B+C+A</b>	<b>B+C+A</b>
60					<b>B+C</b>	<b>B+C</b>		

Selon les informations fournies par ce tableau, nous constatons que la calcite est non seulement prédominante en écoulement avec les granulats recyclés mais aussi avec les granulats naturels, pour les deux densités de courant. Si la réactivité des GR dans l'eau de mer peut expliquer la présence de la calcite, dans le cas des granulats naturels, l'explication reste assez floue. En effet, toujours dans le **chapitre 3**, nous avons constaté que les granulats naturels sont totalement inertes dans l'eau de mer. Aucune variation de pH ni de conductivité n'a été relevée. D'ordre général, il semblerait que la présence des granulats naturels en écoulement favorise la précipitation de la calcite, probablement au niveau de la nucléation des cristaux. Néanmoins, nous n'avons pas d'explication à ce phénomène. Les analyses DRX n'ont pas permis de conclure sur la présence de l'aragonite dans le dépôt (avec les granulats naturels) à 20 et 15 jours (signalé par « A ? ») probablement en raison d'une très faible quantité de ce composé. Quant à l'application d'une polarisation cyclique, nous constatons également la présence majoritaire de la calcite au cours du temps avec, à certains moments, une cohabitation avec l'aragonite (28j ;  $-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et 15j ;  $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ).

L'absence de brucite, en partie haute, après 15 jours de polarisation à une densité de courant de  $-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  en immersion et en écoulement avec des granulats naturels, peut être attribuée à une faible polarisation moins cathodique dans les premiers jours et donc à une plus faible alcalinisation à l'interface métal/eau de mer.

En se basant sur les analyses thermogravimétriques, il a été possible de suivre la dynamique du rapport  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  à l'intérieur du dépôt calcomagnésien (DC), à la fois dans la partie supérieure et inférieure de l'agglomérat, en fonction du temps. Un exemple d'un suivi de perte de masse du dépôt calcomagnésien obtenu par analyse thermogravimétrique est présenté sur la **Figure 4-18**.

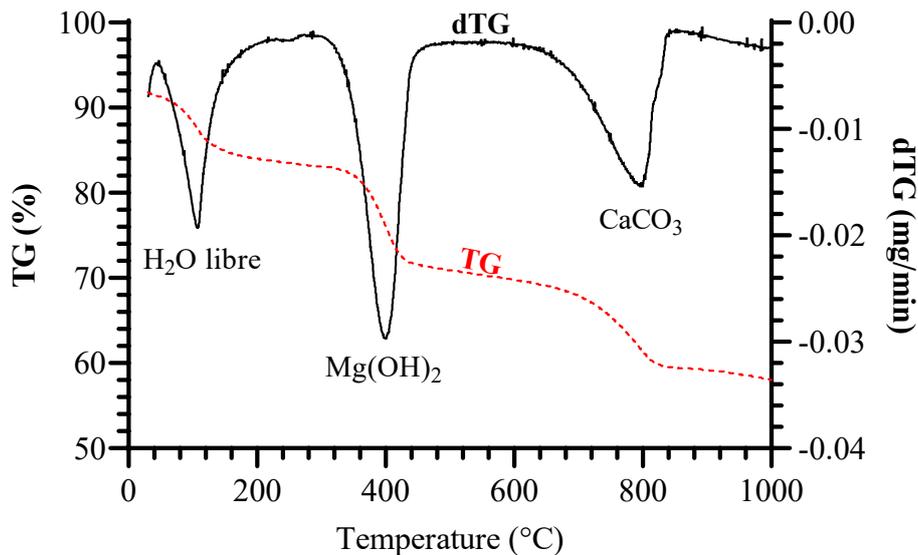


Figure 4- 18 : Courbes TG/dTG d'un dépôt calcomagnésien (DC d'un agglomérat formé en écoulement).

La **Figure 4-19** illustre la variation du rapport  $Mg(OH)_2/CaCO_3$  à l'échelle logarithmique en fonction de la durée de la polarisation, pour chaque condition expérimentale, et ce, tant au niveau de la partie supérieure qu'inférieure de l'agglomérat.

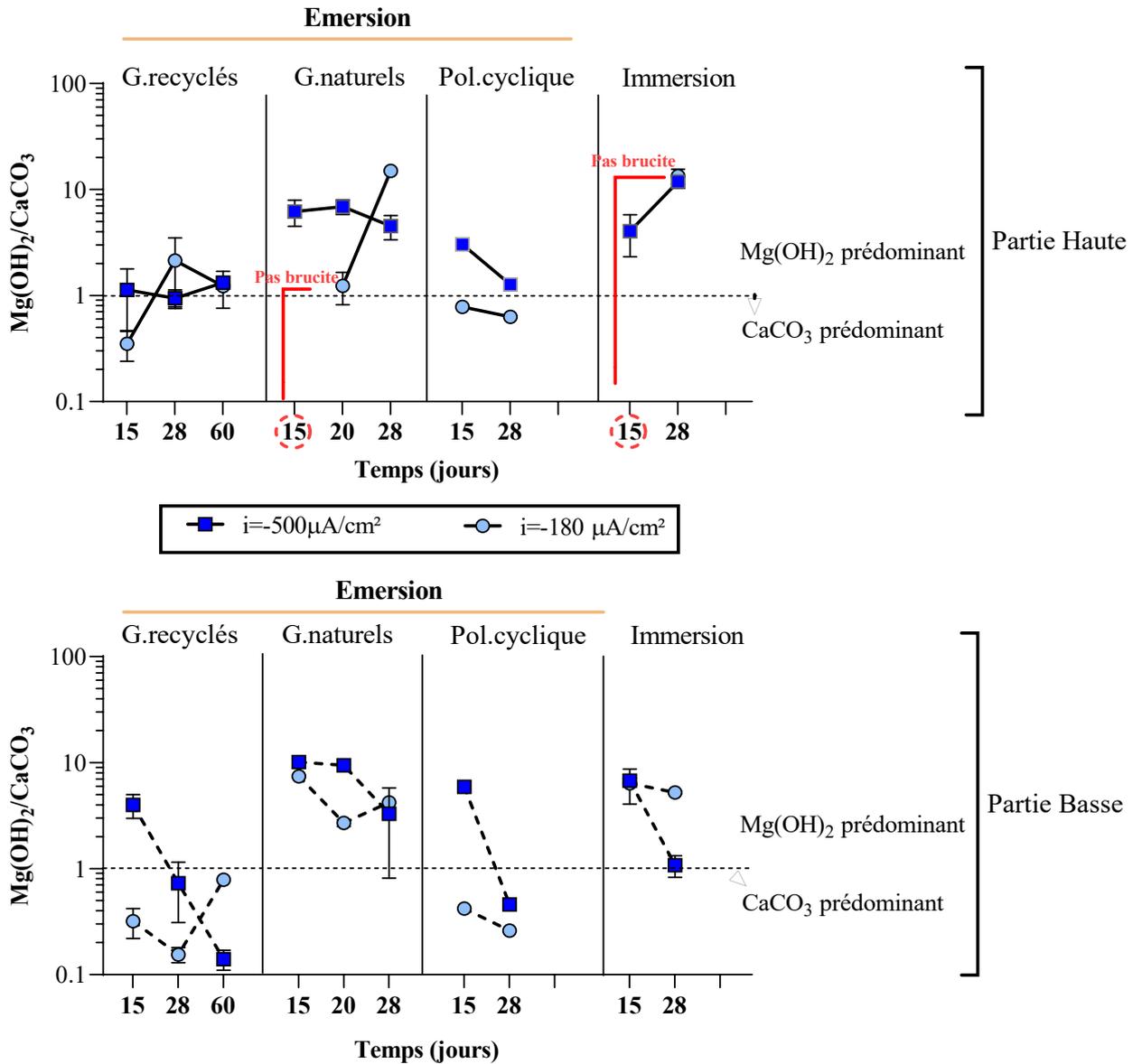


Figure 4- 19 : Evolution du rapport  $Mg(OH)_2/CaCO_3$  dans le DC situé au niveau de la partie haute et basse des agglomérats en fonction du temps. Echelle logarithmique.

De manière générale, une augmentation de la proportion de  $CaCO_3$  dans le dépôt est observée, que ce soit en haut ou en bas de l'agglomérat, à mesure que la polarisation est appliquée. Plusieurs autres observations sont réalisées.

- **Au niveau de la partie basse :**

Dans la partie basse de l'agglomérat, en immersion ou écoulement avec GR, à  $i = -500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , le rapport  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  contenu dans le dépôt varie entre 4 et 10 après 15 jours de polarisation, traduisant une prédominance de la brucite. Puis ce rapport décroît à mesure que le carbonate de calcium précipite pour finalement atteindre un ratio inférieur ou égale à 1, correspondant à une proportion égale ou supérieure de  $\text{CaCO}_3$  par rapport à  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ . Par contre la proportion de brucite reste majoritaire (ratio = 3,28) avec les granulats naturels. En écoulement et polarisation continue avec des granulats recyclés, ce ratio atteint 0.14 après 60 jours, ce qui signifie que le carbonate de calcium est largement prédominant. Si cet abaissement du ratio au cours du temps est également observé à  $-180 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  pour toutes les conditions, on peut néanmoins relever que dès 15 jours de polarisation, le carbonate de calcium est prédominant dans la situation où la grille est émergée et en présence de granulats recyclés. En effet, que la polarisation appliquée soit cyclique ou continue, le ratio fluctue entre 0,3 et 0,46 puis entre 0,15 et 0,26 sur 28 jours. À 60 jours, nous constatons une augmentation de la proportion en brucite, à  $-180 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  (écoulement, granulats recyclés), mais qui reste toutefois inférieure à celle du carbonate de calcium (ratio = 0,76). En présence de granulats naturels, toujours à  $-180 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , la proportion de brucite, bien qu'elle diminue avec le temps, reste largement majoritaire. Maintenant si l'on compare les ratios pour les conditions homologues « immersion » et « écoulement », on remarque que la proportion de  $\text{CaCO}_3$  est plus importante dans le dépôt, à la plus faible polarisation en écoulement, alors qu'elle semble évoluer de la même manière à la polarisation la plus forte.

- **Au niveau de la partie haute :**

La première observation intéressante que l'on peut noter au niveau de la partie haute de l'agglomérat, c'est qu'en écoulement avec des granulats recyclés (polarisation cyclique et continue), le ratio  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  est relativement constant sur 60 jours et se situe aux alentours de 1, à  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ . Ceci signifie que sur toute la durée de polarisation, la proportion de brucite et de carbonate de calcium est équivalente. À  $-180 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , la proportion de brucite est plus importante qu'en partie basse au cours du temps mais reste cependant inférieure à 2. En appliquant une polarisation cyclique, la composition chimique du dépôt semble suivre la même évolution qu'en polarisation continue, c'est-à-dire avec un ratio se rapprochant de 1 pour les deux densités de courant. En présence de granulats naturels, la proportion de brucite reste majoritaire (ratio  $\approx 7$ ) et constante sur 28 jours à  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ . Sa proportion augmente drastiquement pour  $i = -180 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  passant de 1,2 à presque 15 en seulement une semaine alors qu'aucune trace de brucite n'est observée à 15 jours de polarisation. Le même phénomène est également observé en immersion où le ratio passe de 3 à 12 en 1 mois, quel que soit le courant imposé. En comparant les homologues « immersion » et « écoulement », il semblerait que l'écoulement d'eau de mer favorise la précipitation du  $\text{CaCO}_3$ .

À partir des observations relevées par rapport à l'évolution ratio  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$ , plusieurs interprétations sont possibles.

En écoulement ou en immersion, avec des granulats recyclés ou naturels, la composition chimique du DC évolue au cours du temps de polarisation. La proportion de brucite dans le dépôt, majoritaire en début de polarisation (15 jours), tend à décroître à mesure que le carbonate de calcium précipite via les mécanismes de dissolution/précipitation. La dissolution partielle de la brucite amène, par augmentation du pH lié à la libération d' $\text{OH}^-$ , à la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  qui, dans notre cas, se présente sous la forme de calcite. Ce phénomène a notamment été constaté par Zadi (25) qui a détecté une décroissance rapide du ratio  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  de 14 à 5 au bout de 6 mois d'immersion d'une grille polarisée et enfouie dans des sédiments, puis une stabilisation autour de 3 après 15 mois d'immersion. Zanibellato (7) a visualisé également une augmentation de la proportion de  $\text{CaCO}_3$  d'un morceau de dépôt calcomagnésien seul, immergé dans l'eau de mer naturelle, passant de 50 à 72% en 5 jours.

Dans notre étude, l'augmentation de la proportion en  $\text{CaCO}_3$  est particulièrement marquée en écoulement avec des granulats recyclés, où l'écoulement d'eau de mer a probablement contribué à la dissolution partielle ou au lessivage de la brucite et a favorisé la précipitation de carbonate de calcium par approvisionnement continu en  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  et abaissement du pH interne de l'agglomérat. En effet, à  $-180 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , en partie basse, la proportion de  $\text{CaCO}_3$  atteint des valeurs entre 75 et 85 % en écoulement (polarisation continue et cyclique, granulats recyclés) au bout de 28 jours alors qu'elle est cinq fois plus faible en immersion. De même, en partie haute, l'écoulement d'eau de mer a permis d'atteindre une proportion en brucite et calcite quasi-équivalente (ratio entre 1 et 2) et constante pour les deux densités de courant alors qu'elle est 4 à 13 fois plus faible en immersion à 28 jours. Au vu des résultats, il semble évident que l'écoulement d'eau de mer sur une grille polarisée et enfouie dans des GR favorise la précipitation de carbonate de calcium par rapport à l'immersion. L'application d'une polarisation continue ou cyclique ne semble pas affecter la composition chimique du dépôt.

L'écoulement n'apparaît pas comme le seul facteur favorisant le carbonate de calcium. En effet, en présence de granulats naturels, la proportion de brucite reste largement prédominante tout au long de la polarisation. Il semblerait ainsi que les granulats recyclés favorisent la précipitation de carbonate de calcium, comme nous l'avions supposé précédemment, qui plus est sous la forme de calcite, probablement en raison de l'apport en excès des ions calcium induit par leur lixiviation. L'effet combiné de l'écoulement et de la présence des granulats recyclés conduit donc à une augmentation significative du carbonate de calcium dans le dépôt.

De manière générale, la proportion de brucite est la plupart du temps plus élevée pour des polarisations plus fortes du fait d'une production plus importante en  $\text{OH}^-$ . Carré (21) trouve une proportion en brucite plus importante dans le dépôt obtenu sur une grille en immersion polarisée à  $-1000 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  que dans celui obtenu à  $-300 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  (50% contre 35%). Humble (22) démontre que l'augmentation du courant cathodique favorise la prédominance d'une couche riche en brucite dans le DC. Pour des densités de courant allant de  $-55 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  à  $-431 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , il constate que la proportion en  $\text{CaCO}_3$  est jusqu'à 6 fois plus élevée à la plus faible polarisation par rapport à la plus élevée. Par ailleurs, il constate que pour une

densité de courant d'environ  $-190 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , le rapport est de 1. Ceci coïncide donc avec nos résultats où le ratio  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  avoisine 1 pour  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$ .

En remontant sur la structure de l'agglomérat, on remarque que le ratio  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  est de manière générale plus faible dès 15 jours pour l'ensemble des conditions. Une fois le DC formé dans la partie basse de la grille, celui-ci bloque partiellement la surface active de l'électrode ce qui amène les lignes de courant vers la partie haute de la grille, amorçant ainsi la précipitation du DC. Du fait de la chute ohmique, la réponse en potentiel de l'électrode est moins cathodique ce qui amène à une production plus faible en  $\text{OH}^-$  par rapport à la partie basse, et donc un pH moins fort, conduisant ainsi à la précipitation d'un dépôt moins riche en brucite.

Dans notre étude, en immersion, le ratio augmente considérablement avec le temps ce qui signifie que le dépôt perd en résistance à l'instar des dépôts en écoulement qui gagnent en résistance structurale du fait des propriétés mécaniques du carbonate de calcium.

#### 4.5. Conclusion

Ce quatrième chapitre s'est concentré sur l'étude de la précipitation d'un dépôt calcomagnésien à partir d'un écoulement d'eau de mer dans le cas d'une grille polarisée par courant imposé. L'étude visait à la formation d'un agglomérat calcomagnésien résistant et compacte, dédié à la consolidation des installations littorales en zone émergées (partiellement) ou des falaises. Le processus de formation d'un agglomérat calcomagnésien repose principalement sur les propriétés physico-chimiques du dépôt et sa capacité à agréger les grains entre eux. Ces caractéristiques sont influencées par plusieurs facteurs tels que la distribution et la nature des granulats au sein du squelette (granulats recyclés/naturels), l'interaction électrolyte/électrode (écoulement/immersion) ainsi que la polarisation appliquée (cyclique/continue). L'ensemble de ces facteurs ont été étudiés à travers la compacité et la cinétique de formation des agglomérats ainsi que les propriétés physico-chimiques du DC via sa composition chimique et l'évolution du rapport  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$ . Deux densités de courant ont été appliquées :  $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  et  $i=-180\mu\text{A}/\text{cm}^2$  sur 28 ou 60 jours. Un récapitulatif des résultats est présenté dans le **Tableau 4-5**.

Tableau 4- 5: Tableau récapitulatif des résultats obtenus sur les propriétés de l'agglomérat calcomagnésien (la compacité, la cinétique de croissance (volume apparent)) et du dépôt (composition chimique et évolution du rapport  $Mg(OH)_2/CaCO_3$ ). HC = Haut Courant ( $-500\mu A/cm^2$ ) et FC = Faible Courant ( $i=-180\mu A/cm^2$ ). **Flèche verte** = diminue et **Flèche rouge** = augmente

		Ecoulement						Immersion	
		Polarisation continue		Polarisation continue		Polarisation cyclique		Polarisation continue	
		Granulats recyclés		Granulats naturels		Granulats recyclés		Granulats recyclés	
Agglomérats	Cinétique de formation (cm <sup>3</sup> /jour)	2-3 (HC) et 0,5 (FC)		13 (HC) et 1-2 (FC)		5,5 (HC) et 4 (FC)		10-14 (HC) et 0,3 (FC)	
	Compacité (%)	Initiale : 60-65 Finale : 68<c<75		Initiale : 68 Finale : 78<c<82		Initiale : 60-65 Finale : 70<c<75		Initiale : 60-65 Finale : 70<c<76	
Dépôt calcomagnésien	Composition chimique	<b>Calcite - Brucite</b>		<b>Calcite - Brucite - Aragonite occasionnelle</b>		<b>Calcite - Brucite - Aragonite occasionnelle</b>		<b>Brucite - Calcite - Aragonite</b>	
	Zones	Haut	Bas	Haut	Bas	Haut	Bas	Haut	Bas
	$R=Mg(OH)_2/CaCO_3$	0.3<R <1,2 =		4,5<R<7 1,2<R< 15 (FC)	3<R<10	0,3<R<3	0,26<R<6	4<R<13	1<R<6

La formation d'un agglomérat en écoulement est amorcée par la précipitation du dépôt calcomagnésien au niveau des extrémités basses de la grille puis remonte en cimentant les grains pour former, en seulement 15 jours de polarisation, un matériau de plusieurs dizaines de cm<sup>3</sup>. Dans toutes les conditions évaluées, la précipitation du dépôt à travers les grains a permis d'augmenter la compacité d'environ 10% par rapport à la compacité initiale du squelette. Avec des granulats recyclés, l'agglomérat augmente d'environ 2 à 3 cm<sup>3</sup> par jour, tandis qu'avec des granulats naturels, cette croissance est multipliée par près de 6. Une tendance similaire est observée en immersion où le volume d'agglomérat apparent atteint 330 cm<sup>3</sup> en 28 jours. L'application de la polarisation cyclique a légèrement accéléré la croissance des agglomérats par rapport à la polarisation continue. Bien qu'une compacité d'environ 70-80% ait été mesurée pour toutes les conditions, des différences notables sur la composition chimique du dépôt calcomagnésien ont été observées. En écoulement, la calcite s'est avérée être la forme majoritaire allotropique de CaCO<sub>3</sub> au sein du dépôt alors qu'en immersion, l'aragonite et la calcite coexistent. L'aragonite est cependant retrouvée occasionnellement en écoulement sauf en présence de granulats recyclés. L'évolution du rapport Mg(OH)<sub>2</sub>/CaCO<sub>3</sub> indique une augmentation de la proportion de CaCO<sub>3</sub> dans le dépôt au fil du temps, en particulier avec des granulats recyclés sous polarisation continue et cyclique, atteignant rapidement un rapport de 1:1, à la fois en haut et en bas de la structure. En revanche, la présence de granulats naturels conduit à une prédominance excessive de brucite dans le DC, sur l'ensemble de la structure avec des rapports pouvant atteindre 15. Cette tendance est également constatée en immersion où la brucite prédomine en haut de la grille.

Il est ainsi évident que les granulats recyclés exercent un impact significatif sur la composition chimique du dépôt. Ils favorisent la précipitation de CaCO<sub>3</sub>, au sein du dépôt sous la forme calcite conduisant à un ratio 1:1. Cette influence est probablement due à la libération d'ions calcium et sulfate lors de leur lixiviation par l'eau de mer (voir **chapitre 3**). L'écoulement d'eau de mer favorise le processus de dissolution/précipitation par rapport à une immersion permanente où le renouvellement en Ca<sup>2+</sup> et Mg<sup>2+</sup> se fait uniquement par convection et diffusion. Bien que le volume d'agglomérat et la compacité soient élevés en immersion et en écoulement avec un squelette composé de granulats naturels, le dépôt est constitué d'une proportion importante de brucite par rapport à celui précipité en écoulement avec des granulats recyclés où le CaCO<sub>3</sub> est favorisé voire prédominant au sein du DC. La brucite étant poreuse et friable, augmenter la proportion du carbonate de calcium au sein du dépôt permettrait de contribuer au renfort mécanique de la structure.

L'application d'une polarisation cyclique a conduit à une compacité et un rapport Mg(OH)<sub>2</sub>/CaCO<sub>3</sub> similaire à une polarisation continue, mais avec une cinétique de croissance plus rapide. Ainsi, envisager une polarisation cyclique pour la formation de l'agglomérat pourrait être une option intéressante en termes d'efficacité énergétique et économique.

Finalement, l'association des granulats recyclés et du procédé électrochimique donne des résultats prometteurs quant à l'objectif ultime : crée une synergie positive avec les trois procédés

électrochimique, granulats recyclés et microbiologique pour la consolidation des aménagements littoraux partiellement émergés. Pour tendre vers cet objectif, les bactéries marines doivent être évaluées en termes de croissance et de capacité à bio-précipiter du  $\text{CaCO}_3$  en présence des granulats recyclés et du procédé électrochimique pour prétendre et envisager une association des souches au sein même du dispositif expérimental des agglomérats. Cette approche est détaillée dans le **chapitre 5**.

#### 4.6. Références

1. Alaric Zanibellato. Synthèse et études physico-chimiques d'un agglomérat calcomagnésien formé sur acier en milieu marin: un éco-matériau pour la protection du littoral. La Rochelle; 2016.
2. Lothenbach B, Durdzinski P, De Weerd K. Thermogravimetric analysis. A practical guide to microstructural analysis of cementitious materials. 2016;1:177-211.
3. Akamine K, Kashiki I. Corrosion Protection of Steel by Calcareous Electrodeposition in Seawater (Part 2): Mechanism of Growth. *Zairyo to Kankyo/ Corrosion Engineering*. janv 2002;51:496-501.
4. Deslouis C, Festy D, Gil O, Maillot V, Touzain S, Tribollet B. Characterization of calcareous deposits in artificial sea water by impedances techniques: 2-deposit of Mg(OH)<sub>2</sub> without CaCO<sub>3</sub>. *Electrochimica Acta*. 2000;45(11):1837-45.
5. Park JM, Lee MH, Lee SH. Characteristics and Crystal Structure of Calcareous Deposit Films Formed by Electrodeposition Process in Artificial and Natural Seawater. *Coatings* [Internet]. 2021;11(3). Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2079-6412/11/3/359>
6. Lee RU, Ambrose JR. Influence of Cathodic Protection Parameters on Calcareous Deposit Formation. *Corrosion*. déc 1988;44(12):887-91.
7. Barchiche C, Deslouis C, Festy D, Gil O, Refait P, Touzain S, et al. Characterization of calcareous deposits in artificial seawater by impedance techniques: 3—Deposit of CaCO<sub>3</sub> in the presence of Mg(II). *Electrochimica Acta*. 2003;48(12):1645-54.
8. Carré C, Zanibellato A, Jeannin M, Sabot R, Gunkel-Grillon P, Serres A. Electrochemical calcareous deposition in seawater. A review. *Environmental Chemistry Letters*. 1 juill 2020;18(4):1193-208.
9. Pillard W. Formulation des bétons ordinaires. Editions du moniteur. 2010;
10. Liu Z, Wang W, Wang J, Peng X, Wang Y, Zhang P, et al. Study of corrosion behavior of carbon steel under seawater film using the wire beam electrode method. *Corrosion Science*. 2014;80:523-7.
11. Tsuru T, Nishikata A, Wang J. Electrochemical studies on corrosion under a water film. *Materials Science and Engineering: A*. 1995;198(1):161-8.
12. Yamashita M, Nagano H, Oriani RA. Dependence of corrosion potential and corrosion rate of a low-alloy steel upon depth of aqueous solution. *Corrosion Science*. 1998;40(9):1447-53.
13. Refait P, Jeannin M, Sabot R, Antony H, Pineau S. Corrosion and cathodic protection of carbon steel in the tidal zone: Products, mechanisms and kinetics. *Corrosion Science*. 2015;90:375-82.
14. Duffy TS, Meade C, Fei Y, Mao HK, Hemley RJ. High-pressure phase transition in brucite, Mg(OH)<sub>2</sub>. *American Mineralogist*. 1995;80(3-4):222-30.
15. Gabrielli C, Jaouhari R, Joiret S, Maurin G, Rousseau P. Study of the Electrochemical Deposition of CaCO<sub>3</sub> by In Situ Raman Spectroscopy: I. Influence of the Substrate. *Journal of The Electrochemical Society*. juin 2003;150(7):C478.
16. Karoui H, Riffault B, Jeannin M, Kahoul A, Gil O, Amor MB, et al. Electrochemical scaling of stainless steel in artificial seawater: Role of experimental conditions on CaCO<sub>3</sub> and Mg(OH)<sub>2</sub> formation. *Desalination*. 2013;311:234-40.

17. Carré C, Gunkel-Grillon P, Serres A, Jeannin M, Sabot R, Quiniou T. Calcareous electrochemical precipitation, a new method to trap nickel in seawater. *Environmental Chemistry Letters*. 1 mars 2017;15(1):151-6.
18. Rousseau C, Baraud F, Leleyter L, Jeannin M, Gil O. Calcareous deposit formed under cathodic protection in the presence of natural marine sediments: A 12 month experiment. *Corrosion Science*. 2010;52(6):2206-18.
19. Karoui H, Korchef A, Tlili MM, Mosrati H, Gil O, Mosrati R. Effects of Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> and SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ions on the precipitation kinetics and microstructure of aragonite. In 2008. p. 123-34.
20. Goreau TJF. Marine Electrolysis for Building Materials and Environmental Restoration. In 2012. Disponible sur: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:129047385>
21. Carré C. Utilisation du dépôt calcomagnésien comme outil de décontamination de l'eau de mer. 2017.
22. Humble RA. Cathodic Protection of Steel in Sea Water With Magnesium Anodes. *Corrosion*. 1948;4:358-70.
23. Yan JF. Parametric Studies of the Formation of Calcareous Deposits on Cathodically Protected Steel in Seawater. In 2013.
24. Gartland PO, Bardal E, Andresen RE, Johnsen R. Effects of Flow on the Cathodic Protection of a Steel Cylinder in Seawater. *Corrosion*. mars 1984;40(3):127-33.
25. Colin B, Vincent J, Kozirowski L, Frein A, Lanneluc I, Sabot R, et al. Calcareous deposit formation under cathodic polarization and marine biocalcifying bacterial activity. *Bioelectrochemistry*. 2022;148:108271.
26. Zadi L. Mécanismes physico-chimiques impliqués dans la formation et l'évolution à l'abandon d'un matériau sédimentaire innovant généré en milieu marin par polarisation cathodique. [La Rochelle]: La Rochelle; 2022.
27. Carré C, Zanibellato A, Achgare N, Mahieux PY, Turcry P, Jeannin M, et al. Electrochemical limestone synthesis in seawater binds metal grids and sediments for coastal protection. *Environmental Chemistry Letters*. 1 sept 2020;18(5):1685-92.
28. Zamanzade M, Shahrabi T, Yazdian A. Improvement of corrosion protection properties of calcareous deposits on carbon steel by pulse cathodic protection in artificial sea water. *Anti-Corrosion Methods and Materials*. mars 2007;54:74-81.
29. Morse JW, Wang Q, Tsio MY. Influences of temperature and Mg:Ca ratio on CaCO<sub>3</sub> precipitates from seawater. *Geology*. janv 1997;25(1):85-7.
30. Sjöberg EL. Kinetics and mechanism of calcite dissolution in aqueous solutions at low temperatures [Internet] [PhD Thesis]. Stockholm University, Faculty of Science; 1978. (Stockholm contributions in geology). Disponible sur: <https://pubs.sub.su.se/65.pdf>
31. Gledhill D, Morse J. Calcite solubility in Na–Ca–Mg–Cl brines. *Chemical Geology*. oct 2006;233:249-56.
32. Buhmann D, Dreybrodt W. Calcite dissolution kinetics in the system H<sub>2</sub>O–CO<sub>2</sub>–CaCO<sub>3</sub> with participation of foreign ions. *Chemical Geology*. 1987;64(1):89-102.





## **Chapitre 5 : Etude de la bio-précipitation de CaCO<sub>3</sub> par les bactéries marines**



## **5. ETUDE DE LA BIO-PRECIPITATION DE $\text{CaCO}_3$ PAR LES BACTERIES MARINES 201**

<b>5.1. INTRODUCTION.....</b>	<b>201</b>
<b>5.2. VARIATION DE LA CROISSANCE BACTERIENNE SELON DIFFERENTS PARAMETRES DE CULTURE DANS LES MILIEUX DE CULTURE MB ET EDMN+.....</b>	<b>202</b>
5.3.1. MILIEU MB ET EDMN+	203
5.3.2. EFFET DE LA TEMPERATURE	206
5.3.3. EFFET DE L'UREE	207
<b>5.3. INFLUENCE DU <math>\text{CO}_2</math> SUR LA BIOCALCIFICATION : ETUDE DES MECANISMES ENZYMATIQUES</b>	<b>208</b>
5.3.1. EFFET DU $\text{CO}_2$ SUR LA CINETIQUE DE CROISSANCE BACTERIENNE ET DE LA PRODUCTION DE $\text{CaCO}_3$	208
5.3.2. INVESTIGATION SUR LES MECANISMES ENZYMATIQUES	214
5.3.2.1. Effet de l'uréase : cas de la souche CD6	214
5.3.2.2. Mise en évidence du rôle de l'anhydrase carbonique	217
<b>5.4. BIOCALCIFICATION ET GRANULATS RECYCLES.....</b>	<b>219</b>
5.4.1. EFFET D'UN LIXIVIAT DE GRANULATS RECYCLES SUR LA CROISSANCE BACTERIENNE ET LA PRODUCTION DE $\text{CaCO}_3$	220
5.4.2. EFFET DES GR SUR LA STRUCTURE DE $\text{CaCO}_3$	224
<b>5.5. BIOCALCIFICATION SOUS POLARISATION CATHODIQUE EN PRESENCE DE LIXIVIAT DE GR. 225</b>	
5.5.1. SUIVI DU pH ET DE LA CROISSANCE BACTERIENNE EN PRESENCE D'UN LIXIVIAT DE GR AVEC ET SANS POLARISATION CATHODIQUE	226
5.5.1.1. Croissance bactérienne	226
5.5.1.2. Suivi du pH	229
5.5.2. PRECIPITATION DU DEPOT CALCOMAGNESIEN	231
<b>5.6. CONCLUSION .....</b>	<b>234</b>
<b>5.7. RÉFÉRENCES.....</b>	<b>236</b>

## 5. Etude de la bio-précipitation de $\text{CaCO}_3$ par les bactéries marines

### 5.1. Introduction

Le dépôt calcomagnésien formé par électrochimie est principalement composé de  $\text{CaCO}_3$ . Ce minéral, largement répandu dans la biodiversité marine, peut également être induit par certaines bactéries marines via le processus de biominéralisation. En d'autres termes, la présence de ces bactéries marines biocalcifiantes pourraient interagir dans le milieu naturel avec le procédé électrochimique et influencer la cinétique de formation du dépôt calcomagnésien en accélérant ou du moins en initiant la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ .

La capacité de ces bactéries marines à promouvoir la précipitation de minéraux carbonatés peut être attribuée à plusieurs mécanismes enzymatiques impliquant entre autres, l'hydrolyse de l'urée catalysée par l'enzyme uréase et/ou l'action de l'enzyme anhydrase carbonique (AC) dans l'interconversion du  $\text{CO}_{2(\text{aq})}$  en  $\text{HCO}_3^-$ . Ces deux enzymes bactériennes peuvent coexister ou exister individuellement au sein d'une bactérie. Dans les deux cas, la précipitation de carbonate de calcium repose principalement sur une élévation du pH du milieu, favorisant ainsi un déplacement de l'équilibre calcocarbonique vers la formation d'ions carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) qui, par association avec les ions calcium fixés au niveau de la membrane cellulaire, entraîne la formation de  $\text{CaCO}_3$ .

Si l'hydrolyse de l'urée offre un taux de précipitation de  $\text{CaCO}_3$  élevée, son utilisation entraîne cependant la libération d'ammoniaque ( $\text{NH}_3$ ) et nécessite un apport régulier en urée. Dans ce contexte, l'interconversion du  $\text{CO}_2$  en  $\text{HCO}_3^-$  par l'AC représente une voie prometteuse qui mérite d'être explorée davantage, pour la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  mais aussi en ce qui concerne le piégeage du  $\text{CO}_2$ . Bien que mentionné dans la littérature (1–3), le rôle de l'AC dans la précipitation du  $\text{CaCO}_3$  via l'interconversion du  $\text{CO}_2$  et du  $\text{HCO}_3^-$ , n'a pas été solidement confirmé au moment de l'écriture de ce manuscrit. Dans le cadre de la formation d'un agglomérat calcomagnésien, l'utilisation de bactéries biocalcifiantes précipitant du  $\text{CaCO}_3$  par interconversion du  $\text{CO}_2$  atmosphérique offrirait une double opportunité ; d'une part, catalyser la précipitation du dépôt, et d'autre part, faciliter voire permettre le piégeage du  $\text{CO}_2$ .

Cependant, le processus de biocalcification est intimement dépendant de l'environnement où les bactéries marines sont confrontées. Le pH, la température, la concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  ou de manière général la composition chimique du milieu de croissance jouent un rôle crucial dans la croissance des bactéries ainsi que sur les mécanismes de bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  que ce soit en influençant l'activité enzymatique de l'anhydrase carbonique ou de l'uréase, ou en impactant les conditions de formation du minéral. En ce sens, la polarisation cathodique peut influencer le processus de biocalcification au voisinage de l'électrode du fait de l'élévation localisée du pH (voir **Chapitre 4**), qui peut impacter la croissance des bactéries et ainsi que leur capacité à bio-précipiter du  $\text{CaCO}_3$ . De même, les variations

des propriétés (pH/conductivité) et de la composition chimique (Ca, Mg, Al et Si) de l'eau de mer induites par la lixiviation des granulats recyclés (**cf. Chapitre 3**) peuvent également jouer un rôle au niveau du métabolisme bactérien.

L'ensemble de ces travaux de thèse consiste en l'association des trois procédés électrochimique, la valorisation des granulats recyclés et les bactéries marines biocalcifiantes afin d'évaluer si cette combinaison crée une synergie propice à la formation de l'agglomérat. Pour répondre à la problématique, nous avons entrepris une évaluation des paramètres qui pourraient influencer la croissance bactérienne et leur aptitude à bio-précipiter du  $\text{CaCO}_3$ . Cette évaluation a pris en compte des paramètres physico-chimiques tels que le pH, la température et la teneur en  $\text{CO}_2$  atmosphérique et au niveau de la composition des milieux de croissance. Pour cela, nous avons étudié la croissance de 4 bactéries marines biocalcifiantes (CD4, CD6, CD8 et CD10) dans deux milieux de culture distincts : le milieu Marine Broth (MB) et le milieu Eau de mer naturelle + bouillon nutritif (EDMN+). Rappelons que ces souches ont été sélectionnées à partir d'un panel de 14 souches en raison de la présence d'une activité enzymatique AC+ et, dans le cas de CD10 et CD6, aussi pour leur activité U+, ainsi que pour leur capacité biocalcifiante (voir **chapitre 2**).

Dans un second temps, notre attention s'est portée sur l'impact du  $\text{CO}_2$  dans le processus de bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  induit par les souches bactéries, où nous avons cherché à évaluer le rôle de l'AC et de l'uréase. Nous avons ensuite étudié le comportement des bactéries en présence de lixiviat de granulats recyclés en faisant varier la teneur en  $\text{CO}_2$  et enfin, quelques résultats préliminaires sur la synergie bactéries marines/polarisation cathodique avec et sans l'ajout de lixiviat de granulats recyclés (EL) sont présentés.

## 5.2. Variation de la croissance bactérienne selon différents paramètres de culture dans les milieux de culture MB et EDMN+

Dans les travaux de Vincent (4), la croissance bactérienne de ces quatre souches (CD4, CD6, CD8 et CD10) a seulement été testée dans leur milieu optimal à base de MB et pas directement dans l'eau de mer naturelle. Dans notre contexte où l'eau de mer constitue la matrice principale de l'ensemble de ces travaux de thèse, il est nécessaire d'étudier leur croissance dans un environnement proche des conditions réelles, à savoir le milieu EDMN+.

Les milieux de culture utilisés sont supplémentés de 25 mmol/L de  $\text{CaCl}_2$  soit une concentration de 2,5 fois supérieure à celle de l'eau de mer naturelle (10 mmol/L (5)). L'ajout de  $\text{CaCl}_2$  dans les milieux EDMN+ et MB amène donc à une concentration finale d'environ 35 mmol/L de  $\text{CaCl}_2$ . Cet ajout permet de fournir un apport conséquent en  $\text{Ca}^{2+}$  pour faciliter la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . Nous rappelons que le milieu EDMN+ est enrichi en Bouillon Nutritif (BN) à hauteur de 0,5 g/L.

Le choix d'utiliser le chlorure de calcium  $\text{CaCl}_2$  en tant que source de calcium se justifie par son efficacité à induire les cristaux de carbonate de calcium. À partir d'une étude comparative entre différentes sources de calcium, Seifan *et al.* (6) ont observé que le  $\text{CaCl}_2$  favorisait la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  par biominéralisation au détriment du nitrate de calcium ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ), du lactate de calcium ( $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{CaO}_6$ ) et de l'acétate de calcium ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{CaO}_4$ ). Enfin, l'utilisation du  $\text{CaCl}_2$  fait aussi référence aux expérimentations réalisées dans le cadre de la thèse de Vincent (4).

### 5.3.1. Milieu MB et EDMN+

La **Figure 5-1** illustre les cinétiques de croissance des souches CD4, CD6, CD8 et CD10 observées dans le milieu optimal MB et dans l'EDMN+, à 20°C et 30°C, accompagnées d'un suivi de pH au cours du temps d'incubation. Les expériences sont menées sans l'ajout d'urée. Faute de temps, la croissance des souches CD4 et CD8 n'est relevée que sur deux intervalles de temps à température ambiante, au début et à la fin de l'incubation.

Dans le milieu MB, nous constatons une croissance significative des souches CD6 et CD10 atteignant leur maximal en seulement 24h d'incubation, respectivement  $4.10^9$  et  $3.10^9$  UFC/mL. Cette phase exponentielle de croissance s'accompagne d'une légère acidification du milieu allant réciproquement de 7,3 et 7,1 à 6,9 pendant les 24 premières heures. Dans un milieu riche en ions calcium, Castro-Alonso *et al.* (7) suggèrent que l'acidification du milieu de culture pendant la biocalcification est due à une expulsion excessive de protons ( $\text{H}^+$ ) dans le milieu pour permettre l'entrée et l'accumulation d'ions calcium au niveau de la membrane cellulaire. La perte progressive de protons est ainsi compensée par l'entrée intracellulaire de  $\text{Ca}^{2+}$ .

Après 24h de croissance, la tendance du pH s'inverse pour les souches CD6 et CD10, ce qui se traduit par une alcalinisation progressive du milieu jusqu'à la fin de l'expérience. Cette augmentation du pH du milieu de culture témoigne de l'activité métabolique de chacune des souches, qui amène progressivement à une alcalinisation de leur environnement pour favoriser la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  (8). Cette alcalinisation s'accompagne simultanément d'une légère décroissance bactérienne, pour atteindre  $6.10^8$  UFC/mL pour CD10 et  $2.10^9$  UFC/mL pour CD6 après 7 jours d'incubation, ce qui signifie que les bactéries conservent un métabolisme actif durant les 7 jours d'incubation malgré le déclin progressif de la population bactérienne. Au bout de 7 jours d'incubation, le pH atteint 8 pour la souche CD10 contre 7,6 pour la CD6. Cet écart peut suggérer une activité enzymatique plus importante dans le cas de la souche CD10.

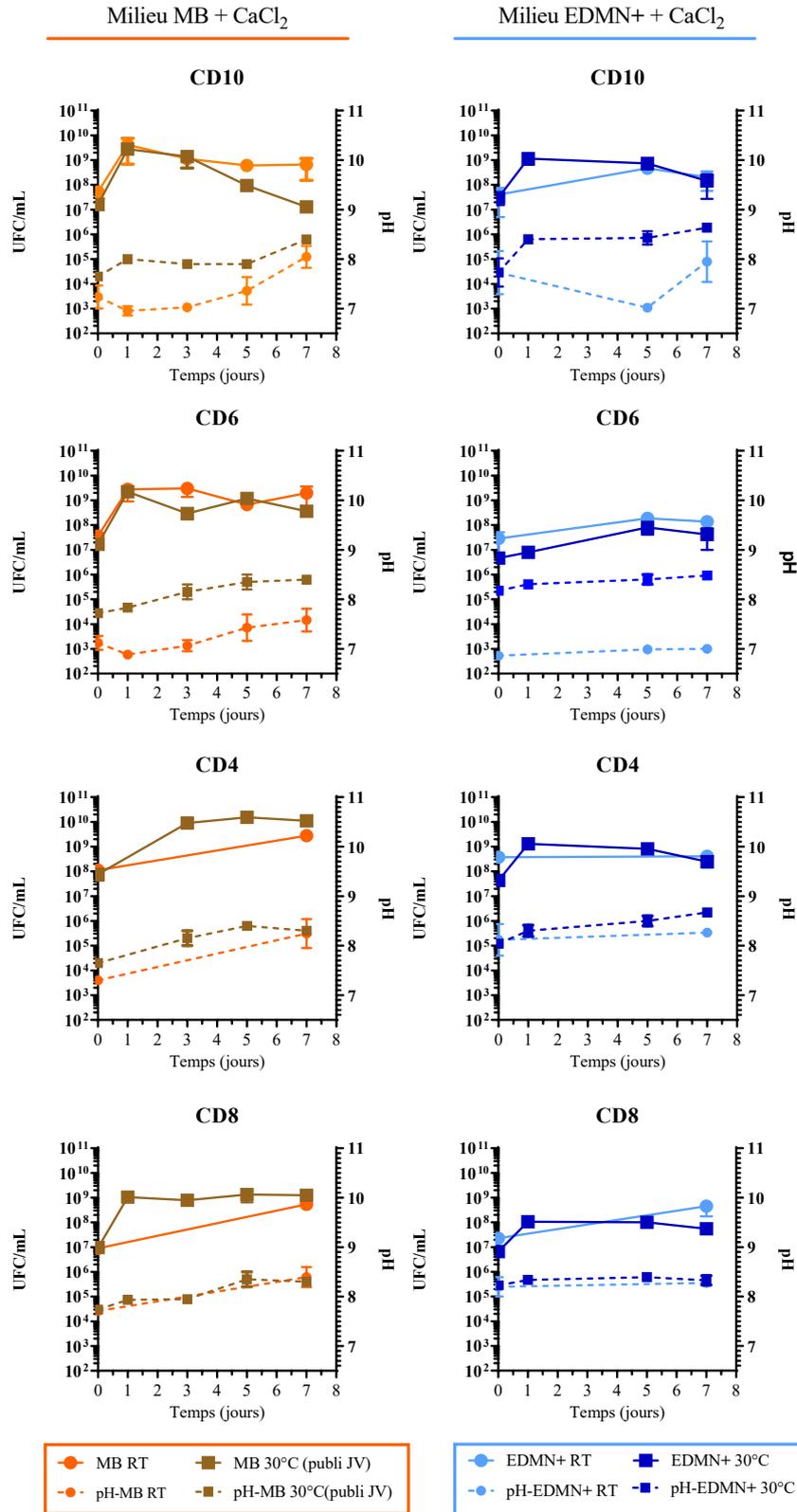


Figure 5-1: Croissance bactérienne et suivi pH des souches CD6, CD10, CD4 et CD8 dans le milieu MB et EDMN+ pendant 7 jours d'incubation à 20°C et 30°C. Les données à 30°C pour la croissance des bactéries en milieu MB sont tirées de la publication de Vincent (25). Au moins deux expériences indépendantes ont été menées pour l'ensemble des souches et pour chaque milieu, à l'exception de CD6 dans l'EDMN+ où seulement une expérience a été réalisée.

En ce qui concerne les souches CD4 et CD8, toutes deux uréases négatives, on remarque une alcalinisation du milieu pendant la durée de l'incubation ainsi qu'une augmentation de la population bactérienne entre 0 et 7 jours. Bien qu'il ne soit pas possible de suivre l'évolution de la croissance bactérienne et du pH au cours du temps (seulement deux mesures réalisées à  $t_0$  et  $t_7$  jours), on peut néanmoins noter des différences notables avec les souches CD6 et CD10. La souche CD4 atteint en 7 jours une concentration bactérienne supérieure à celle des autres souches en milieu MB, environ  $10^{10}$  UFC/mL. D'autre part, les valeurs de pH au début et à la fin de l'incubation sont plus élevées dans le cas des souches CD4 et CD8, allant réciproquement de 7,6 à 8,3 et 7,8 à 8,4, dans le milieu MB. Ces observations nous informent de deux choses : d'une part, que l'activité enzymatique bactérienne, notamment celle de l'anhydrase carbonique, est active et particulièrement fonctionnelle comme en témoigne l'alcalinisation significative du milieu MB, et d'autre part, que ces souches CD4 et CD8 sont des candidates potentielles à la biocalcification et à l'étude du rôle de l'anhydrase carbonique, en particulier la souche CD4 du fait de sa concentration bactérienne élevée à 7 jours en milieu MB.

En milieu EDMN+, milieu très pauvre en nutriments, les souches marines survivent mais semblent présenter des difficultés à se développer. En effet, nous remarquons que les concentrations bactériennes des souches, notamment CD6 et CD10, sont plus faibles d'un log qu'en milieu MB. . Ce constat est à ce stade difficilement vérifiable pour les souches CD4 et CD8 par l'absence de données à 24h d'incubation. On remarque cependant qu'à 7 jours, la concentration bactérienne de CD4 est sensiblement inférieure à celle observée dans le milieu MB mais similaire pour la souche CD8. Dans la littérature, de nombreuses études ont montré que la haute salinité de l'eau de mer, pouvait considérablement affecter la pression osmotique au niveau de la membrane cellulaire des bactéries et entraîner la mort des cellules (9–11) notamment à cause de la présence de  $\text{CaCl}_2$  (12). D'autres encore, observent un retard de croissance et un effet inhibiteur des ions présents dans l'eau de mer sur le métabolisme bactérien, notamment chez la souche terrestre *Sporosarcina Pasteurii* (13–17)). Néanmoins, cette hypothèse est difficilement transposable dans notre cas d'étude, car la salinité des milieux MB et EDMN+ est pratiquement identique. Il est, tout de même important de souligner une différence de concentration concernant les ions  $\text{Mg}^{2+}$  qui sont près de deux fois plus concentrés dans le milieu MB par rapport à l'EDMN+. En effet, la concentration dans le milieu MB est de 2,3 g/L (92 mmol/L), tandis que dans l'EDMN+ elle est de 1,32 g/L (54 mmol/L). Plusieurs auteurs ont rapporté l'effet du magnésium sur la croissance et la reproduction des bactéries dans le cadre de la MICP (en anglais : Microbial Induced Calcium Carbonate Precipitation) et constatent une augmentation de la croissance avec l'élévation de la concentration en Mg (18–21). Zhang Li *et al.* (19) observent un accroissement de la densité cellulaire, chez une bactérie Halophile et Gram-positif (espèce *Arthrobacter*), pour des concentrations en  $\text{Mg}^{2+}$  allant de 0,075 à 0,45 mol/L (1,8 à 10,9 g/L). Zhang *et al.* (18) ont étudié la croissance de la souche *Sporosarcina Pasteurii* dans deux milieux de culture (yeast extract) contenant chacun 0,25 mol/L de  $\text{Ca}^{2+}$  ou de  $\text{Mg}^{2+}$  et observent également une augmentation de la croissance bactérienne en présence de  $\text{Mg}^{2+}$ . Une autre différence notable entre les milieux MB et

EDMN+, réside dans les quantités de nutriments plus importantes dans le milieu MB. Avec 0,5 g/L de BN (20g/L de BN indiqué sur le flacon), le milieu EDMN+ est appauvri en nutriments (peptone) par rapport au milieu MB (0,25 g/L pour EDMN+ et 5g/L pour MB), lesquels sont nécessaires au développement cellulaire et la croissance des souches (17,22).

Pour les souches CD4 et CD8 en EDMN+, le phénomène d'alcalinisation n'est pas aussi marqué qu'en MB en raison du pH déjà élevé de l'eau de mer (pH=8) et de son effet tampon, rendant l'activité métabolique des bactéries moins perceptible. En revanche, l'évolution du pH pour la souche CD10 présente un comportement similaire à celle dans le milieu MB ce qui suggère que son métabolisme n'est pas affecté par la salinité de l'eau de mer. En ce qui concerne la souche CD6, l'évolution du pH semble constante même si l'on peut remarquer que le pH débute à 7, contre 8 généralement observé dans l'EDMN+. CD6 est la première souche à avoir été étudiée, il est possible que l'eau de mer utilisée ait été stockée plusieurs semaines et qu'elle se soit acidifiée sous l'effet prolongé du  $\text{CO}_2$  atmosphérique malgré un bidon fermé.

### 5.3.2. Effet de la température

A partir de ces résultats présentés sur la **Figure 5-1**, on constate que la croissance de l'ensemble des souches ne varie pas avec l'augmentation de la température. À contrario, nous remarquons que les valeurs de pH du milieu de croissance pour les souches CD10 et CD6 sont sensiblement plus élevées d'environ une unité pH à 30°C qu'à température ambiante et ce, peu importe le milieu de culture. En effet, le pH passe de 7 à 8 (CD10) voire 8,4 (CD6) en seulement 24h d'incubation puis sous l'action du métabolisme bactérien son maximum à environ 8,5 à 7 jours.

En se basant sur les données exposées dans la **Figure 5-1**, il est observé que le passage de 20 à 30°C ne semble pas engendrer un impact notable sur la croissance de toutes les souches dans les deux milieux de culture.

L'effet de la température sur l'activité enzymatique de l'uréase et l'AC a été démontré par plusieurs auteurs. Sharma *et al* (23) et Zheng et Qian (1) observent que l'activité de l'AC présente chez les bactéries (dans (23): espèces *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Shigella* et *Klebsiella*, et dans (1): espèces *Bacillus Mucilaginosus*) atteint son maximale à 30-35°C puis décroît. Quant à l'uréase, Imran *et al.* (24) remarquent qu'à 30°C, l'activité de l'uréase de souches isolées à partir de prélèvements de beachrocks (espèces *Pseudolateromonas*, *Virgibacillus* et *Micrococcus*), est optimale puis décroît graduellement pour des températures supérieures à 40°C. Ainsi, dans notre étude, l'élévation de la température à 30°C semble favoriser les activités enzymatiques, ce qui conduit à une alcalinisation plus marquée du milieu. En ce qui concerne l'activité de l'AC, des relevés complémentaires de pH entre 24h et 5 jours pour les souches CD4 et CD8, devraient permettre de confirmer cet effet (mesures non réalisées dans ces travaux, faute de temps).

On remarque également que la phase d'acidification observée à température ambiante à 24h n'est pas visible à 30°C. Cela peut résulter d'un phénomène cinétique dû à l'augmentation de la température, favorisant plus rapidement l'échange cationique entre les ions calcium et les protons au niveau de la membrane cellulaire.

### 5.3.3. Effet de l'urée

L'effet de l'urée, noté « U » dans les graphes a été étudié sur la souche CD6 (uréase positive) décrite comme ayant l'activité uréase la plus efficace (25). En plus de l'ajout de  $\text{CaCl}_2$ , les milieux MB et EDMN+ ont été supplémentés de 330 mmol/L d'urée. L'évolution de la croissance bactérienne et le suivi du pH pendant 7 jours d'incubation sont représentés sur la **Figure 5-2**. Des résultats obtenus par Vincent (25) pour le milieu MB + U à 30°C viennent compléter la figure à titre de comparaison.

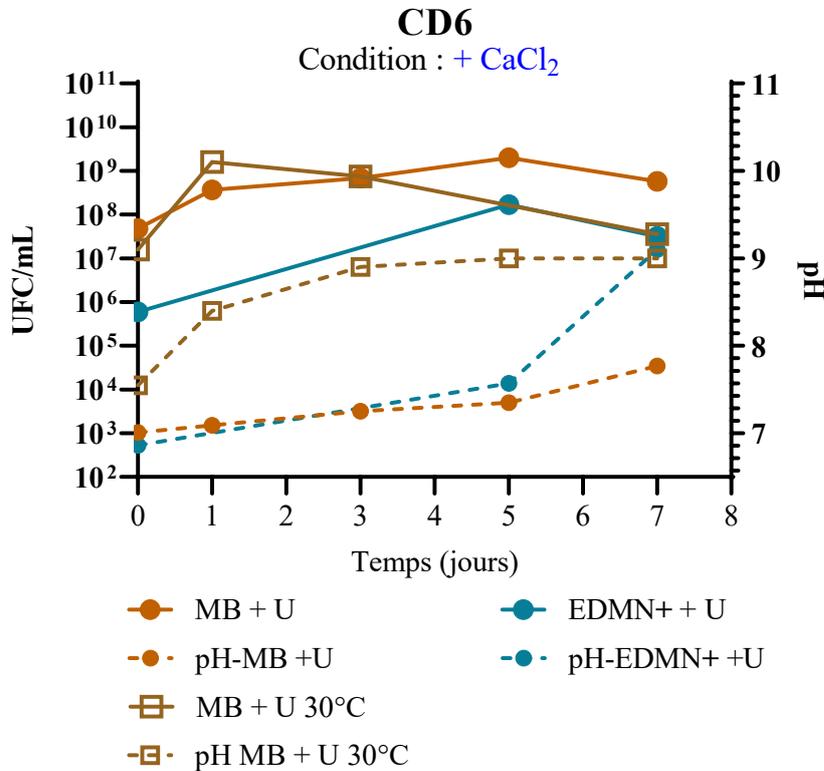


Figure 5-2 : Croissance bactérienne, suivi pH de la souche bactérienne CD6 en présence d'urée dans les milieux EDMN+ et MB . Seulement une expérience est réalisée à 20 et 30°C (données de (25)). Tous les milieux sont supplémentés en  $\text{CaCl}_2$ .

Que ce soit à température ambiante ou à 30°C, la présence d'urée ne semble pas influencer la croissance bactérienne de la souche CD6 dans l'EDMN+ ni dans le MB. En revanche, à température ambiante, nous remarquons qu'en présence d'urée, le pH tend vers des valeurs plus basiques dans le cas de l'EDMN+, avoisinant pH 9, ce qui n'est pas observé en milieu MB seul à 20°C. On peut supposer que l'apport de BN peut enrichir légèrement en urée, et donc faire intervenir l'enzyme uréase, car le BN est un milieu empirique dont on ne connaît pas parfaitement la composition chimique. Ce phénomène peut

témoigner d'une amélioration de l'activité de l'uréase en milieu EDMN+ soit en raison de la présence du bouillon nutritif ou du pH initial. Omoregie *et al.* (26) ont étudié l'activité de l'uréase d'une souche *Sporosarcina Pasteurii* dans différents milieux de culture dont une solution contenant du Marine Broth et une contenant du bouillon nutritif. Ils observent qu'à 25°C, l'activité de l'enzyme est plus importante dans le bouillon nutritif que dans le milieu Marine Broth. Quant au pH, Brice et Harisson (27) constatent que dans l'eau de mer artificielle, à 25°C, l'activité de l'uréase est à son maximum à pH 7,2, ce qui correspond aux valeurs de pH initiale du milieu EDMN+ dans notre étude.

L'effet de l'urée en milieu MB est cependant observable à 30°C se traduisant par une augmentation rapide du pH allant de 7,5 à 8,5 contre 7,2 à 20°C au bout de 24h d'incubation. Les pH finaux après 7 jours d'incubation sont respectivement 9 et 8. En incubant les bactéries à 30°C, l'activité de l'uréase pourrait être augmentée, favorisant ainsi l'activité métabolique des souches et donc leur croissance (28). Dans cette condition, l'hydrolyse de l'urée par l'enzyme uréase est davantage favorisée et conduit, via la libération d'ammoniaque à une alcalinisation rapide du milieu. Dans l'eau, l'ammoniaque ( $\text{NH}_3$ ) s'équilibre pour donner des ions ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) et des ions hydroxyde ( $\text{OH}^-$ ) selon l'Eq.5-1.



### 5.3. Influence du $\text{CO}_2$ sur la biocalcification : étude des mécanismes enzymatiques

#### 5.3.1. Effet du $\text{CO}_2$ sur la cinétique de croissance bactérienne et de la production de $\text{CaCO}_3$

Les souches CD4, CD6, CD8 et CD10 ont été incubées dans les milieux MB et EDMN+ à deux concentrations en  $\text{CO}_2$  : 0,04 % (atmosphère naturelle) - noté  $\text{CO}_{2\text{-atm}}$  et 3% - noté  $\text{CO}_{2\text{-3\%}}$ . L'effet du  $\text{CO}_2$  est étudié à partir de suivis de croissance bactérienne et de pH du milieu de culture des bactéries ainsi qu'à la quantification du  $\text{CaCO}_3$  précipité dans le milieu de culture à 7 jours d'incubation. La **Figure 5-3** présente les suivis de croissance, de pH et de quantité de  $\text{CaCO}_3$  bio-précipité dans les milieux (sans urée) MB et EDMN+ à  $\text{CO}_{2\text{-atm}}$  et  $\text{CO}_{2\text{-3\%}}$  pendant 7 jours d'incubation.



Dans un premier temps, nous constatons que les souches se sont développées dans un environnement plus concentré en  $\text{CO}_2$ , dans le milieu MB, mais survivent dans le milieu EDMN+. L'augmentation de la teneur en  $\text{CO}_2$  ne semble pas affecter leur vitesse de croissance pendant l'incubation. En effet, en présence de  $\text{CO}_2$  à 3%, les souches suivent la même cinétique de croissance qu'à 0,04%, excepté pour CD4 et CD8 en milieu respectif MB+ $\text{CO}_2$  et EDMN+ + $\text{CO}_2$  où la concentration bactérienne est légèrement plus faible à 7 jours.

En présence de 3%  $\text{CO}_2$ , les valeurs de pH sont sensiblement plus basses tout le temps de l'incubation qu'à atmosphère naturelle. Ce phénomène est particulièrement marqué pour les souches CD4 et CD8, où le pH n'excède pas 7,5 après 7 jours d'incubation à 3% de  $\text{CO}_2$  contre pratiquement 8,5 à  $\text{CO}_{2\text{-atm}}$ , que ce soit dans l'EDMN+ ou le MB. Cette acidification du milieu résulte de la dissolution du  $\text{CO}_2$  présent dans l'atmosphère, sous sa forme acide  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , ce processus étant davantage marqué lorsque la pression partielle en  $\text{CO}_2$  dans l'atmosphère est élevée ( $\text{CO}_{2\text{-}3\%}$ ) (**Figure 5-4**). Sans bactérie, cette acidification par la dissolution du  $\text{CO}_2$  a également été observé dans les milieux MB et EDMN+ où le pH passe de 8,2 à 7,7 et 8,6 à 7,5, respectivement au bout de 6 jours à  $\text{CO}_{2\text{-}3\%}$ .

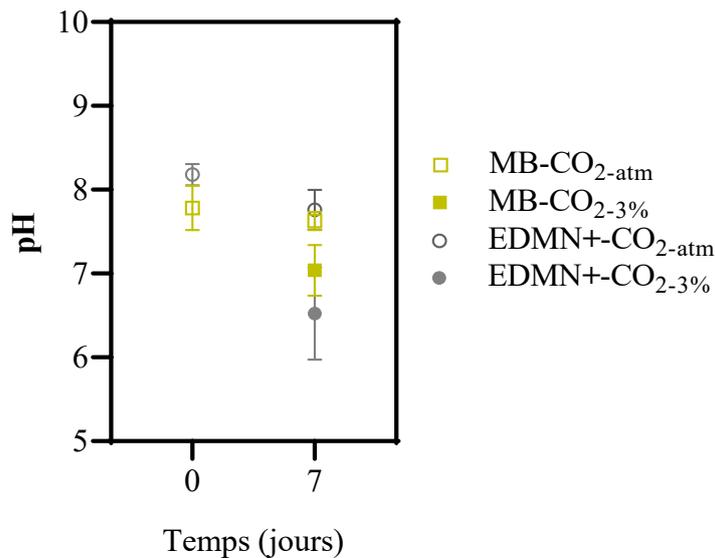


Figure 5- 4 : Evolution du pH dans les milieux MB et EDMN+ entre 0 et 7 jours à  $\text{CO}_{2\text{-atm}}$  et  $\text{CO}_{2\text{-}3\%}$ .

Cette corrélation a notamment été constatée par Labare *et al* (29) où ils ont pu observer que pour des teneurs en  $\text{CO}_2$  atmosphérique allant de 0 à 2% (0 à 2000 ppm), les valeurs de pH de l'eau de mer et d'un milieu contenant du Marine Broth (sans bactérie), diminuaient à mesure que la concentration en  $\text{CO}_2$  augmente pour finalement perdre une unité pH à 2%.

Au bout de 7 jours d'incubation, toutes les bactéries ont induit la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  que cela soit en milieu MB ou EDMN+ (**Figure 5-3**) ( $\text{CO}_{2\text{-atm}}$ ). La souche CD10 est la plus performante à température ambiante avec une production, dans le milieu MB, d'environ 1,1 mg/mL ; CD6 avec 1 mg/mL ; CD8 avec 0,8 mg/mL et enfin la souche CD4, la moins efficace avec seulement 0,4 mg/mL de  $\text{CaCO}_3$  produit

au bout de 7 jours. Cela dit, les productions de  $\text{CaCO}_3$  concorde avec celles obtenues par Vincent (4) à  $30^\circ\text{C}$  ( $\approx 0,5$  mg/mL).

Nous remarquons cependant que la quantité de  $\text{CaCO}_3$  précipitée est fortement diminuée en milieu EDMN+. Elle divisée par 3 pour CD10, CD4 et CD8 et jusqu'à un facteur de 10 dans le cas de CD6. La précipitation de  $\text{CaCO}_3$  ou la carbonatation des ions  $\text{Ca}^{2+}$  est thermodynamiquement défavorable dans l'eau de mer (30) en raison de la matière organique (31,32), du phosphate (32,33) et du magnésium (32,34). Si l'augmentation du pH à 8,2-8,4 par les bactéries facilite la précipitation du  $\text{CaCO}_3$  (35), le manque de nutriments dans le milieu EDMN+ peut affecter l'activité métabolique des souches et ainsi limiter l'alcalinisation du milieu et donc le processus de bio-précipitation. Certaines études démontrent également que de nombreuses bactéries marines (espèces : *Mycoplana*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Microoccus*, *Bacillus globisporus*...) ont besoin des ions  $\text{Mg}^{2+}$  pour survivre dans l'eau de mer, notamment pour maintenir leur environnement osmotique (36–39). Par conséquent, il est légitime de se poser la question de savoir si la concentration accrue de  $\text{Mg}^{2+}$  dans le milieu MB influence le mécanisme de bio-précipitation du  $\text{CaCO}_3$  en influençant l'activité métabolique des souches marines.

Les souches CD10 et CD8 produisent le plus de  $\text{CaCO}_3$  dans l'EDMN+ avec une quantité avoisinante 0,3 mg/mL suivi de CD4 puis CD6 avec moins de 0,1 mg/mL. Lorsque la température augmente à  $30^\circ\text{C}$  (en milieu MB), la quantité de  $\text{CaCO}_3$  induite par l'ensemble des souches augmente. À cette température, les activités enzymatiques semblent plus efficaces, notamment celle de l'AC, qui d'après Sharma *et al* (23) et Zheng *et al* (40) est optimale à  $30^\circ\text{C}$ , ce qui peut expliquer l'augmentation de  $\text{CaCO}_3$ . La souche CD6 est la plus performante à  $30^\circ\text{C}$ , avec plus de 1,5 mg/mL de  $\text{CaCO}_3$  produit. Elle est suivie de près par CD10 et CD8 puis CD4. Le fait que la souche CD8 produise davantage de  $\text{CaCO}_3$  que CD4 peut se justifier soit par la disponibilité des sites de nucléation à la surface de sa membrane pour accueillir les ions calcium (Gram+) soit parce qu'elle dispose d'une activité AC plus élevée. Quoiqu'il en soit, à  $20^\circ\text{C}$  ou  $30^\circ\text{C}$ , les souches CD6 et CD10 produisent systématiquement plus de  $\text{CaCO}_3$  dans le milieu MB que les souches CD4 et CD8. Or, CD6 et CD10 sont uréases positives et il est possible que le Marine Broth contienne un peu d'urée car il y a des constituants (comme les peptones ou extrait de levure) qui peuvent amener à la formation de l'urée. Ainsi, il est possible que l'activité enzymatique de l'uréase viennent se joindre à celui de l'AC (et d'autres activités enzymatiques) chez les souches CD6 et CD10, ce qui expliquerait pourquoi la production de  $\text{CaCO}_3$  est plus élevée par rapport à celle CD4 et CD8 dans le milieu MB.

La bio-production de  $\text{CaCO}_3$  par les souches bactériennes est significativement affectée par l'augmentation en  $\text{CO}_2$ . De fait, à 3% en  $\text{CO}_2$ , la production de  $\text{CaCO}_3$  a drastiquement chuté pour l'ensemble des souches avec une quantité n'excédant pas 0,1 mg/mL en milieu MB et quasiment nulle en milieu EDMN+. Nous établissons un lien évident entre cette baisse de  $\text{CaCO}_3$  bio-précipité et l'acidification des milieux. La **Figure 5-5** exprime l'évolution de la quantité de  $\text{CaCO}_3$  en fonction du pH, à  $\text{CO}_{2\text{-atm}}$  et  $\text{CO}_{2\text{-3\%}}$ .

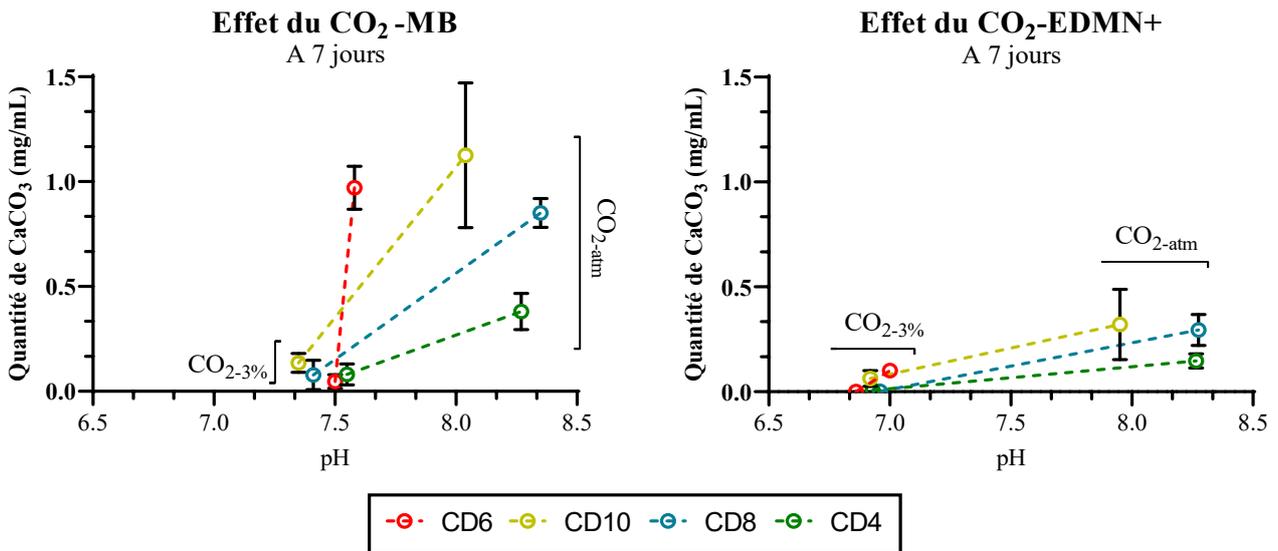


Figure 5-5 : Evolution de la production de  $\text{CaCO}_3$  induit par les quatre souches à 7 jours d'incubation en fonction du pH des milieux MB et EDMN+, à  $\text{CO}_{2\text{-atm}}$  et  $\text{CO}_{2\text{-3\%}}$ .

On peut facilement constater que l'acidification du milieu conduit à une inhibition de la production de  $\text{CaCO}_3$ . A  $\text{CO}_{2\text{-atm}}$ , les mécanismes enzymatiques conduisent à une alcalinisation du milieu, autour d'un pH de 8 à 8,5, ce qui favorise la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . En revanche, à 3% en  $\text{CO}_2$ , la dissolution excessive de  $\text{CO}_2$  en acide carbonique domine par rapport aux mécanismes enzymatiques et ce qui induit une acidification du milieu vers des valeurs pH inférieures à 7,5, où la précipitation du  $\text{CaCO}_3$  n'est plus favorable. La dissolution du  $\text{CO}_2$  acidifie l'EDMN+ jusqu'à atteindre un pH de 7, soit une demi-unité pH de moins qu'en milieu MB. Plusieurs études ont montré que l'ajout combiné d'une substance alcaline et de minéraux à base de  $\text{Ca}^{2+}$  améliorerait la capacité du  $\text{CO}_2$  à se dissoudre dans l'eau de mer (41–44). Ainsi, sous l'action combiné du métabolisme bactérien et de l'importante concentration en  $\text{Ca}^{2+}$ , il semblerait que la solubilité/dissolution du  $\text{CO}_2$  soit favorisée dans le milieu EDMN+ par rapport au milieu MB. Il en résulte en diminution plus importante du pH ce qui, en plus d'une croissance bactérienne inexistante en milieu EDMN+, expliqueraient la quasi-absence de  $\text{CaCO}_3$  à 3% en  $\text{CO}_2$ .

Au vu des résultats, nous supposons que la teneur en  $\text{CO}_2$  fixée à 3% était trop « agressive » sur le long terme pour permettre la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . A cet effet, nous avons réitéré les expériences en plaçant les souches CD10, CD4 et CD8 à 3% en  $\text{CO}_2$  seulement pendant les trois premiers jours d'incubation

puis à  $\text{CO}_2\text{-atm}$  jusqu'à la fin de l'incubation (7 jours) (expériences réalisées en duplicata). Néanmoins, aucune production de  $\text{CaCO}_3$  n'a été détectée pour l'ensemble des souches, excepté CD10 en milieu MB avec seulement 0,05 mg/mL de  $\text{CaCO}_3$ . Pourtant, les valeurs de pH dans les milieux EDMN+ et MB étaient sensiblement les mêmes que celles mesurées pour  $\text{CO}_2\text{-atm}$ , à 7 jours. Ces résultats sont inattendus car nous pensions qu'en abaissant la teneur moyenne en  $\text{CO}_2$ , le  $\text{CaCO}_3$  serait facilité, or malgré cette baisse et les valeurs de pH propices à sa précipitation, la production est même plus faible que pour une teneur plus élevée ( $\text{CO}_2\text{-3\%}$ ).

Toutefois, il serait tout de même intéressant de retenter avec une concentration en  $\text{CO}_2$  plus faible afin de vérifier si l'hypothèse selon laquelle la teneur en  $\text{CO}_2$  est un facteur déterminant dans la bio-précipitation du  $\text{CaCO}_3$ . Si telle est le cas, il serait alors envisageable d'ajuster la concentration en  $\text{CO}_2$  de manière à évaluer le rôle de l'anhydrase carbonique dans le processus de précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . Des analyses DRX ont été réalisées sur les échantillons à la fin des 7 jours d'expérimentation (ensemble du milieu de culture et des cellules récoltées et lyophilisées) pour déterminer la forme polymorphique du  $\text{CaCO}_3$ . En milieu MB, les biominéraux carbonatés se présentent essentiellement sous la forme de calcite magnésienne ( $\text{Ca}_x\text{Mg}_{(1-x)}\text{CO}_3$ ,  $x=0,06$  (fiche ICDD)), excepté pour la souche CD4 où l'on a détecté, en plus de la calcite magnésienne et de la calcite, un composé hydraté de  $\text{CaCO}_3$ , la monohydrocalcite ( $\text{CaCO}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ ). En milieu EDMN+, la souche CD6 a induit de la calcite magnésienne et de la calcite alors que la souche CD10 seulement de la calcite. La monohydrocalcite (MHC) a été détectée pour la souche CD6 en présence d'urée dans le milieu EDMN+.

C'est la première fois que nous détectons la présence de la monohydrocalcite, vis-à-vis de la souche CD4 et CD6 à  $\text{CO}_2\text{-atm}$  (25,45). Le diffractogramme présenté sur la **Figure 5-6** indique les composés carbonatés induits par la souche CD6 dans le milieu EDMN+ + Urée, à savoir la MHC et la calcite magnésienne.

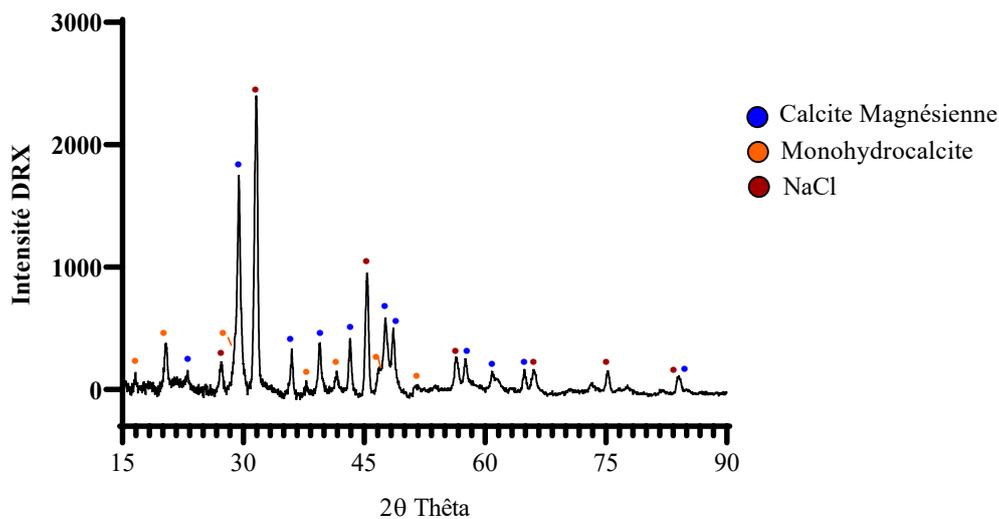


Figure 5-6 : Diffractogramme des biominéraux détectés et induits par la souche CD6 dans le milieu EDMN+ + Urée.

La formation de MHC est propice aux environnements alcalins à haute salinité et se retrouve dans certains beach-rocks, des sédiments marins ou dans des lacs salés (46–49). Si la MHC fait également partie des polymorphes de  $\text{CaCO}_3$  induit par biocalcification (2,50–52), elle reste cependant moins commune que la calcite, la calcite magnésienne ou l'aragonite. De plus, elle est préférentiellement induite par des bactéries halophiles ou anaérobies (51–53) et dans notre cas, par la souche CD4 *Epibacterium mobile* (anaérobie facultative (4)). Cette forme polymorphique du  $\text{CaCO}_3$  est considérée instable par rapport à l'aragonite et la calcite (46,48,54). En revanche, il est généralement admis que la (bio)précipitation de cristaux de  $\text{CaCO}_3$  est précédée d'une succession d'étapes intermédiaires impliquant la précipitation de carbonate de calcium amorphe (amorphous calcium carbonate (ACC)) et de la monohydrocalcite (MHC) (50,53,55–58). La MHC est souvent considérée comme un minéral intermédiaire dans la précipitation de nanocristaux de calcite (53,55,59) et/ou d'aragonite (54,60,61). Plusieurs études ont d'ailleurs mis en évidence que la formation de la MHC nécessite une haute concentration en  $\text{Mg}^{2+}$  (60–62) et  $\text{CO}_3^{2-}$  (63) ainsi qu'un réseau de biomacromolécules tels que des polysaccharides et des protéines extracellulaires, en particulier des protéines riches en acide aspartique (64–67). Pour les souches CD4 (*Epibacterium mobile*) et CD6 (*Virgibacillus halodenitrificans*), la présence de  $\text{CaCO}_3$  hydraté peut symboliser une étape intermédiaire dans la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  anhydre d'autant que plusieurs observations géologiques ont révélé que la MHC est généralement associée à d'autres composés carbonatés comme la calcite magnésienne (47,68,69). Mise à part les résultats de Vincent (4,25), la capacité biocalcifiente des espèces *Epibacterium mobile* (souche CD4) n'a jamais été étudiée à notre connaissance ce qui limite la comparaison avec d'autres résultats. En ce qui concerne les espèces *Virgibacillus* (souche CD6), Rim *et al.* (2) ont également observé la MHC alors que Imran *et al.* (24) trouvent de la calcite (milieu de culture à base de milieu solide bactériologique ZoBell 2216 et d'EDMA) .

### 5.3.2. Investigation sur les mécanismes enzymatiques

#### 2.6.3.11. 5.3.2.1. Effet de l'uréase : cas de la souche CD6

L'hydrolyse de l'urée par l'enzyme uréase est la voie enzymatique la plus utilisée et étudiée pour bio-précipiter du  $\text{CaCO}_3$ . Dans cette étude, le rôle de l'uréase sur la production de  $\text{CaCO}_3$  a été étudié à travers la souche CD6 (uréase positive) en supplémentant les milieux MB et EDMN+ de 330 mmol/L d'Urée (U) en plus du  $\text{CaCl}_2$ . Comme précédemment, un suivi de la croissance, du pH et de la production de  $\text{CaCO}_3$  est réalisé à 1, 3, 5 et 7 jours d'incubation, pour le milieu MB et seulement 5 et 7 jours pour le milieu EDMN+, à  $\text{CO}_2\text{-atm}$  et  $\text{CO}_2\text{-3\%}$ . La croissance bactérienne est présentée à la **Figure 5-7** et les suivis de pH et la quantification de  $\text{CaCO}_3$  à la **Figure 5-8**.

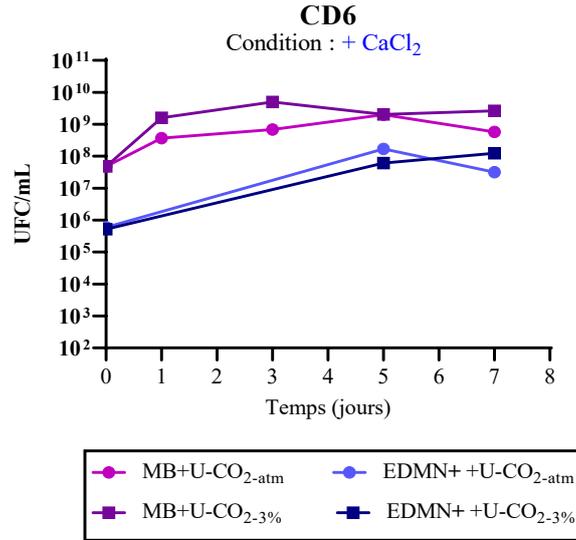


Figure 5-7: Croissance bactérienne de la souche CD6 pendant 7 jours d'incubation dans les milieux MB et EDMN+ à  $\text{CO}_{2-atm}$  et  $\text{CO}_{2-3\%}$ . Une expérience réalisée.

En ce qui concerne la croissance, il est possible de constater que l'augmentation du  $\text{CO}_2$ , n'a exercé aucune influence sur la croissance de la souche CD6.

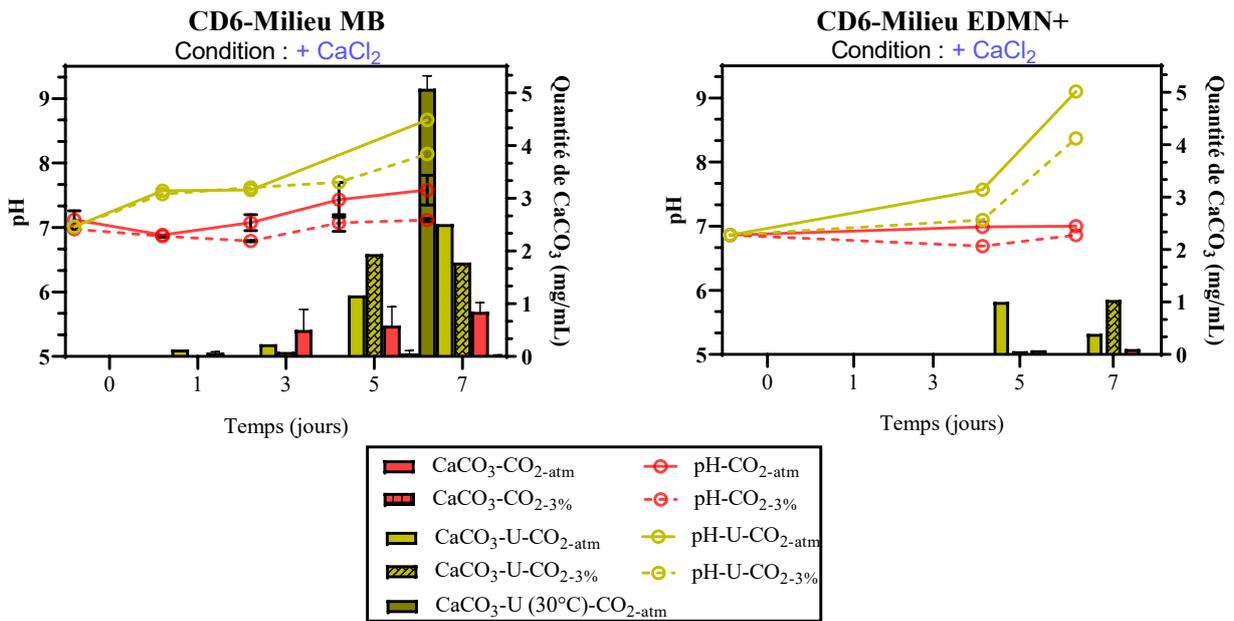


Figure 5-8 : Suivi du pH et de la production de  $\text{CaCO}_3$  par la souche CD6 pendant 7 jours d'incubation dans les milieux liquides suivants : MB, MB+U, EDMN+ et EDMN++U à  $\text{CO}_{2-atm}$  et  $\text{CO}_{2-3\%}$  et MB+U à  $30^\circ\text{C}$  (4).

Nous remarquons que l'ajout d'urée favorise l'alcalinisation du milieu dès le début de l'incubation pour atteindre des valeurs de pH supérieures à 8 contre 7-7,5 en l'absence d'urée à 7 jours. On peut attribuer cet effet à l'action de l'uréase sur l'hydrolyse de l'urée qui conduit à la libération d'ammonium et d'hydroxyde. Par ailleurs, l'augmentation du pH est associée à l'augmentation de la production de  $\text{CaCO}_3$ , notamment à 7 jours en milieu MB, où la quantité est pratiquement 2,5 fois supérieure avec

l'urée. Notons aussi que la production de  $\text{CaCO}_3$  augmente avec la durée d'incubation et semble corrélée avec l'élévation progressive du pH. Sans surprise, à 3% en  $\text{CO}_2$ , la dissolution du  $\text{CO}_2$  vient contrebalancer l'alcalinisation induite par le métabolisme bactérien ce qui limite la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . A ce sujet, on peut néanmoins constater qu'à 5 jours en milieu MB et 7 jours en milieu EDMN+, la tendance s'inverse. La quantité de  $\text{CaCO}_3$  produite est supérieure à celle obtenue dans les conditions atmosphériques. En milieu EDMN+, l'augmentation du pH au-dessus de 9 peut considérablement affecter l'activité de l'uréase comme l'ont observé Imran *et al.* (28) et Fujita *et al.* (70) où ils constatent une nette diminution de l'activité de l'uréase au sein de bactéries marines (espèces respectives : *Virgilbacillus* et *Pararhodobacter*) dans l'eau de mer artificielle à pH 9. Stocks-Fisher *et al.* (9) remarquent également une chute de près de 50% de l'activité de l'uréase de *Sporosarcina Pasteurii* à pH 9. En ce qui concerne le milieu MB, on peut soupçonner l'action combinée de l'anhydrase carbonique, qui par interconversion du  $\text{CO}_2$  en  $\text{HCO}_3^-$ , favorise la production de  $\text{CaCO}_3$ . Puisque l'activité de l'uréase est plus élevée à 30°C et que l'hydrolyse de l'urée apporte une source de  $\text{CO}_3^{2-}$  supplémentaire par libération du  $\text{CO}_2$ , la production de  $\text{CaCO}_3$  en présence d'urée est favorisée par rapport à température ambiante. Elle atteint 5 mg/mL à 7 jours. Une autre variable à considérer est la concentration en ions magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ). Nous avons noté que le milieu MB contient presque deux fois plus d'ions  $\text{Mg}^{2+}$  que le milieu EDMN+. À ce propos, l'étude menée par Sun et Miao (71) sur la souche *Sporosarcina Pasteurii* a démontré une augmentation de l'activité de l'uréase pour des concentrations en  $\text{MgCl}_2$  allant de 0 à 1,5 mol/L (correspondant à 29 g/L de  $\text{Mg}^{2+}$ ).

L'activité de l'uréase dans la souche CD6 peut être observée dans la **Figure 5-9** qui montre les valeurs de pH à 6 jours du milieu MB seul (Témoin MB) et du milieu MB auquel nous avons indépendamment rajouté de l'urée (330 mmol/L) (Témoin MB + U), la souche bactérienne (MB + CD6) et l'association bactéries et urée (MB + CD6 + U). L'ajout d'urée seule conduit à une alcalinisation du milieu MB par libération d' $\text{OH}^-$  et de  $\text{NH}_4^+$  (**Eq.5-1**) (72). Même constat pour la souche CD6, qui par l'action de son métabolisme enzymatique, induit une augmentation du pH allant de 7,7 à environ 8,4, comme nous l'avons vu précédemment. L'association de la souche CD6 et de l'urée conduit à une élévation plus forte du pH (jusqu'à 9,3) sous l'effet de l'hydrolyse de l'urée par l'uréase.

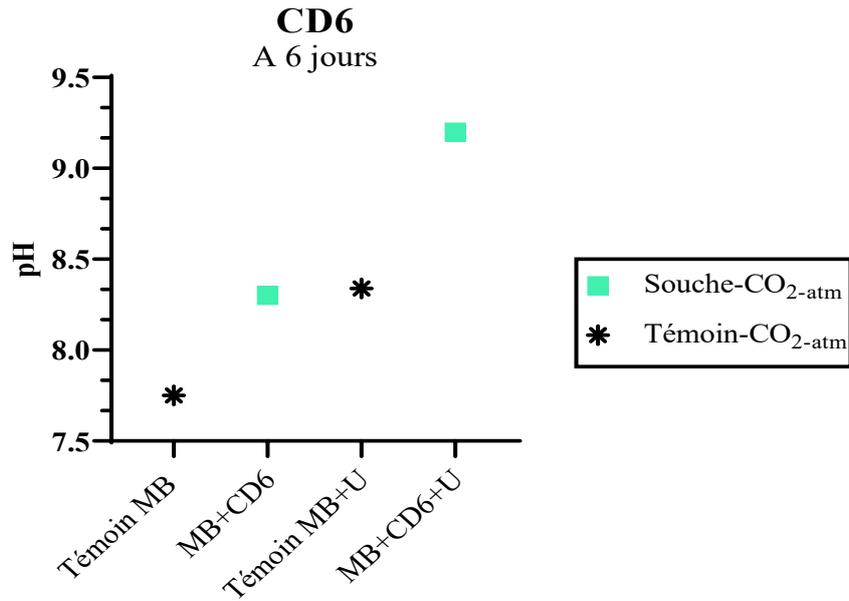


Figure 5-9 : Valeurs de pH à 6 jours du milieu MB seul (Témoin MB), du milieu MB additionné d'urée (Témoin MB + U), du milieu MB additionné de la souche bactérienne (MB + CD6) et du milieu MB avec l'association bactéries et urée (MB + CD6 + U).

#### 2.6.3.12. 5.3.2.2. Mise en évidence du rôle de l'anhydrase carbonique

Le mécanisme enzymatique faisant intervenir l'anhydrase carbonique dans l'interconversion du  $\text{CO}_2$  dissous en  $\text{HCO}_3^-$  est une alternative intéressante à l'hydrolyse de l'urée pour bio-précipiter du  $\text{CaCO}_3$ . Les avantages de son utilisation sont multiples. Il permettrait non seulement d'éviter la libération d'ammoniaque mais aussi de contribuer à la captation du  $\text{CO}_2$  en l'ionisant sous la forme de  $\text{HCO}_3^-$ . Les études démontrant factuellement l'action de l'anhydrase carbonique sur l'interconversion du couple  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  restent limitées à ce jour.

Pour mettre en avant le rôle de l'anhydrase carbonique sur l'interconversion du couple  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ , nous avons voulu regarder de plus près les variations de pH des milieux MB et EDMN+ induites par les quatre bactéries biocalcifiantes étudiées avec et sans régulation du  $\text{CO}_2$  en comparant avec des témoins sans bactérie. La **Figure 5-10** résume les valeurs de pH relevées au bout de 7 jours dans les milieux MB et EDMN+ avec et sans la présence des bactéries à  $\text{CO}_{2\text{-atm}}$  et  $\text{CO}_{2\text{-3\%}}$ .

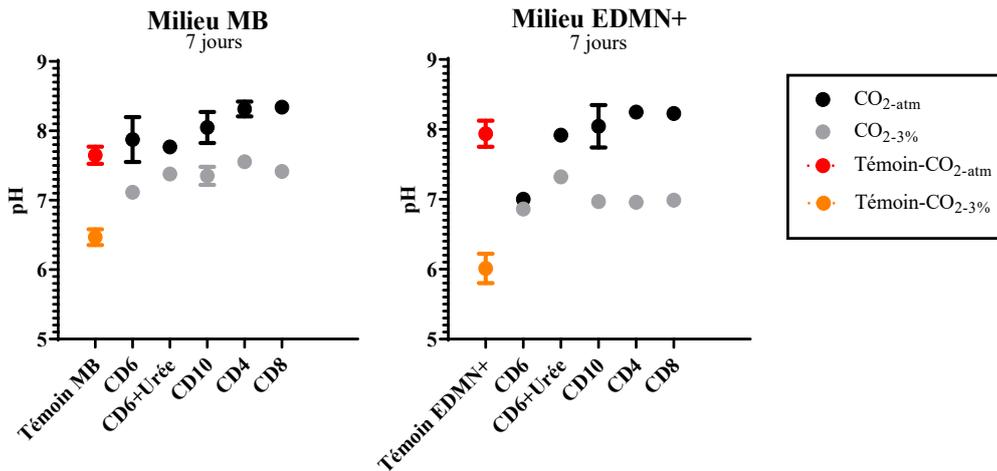


Figure 5-10 : Valeurs de pH à 7 jours des milieux MB et EDMN+ pour les souches CD6, CD6 + Urée, CD10, CD4 et CD8 à  $\text{CO}_2\text{-atm}$  et  $\text{CO}_2\text{-3\%}$ .

En l'absence de bactéries, les milieux MB et EDMN+ sont affectés par la dissolution du  $\text{CO}_2$ . Le pH passe respectivement de 7,6 à 6,4 et de 7,9 à 6. L'ajout des souches marines se caractérise par un effet régulateur du pH. En effet, à  $\text{CO}_2\text{-3\%}$ , les bactéries contrebalancent cette acidification en augmentant le pH d'une demie à une unité. À pression atmosphérique, les variations de pH induites par les souches sont moins marquées. Les souches, en particulier CD4 et CD8, entraînent une légère augmentation du pH des milieux MB et EDMN+.

Les causes de ces variations de pH peuvent être multiples en raison de la complexité du métabolisme bactérien et des divers mécanismes enzymatiques. Cependant, la régulation du pH induite par les bactéries à  $\text{CO}_2\text{-3\%}$  suppose l'action de l'anhydrase carbonique, qui par interconversion du  $\text{CO}_2$  dissous ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) en  $\text{HCO}_3^-$  via son site actif  $\text{En-ZnOH}^-$ , réduit l'acidité du milieu environnant pour permettre la stabilité des ions bicarbonates. Les souches CD4 et CD8, bien qu'uréase négative, induisent une augmentation du pH du milieu qui est davantage marquée à haute teneur en  $\text{CO}_2$ , ce qui laisse supposer une action de leur anhydrase carbonique. La synergie entre l'uréase et l'AC se remarque pour les souches CD10 et CD6, toutes deux uréase et AC positive. En l'absence d'urée, ces souches, tout comme CD4 et CD8, alcalinisent le milieu ce qui suggère l'action de l'AC. En revanche, l'ajout d'urée pour CD6 induit une alcalinisation plus importante du milieu sous l'effet de l'hydrolyse de l'urée par l'uréase. On peut suggérer dans ce cas que les mécanismes enzymatiques de l'uréase et de l'AC sont combinés. Avec seulement le mécanisme enzymatique de l'AC, l'hydratation du  $\text{CO}_2$  conduit à une augmentation de la concentration en ions bicarbonate  $\text{HCO}_3^-$  et donc du fait de l'équilibre calco-carbonique, il y a augmentation de la concentration en  $\text{CO}_3^{2-}$ . Cependant, l'eau de mer est sursaturée en ions  $\text{CO}_3^{2-}$ , ce qui limite la transformation de  $\text{HCO}_3^-$  en  $\text{CO}_3^{2-}$  et donc conduit à une faible quantité de  $\text{CaCO}_3$ . A l'inverse, l'action de l'urée agit directement sur le pH de l'eau de mer ce qui amène, par alcalinisation du milieu, à une déionisation de tous les  $\text{HCO}_3^-$  en  $\text{CO}_3^{2-}$ , et donc une précipitation plus importante de  $\text{CaCO}_3$ .

#### 5.4. Biocalcification et granulats recyclés

Les bactéries biocalcifiantes sont de plus en plus utilisées pour restaurer les bâtiments en béton sans nécessiter l'intervention humaine. Elles peuvent par exemple permettre une cicatrisation des fissures du béton en produisant du carbonate de calcium qui vient se loger entre les grains. La voie enzymatique impliquant l'hydrolyse de l'urée est, dans ce cas de figure, la plus employée en raison de son haut rendement en  $\text{CaCO}_3$  (73), comme vu précédemment. Les bénéfices apportés par les bactéries uréolytiques sur l'auto-cicatrisation du béton font l'objet de nombreuses études (74–78). Outre le milieu de culture et la technique d'incorporation, le pouvoir cicatrisant de ces bactéries est cependant limité par l'environnement fortement alcalin ( $\text{pH} > 12$ ) régnant à l'intérieur du béton du fait de la présence de l'hydroxyde de calcium ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) (74,77,79). Dans de telles conditions, la viabilité des bactéries est considérablement affectée notamment pour des temps d'exposition longs (80,81). L'incorporation des bactéries au sein du béton est généralement réalisée au moyen de biofilm, de gel (silice), de capsule, de composés porteurs (carrier compounds) ou directement introduites (82–86). Pour l'ensemble des techniques, les bactéries sont la plupart du temps cultivées en amont dans des milieux de culture qui leur sont propices pour maximiser leur concentration cellulaire. Certaines sont aussi testées à pH basique ( $\text{pH} < 10$ ) pour évaluer leur résistance aux environnements alcalins. Dans notre cas, les bactéries marines sont directement incubées dans des milieux chimiquement modifiés par lessivage des matériaux recyclés à haute proportion de matériaux à matrice cimentaire (Rc) pour se rapprocher au mieux des conditions réelles. Les résultats obtenus sur leur viabilité et leur production de  $\text{CaCO}_3$  devraient permettre, *in fine*, d'envisager des techniques d'incorporation au sein des granulats recyclés dans le cadre de la formation d'agglomérat calcomagnésien.

Dans le **chapitre 3**, nous avons montré que les granulats recyclés réagissent chimiquement dans l'eau de mer. Cette réactivité principalement issue de la dissolution des hydrates contenus dans les matériaux à matrice cimentaire (Rc) se traduit par des modifications de la composition chimique de l'eau de mer. La libération d'ions calcium, de silicium sous la forme de dioxyde de silice ( $\text{SiO}_2$ ), d'aluminium (complexe d'aluminium) et probablement de sulfates dissous, amène à une élévation de la concentration ionique de l'eau de mer.

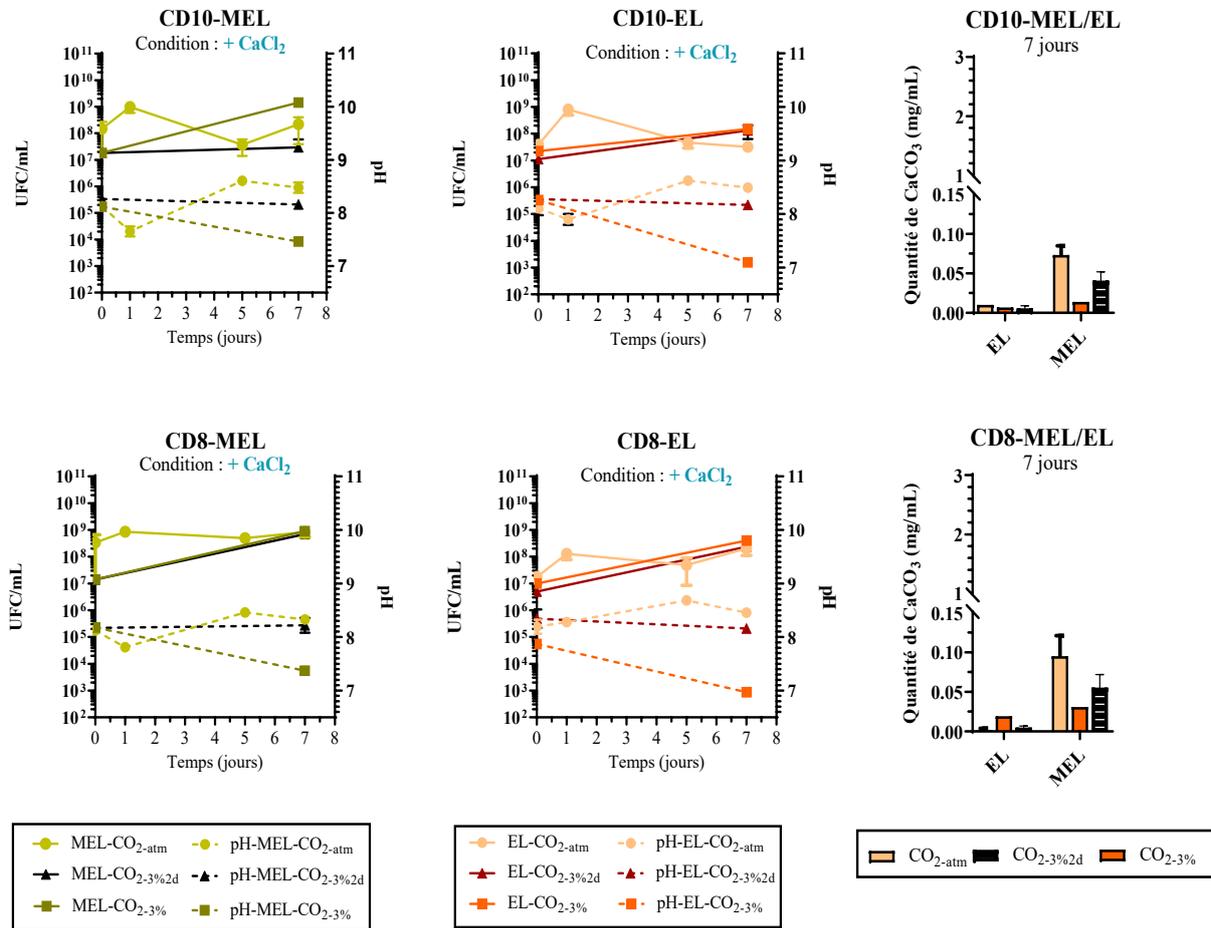
Dans ce contexte, l'association de bactéries marines et de granulats recyclés semble intéressante pour la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  en raison de l'apport supplémentaire de  $\text{Ca}^{2+}$  fourni par les Rc mais aussi de l'environnement moins agressif des GR ( $\text{pH} < 9$ ) du fait d'une longue période de carbonatation.

Dans cette étude, nous nous sommes donc intéressés à la viabilité des bactéries marines biocalcifiantes en contact avec un lixiviat de granulats recyclés, avec et sans régulation de  $\text{CO}_2$ , ainsi que leur capacité à produire du  $\text{CaCO}_3$ . Au vu des résultats précédents et des objectifs de la thèse, nous avons sélectionné les souches CD4 (*Epibacterium mobile*) et CD8 (*Planococcus maritimus*) pour privilégier la voie enzymatique de l'anhydrase carbonique. La souche CD10 (*Pseudoalteromonas*) a également été choisie

(au détriment de CD6) en raison de son efficacité à produire du  $\text{CaCO}_3$  dans le milieu MB (gardons tout de même à l'esprit que le MB puisse contenir de l'urée) et EDMN+ sans l'addition d'urée.

### 5.4.1. Effet d'un lixiviat de granulats recyclés sur la croissance bactérienne et la production de $\text{CaCO}_3$

Pour rappel, le lixiviat de granulats recyclés correspond à une solution d'eau de mer filtrée (porosité du filtre =  $0,20\mu\text{m}$ ) dans laquelle ont été lessivés des granulats recyclés pendant 15 minutes. A ce lixiviat est ajouté 25 mmol/L de  $\text{CaCl}_2$  et de 0,5 g/L de BN (Milieu EL) et 40,2 g/L de MB (Milieu MEL). En plus des teneurs en  $\text{CO}_2$  à 0,04% ( $\text{CO}_{2\text{-atm}}$ ) et 3% ( $\text{CO}_{2\text{-3\%}}$ ) pendant 7 jours d'incubation à  $20^\circ\text{C}$ , les souches ont été soumises à 3% en  $\text{CO}_2$  pendant seulement 48 heures ( $\text{CO}_{2\text{-3\%}2\text{d}}$ ) puis maintenues à  $\text{CO}_{2\text{-atm}}$  jusqu'à 7 jours d'incubation, à cause d'un problème technique (fuite de gaz). Les suivis de croissance des bactéries, du pH et de la production de  $\text{CaCO}_3$  dans les différents milieux sont présentés dans la Figure 5-11.



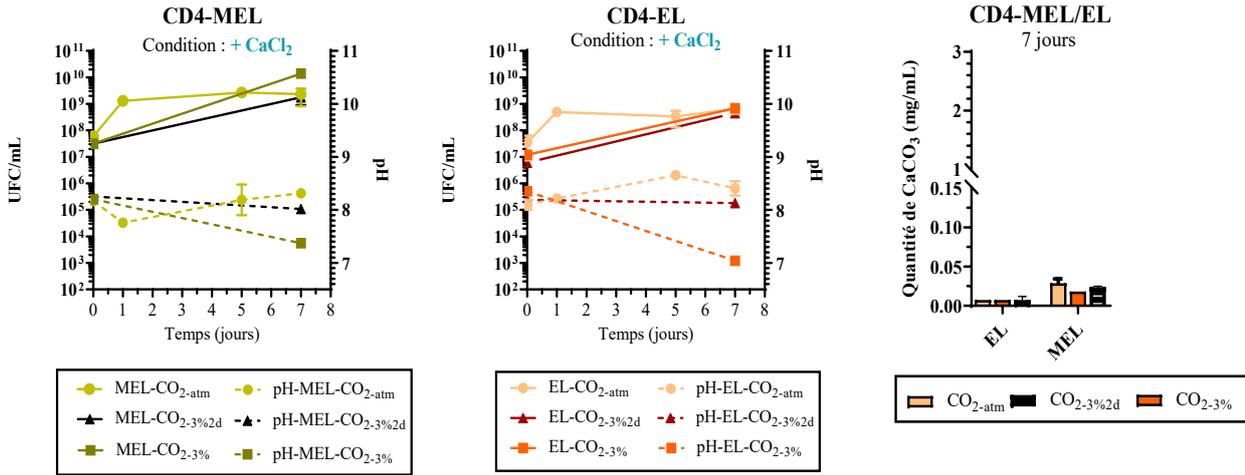


Figure 5-11 : Croissance bactérienne, suivi du pH et quantification du  $\text{CaCO}_3$  pendant 7 jours d'incubation pour les souches CD4, CD8 et CD10 dans les milieux MEL et EL, à  $\text{CO}_2\text{-atm}$ ,  $\text{CO}_2\text{-3}\%2\text{d}$  et  $\text{CO}_2\text{-3}\%$ . Trois expériences indépendantes ont été menées pour l'ensemble des souches, pour chaque milieu et chaque teneur en  $\text{CO}_2$ .

On constate, qu'en présence de lixiviat de granulats recyclés, toutes les souches se développent à atmosphère naturelle ( $\text{CO}_2\text{-atm}$ ). L'évolution de la concentration cellulaire se symbolise par une phase de croissance exponentielle pendant 24h (avec une augmentation entre 1 et 1,5 unité log) puis une phase stationnaire sur 7 jours à l'exception de la souche CD10 où l'on remarque une phase de déclin. La phase stationnaire signifie que la multiplication des cellules bactériennes compense celles qui meurent. Pour l'ensemble des souches, le pH ainsi que la croissance suivent une évolution semblable à celles rencontrées pour les milieux MB et EDMN+, (en termes de log10), à  $\text{CO}_2\text{-atm}$ , ce qui signifie que les métabolismes enzymatiques ne sont pas perturbés par le milieu environnant.

De plus, la multiplication cellulaire des bactéries n'est pas inhibée par l'élévation à 3% de la concentration en  $\text{CO}_2$  malgré l'acidification causée par sa dissolution. Au contraire, si nous regardons les concentrations cellulaires des souches CD4 et CD10 en milieu MEL à 7 jours, nous pouvons remarquer qu'elles sont légèrement supérieures sous  $\text{CO}_2\text{-3}\%$ . Même si les souches ont été soumises à 3% de  $\text{CO}_2$  pendant 48 heures, les mécanismes enzymatiques ont compensé l'acidification temporaire du  $\text{CO}_2$  en alcalinisant le milieu. Pour CD4, le pH à 7 jours est de 8,01 pour  $\text{CO}_2\text{-3}\%2\text{d}$  contre 7,37 pour  $\text{CO}_2\text{-3}\%$  dans le milieu MEL et de 8,13 contre 7,04 dans le milieu EL. Pour CD8, le pH est de 8,22 contre 7,37, dans le milieu MEL et de 8,16 contre 6,97 dans le milieu EL. Enfin, pour CD10, le pH à 7 jours pour  $\text{CO}_2\text{-3}\%2\text{d}$  est de 8,16 contre 7,46, à  $\text{CO}_2\text{-3}\%$  dans le milieu MEL, et de 8,17 contre 7,1 dans le milieu EL.

Nous avons comparé les valeurs de pH à 7 jours des milieux MB et EDMN+ avec celles observées dans les milieux MEL et EL où se sont multipliées les bactéries. Les résultats sont résumés dans la **Figure 5-12**. Dans les milieux MEL/EL, on retrouve le même phénomène d'alcalinisation induit par l'activité enzymatique bactérienne à travers lequel on soupçonne le rôle de l'anhydrase carbonique. Cette

observation est d'autant plus perceptible que l'écart de pH avec les témoins MEL et EL (sans bactéries) à  $\text{CO}_2\text{-}3\%$  est grand. De façon générale, le pH des milieux témoins MEL et EL sont légèrement plus bas que leur homologue MB et EDMN+ alors que celui après culture des bactéries est identique.

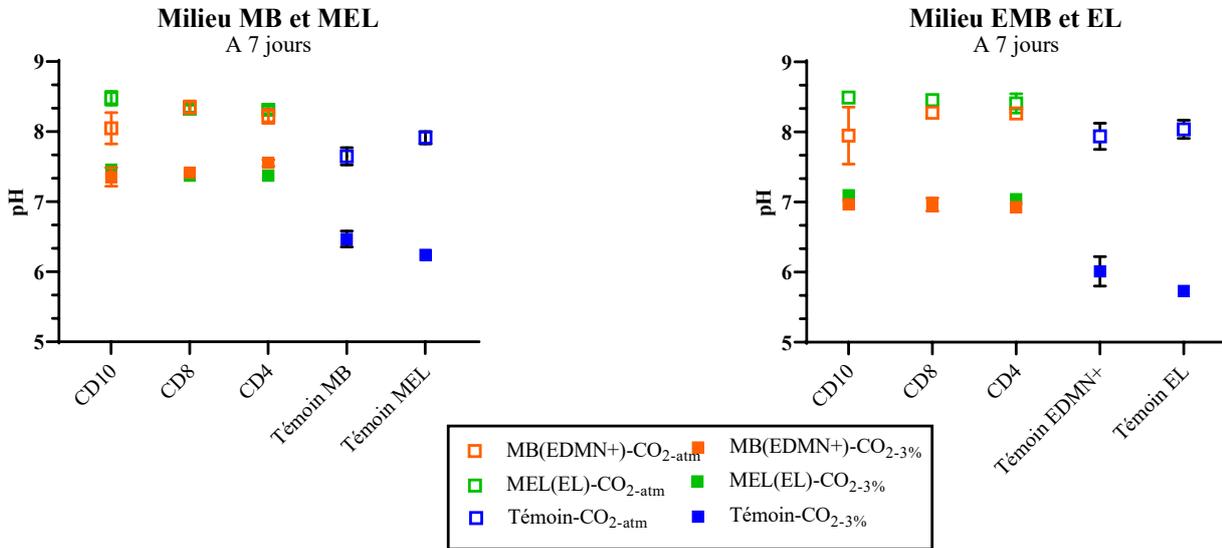


Figure 5-12 : Valeurs de pH des souches CD10, CD4 et CD8 à 7 jours d'incubation à  $\text{CO}_2\text{-atm}$  et  $\text{CO}_2\text{-}3\%$  dans les milieux liquides suivants : MB, EDMN+, MEL et EL.

Malgré le bon développement cellulaire et l'activité enzymatique fonctionnelle, les souches peinent à produire du  $\text{CaCO}_3$  (Figure 5-11). Les quantités produites par les souches CD4, CD8 et CD10 en milieu MEL sont respectivement 0,03, 0,1 et 0,07 mg/mL soit 10 fois moins que leur analogue en milieu MB. Ce même écart est également retrouvé en milieu EL pour les CD4 et CD8 avec 0,018 et 0,03 mg/mL et atteint un facteur 20 pour CD10 avec une production de 0,014 mg/mL. Avec 3% de  $\text{CO}_2$ , la production est quasiment nulle, certainement en raison des valeurs de pH trop faibles pour la précipitation du  $\text{CaCO}_3$  ( $\text{pH} \approx 7$ ). La souche CD8 est néanmoins la plus performante dans ces milieux.

Même si le facteur pH peut justifier la baisse de production de  $\text{CaCO}_3$  sous  $\text{CO}_2\text{-}3\%$ , il ne permet pas d'expliquer cette chute de production en condition atmosphérique. En revanche, on peut pointer du doigt les modifications chimiques en ions ou en sels induit par les granulats recyclés dans les milieux MEL/EL qui peut affecter les activités des enzymes et donc la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . Nous avons pensé que le relargage d'aluminium pouvait interférer la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  en substituant le  $\text{Ca}^{2+}$  au niveau de l'enveloppe cellulaire (87–90). Or, pour des pH avoisinant 8, l'aluminium se retrouve généralement sous sa forme précipité  $\text{Al}(\text{OH})_3$  ce qui limite dans ce cas son interaction avec la surface de la cellule du fait de sa stabilité. En ce qui concerne les ions  $\text{Ca}^{2+}$ , nous avons vu, dans le chapitre 1 que la concentration en calcium est un facteur capital dans l'activité de l'AC mais aussi au niveau de la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . Sharma *et al.* (23), Zheng et Qian (1) et Wei Li *et al.* (91) observent que l'activité de l'anhydrase carbonique atteint son optimum pour des teneurs en  $\text{Ca}^{2+}$  entre 50 et 60 mmol/L puis décroît au-dessus de 80-100 mmol/L. Dans la même étude (91), Wei Li *et al.* constatent une baisse de production de  $\text{CaCO}_3$  à partir de 100 mmol/L alors qu'Okwadha *et al.* (93) rapportent que pour une

concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  allant de 25 à 250 mmol/L, la bio-production de  $\text{CaCO}_3$  augmente, passant de 5,6 à 9,5 mg/jr. Dans notre étude, les milieux MB et EDMN+ contiennent en valeur estimée 50 et 46 mmol/L en  $\text{Ca}^{2+}$  ce qui est largement en dessous des seuils cités. Quant aux milieux MEL et EL, si nous faisons l'hypothèse extrême que la lixiviation des granulats recyclés par l'eau de mer fournit 0,4 g/L de  $\text{Ca}^{2+}$  disponible (valeur approximative basée sur les dosages ICP des Rc (matériaux à matrice cimentaire) à 30 minutes d'immersion (0,66 g/L) et la proportion pondérale des Rc dans les GR (60%) ( $0,66 \times 0,6 = 0,4$  g/L)), les concentrations finales atteindraient respectivement 66 et 62 mmol/L de  $\text{Ca}^{2+}$  ce qui reste en dessous de 80 mmol/L. Aussi, nous avons vu dans le **Chapitre 3** que la lixiviation des GR favorise la précipitation des ions magnésium en eau de mer naturelle. Lors de la préparation des milieux MEL et EL, l'étape de filtration des lixiviats a probablement entraîné un appauvrissement des milieux de culture en magnésium et donc défavoriser le processus de bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  en influençant l'activité métabolique des souches, ce qui pourrait expliquer cette chute de production.

D'un point de vue général, la concentration excessive en sels amenée par les GR, additionnée aux sels déjà présents dans le MB et l'EDMN+, pourrait être tenue responsable de cette baisse de production. La salinité est l'un des principaux facteurs affectant la quantité et la taille des cristaux de  $\text{CaCO}_3$  (94,95).. Rivadenevya *et al.* (94,96) observent, dans le cadre d'une bio-précipitation, une diminution voire une inhibition de la quantité de  $\text{CaCO}_3$  avec l'augmentation de la salinité (NaCl) à partir de 20 g/L. Krishnamoorthy *et al.* (97) affirment que les biomacromolécules contenus dans l'eau de mer peuvent participer au processus de minéralisation et contrôler la nucléation et la structure des cristaux de  $\text{CaCO}_3$ . Zheng *et al.* (98) expliquent que ces biomacromolécules contiennent une importante quantité de groupes carboxylés, d'hydroxyles et autres groupes fonctionnelles susceptibles de s'adsorber aux cations multivalents, particulièrement les ions  $\text{Ca}^{2+}$  à travers des interactions électrostatiques. En conséquence, les ions carbonate sont attirés par les ions  $\text{Ca}^{2+}$  présents en surface ou à l'intérieur de ces macromolécules pour former du  $\text{CaCO}_3$  (99). La taille et la forme des produits carbonate sont affectées par la morphologie des biomacromolécules, généralement sous la forme de feuillets interconnectés, ce qui rend difficile la croissance volumique des cristaux de  $\text{CaCO}_3$  comme c'est le cas dans l'eau distillée. L'apport en sels des GR contribue ainsi à la salinité déjà élevée de l'eau de mer ce qui conduit manifestement à l'inhibition ou la diminution de la production de  $\text{CaCO}_3$ . Bansal *et al.* (100) démontrent qu'en ajoutant différentes concentrations de NaCl (3,5 à 10%) dans l'eau de mer naturelle, les activités des enzymes uréase et anhydrase carbonique présentes chez une bactérie marine halophile (*Exiguobacterium mexicanum*) sont affectées avec l'augmentation de la concentration en NaCl et qu'elles diminuent après 3 jours d'incubation.

En dehors de la salinité, d'autres composés chimiques résultant de la dissolution des granulats recyclés peuvent également jouer un rôle dans ce processus, ce qui requière des analyses supplémentaires des concentrations ioniques, par ICP-AES, pour une compréhension plus approfondie. La quantité de  $\text{CaCO}_3$  bio-précipité est cependant plus importante dans le milieu MEL que EL, probablement en raison des

apports nutritifs du MB dans le milieu et peut être vis-à-vis de la concentration en Mg<sup>2+</sup>(24,40), la question est posée.

#### 5.4.2. Effet des GR sur la structure de CaCO<sub>3</sub>

Dans les deux milieux MEL et EL riches en sels, les biominéraux carbonatés détectés sont la calcite et la calcite magnésienne. Ces deux formes sont systématiquement retrouvées dans le milieu MEL pour toutes les souches alors que dans le milieu EL, la souche CD10 induit de la calcite, la souche CD4 de la calcite magnésienne et la souche CD8, de la calcite et de la calcite magnésienne.

Le **Tableau 5-1** résume les biominéraux carbonatés induits par les souches bactériennes marines dans les milieux MB/EDMN+ et MEL/EL et détectés par analyse DRX. Il est possible de constater qu'en environnement riche en sels et supposé appauvri en Mg<sup>2+</sup> et riche en Ca<sup>2+</sup>, la forme calcite est privilégiée. Le magnésium a un effet inhibiteur sur la précipitation de la calcite. Il vient s'insérer au sein de son réseau cristallin pour substituer le calcium. Ainsi, l'appauvrissement en Mg<sup>2+</sup> et l'enrichissement en Ca<sup>2+</sup>, induit par des réactions de précipitation lors du lessivage des GR, permettent à la calcite de se former.

Tableau 5-1 : Résumé des biominéraux carbonatés détectés par analyses DRX pour les souches bactériennes marines.

Souche	MB	MEL	EDMN+	EL
CD6	CM*	<i>Non testé</i>	CM + C <b>+Urée</b> : CM + MHC	<i>Non testé</i>
CD10	CM	C + CM	C	C
CD8	CM	C + CM	CM	C + CM
CD4	CM + C** + MHC***	C + CM	CM	CM

\*CM = Calcite magnésienne (Mg<6%) \*\* C = Calcite \*\*\* MHC = Monohydrocalcite

A partir des résultats obtenus sur l'association bactéries marines / granulats recyclés, plusieurs conclusions sont retenues. En présence d'un lixiviat de granulats recyclés, toutes les souches marines se sont correctement développées. La salinité apportée par la lixiviation des GR n'a pas affectée leur croissance ni leur activité enzymatique comme l'atteste les variations de pH avec et sans régulation de CO<sub>2</sub>. Par ailleurs, il semblerait même que les souches CD4 et CD8 soient plus adaptées dans ce type de milieu que la souche CD10 car aucune phase de décroissance n'a été observée sur 7 jours d'incubation pour CD4 et CD8. En revanche, la production de CaCO<sub>3</sub> a drastiquement chuté d'un facteur 10 en milieu MEL et d'un facteur 20 pour le milieu EL. On peut attribuer cette baisse de production à la concentration en sels présents en solution, supposée plus élevée que dans l'eau de mer, qui inhibe la nucléation des cristaux de CaCO<sub>3</sub>. L'effet combiné de l'eau de mer et des GR rend le milieu peu favorable à la biominéralisation. Néanmoins, la souche CD8 a été la plus performante dans la production de CaCO<sub>3</sub> dans ces deux milieux. Nous avons aussi remarqué qu'en présence de MB, la production de CaCO<sub>3</sub> dans

l'eau de mer (milieu MEL) est plus élevée. Ceci soulève des interrogations pertinentes : est-ce que l'appauvrissement en nutriments du milieu EL, par rapport au MEL, influe sur la (bio)précipitation du  $\text{CaCO}_3$  en impactant l'activité métabolique des souches ? Peut-il y avoir un lien avec la diminution du nombre de cellules observée dans l'eau de mer ? Par ailleurs, outre les nutriments, il est à se demander si les ions  $\text{Mg}^{2+}$  apportés par le MB dans le milieu MEL jouent un rôle dans le développement cellulaire et/ou l'activité enzymatique des souches ? Dans ce cas, la concentration de  $\text{Mg}^{2+}$  pourrait constituer un paramètre crucial à prendre en compte et à étudier. L'appauvrissement en  $\text{Mg}^{2+}$  et l'enrichissement en  $\text{Ca}^{2+}$  générés par la lixiviation des GR en solution semble favoriser la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  sous sa forme calcite en plus de la calcite magnésienne.

### 5.5. Biocalcification sous polarisation cathodique en présence de lixiviat de GR

La formation des agglomérats calcomagnésiens repose sur la précipitation par voie électrochimique d'un dépôt minéral à la surface de l'acier qui vient agglomérer ensuite les éléments autour de la grille (sable, coquillages, GR,...). Le procédé électrochimique impliqué dans la création de ce dépôt, consiste à précipiter, par réduction de l'eau de mer, les ions calcium et magnésium présents sous la forme de  $\text{CaCO}_3$  et  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  à la surface d'un acier polarisé cathodiquement. En présence de granulats recyclés ou de sédiments, ce dépôt calcomagnésien assure la cohésion entre les grains et le maintien de la structure granulaire comme nous l'avons vu au chapitre 4. Néanmoins, le temps nécessaire à la consolidation des grains et l'obtention d'une concrétion mécaniquement résistante *in-situ* peut s'avérer long (plusieurs mois ou années) (101). Nous avons précédemment montré que les bactéries marines utilisées dans cette étude (provenant de dépôt calcomagnésien) ont la capacité de biominéraliser du  $\text{CaCO}_3$  que ce soit sous l'action enzymatique de l'uréase ou de l'anhydrase carbonique. A cet effet, il est envisagé de combiner les bactéries marines et la polarisation cathodique (PC) afin d'accélérer/favoriser la précipitation du dépôt en amorçant les sites d'ancrage de  $\text{CaCO}_3$  et/ou d'assurer une meilleure cohésion initiale en volume entre les grains mais aussi de contribuer simultanément au piégeage du  $\text{CO}_2$  en favorisant son interconversion en solution par l'anhydrase carbonique bactérienne. L'intérêt de cette association est également de permettre une précipitation électrochimique plus rapide au travers de l'augmentation de la concentration en bicarbonate par les bactéries et sa conversion en carbonate par voie électrochimique. Dans un contexte général, la synergie GR/électrochimie/bactéries biocalcifiantes présenterait des avantages pour la consolidation du littoral tant sur le plan économique qu'environnemental, avec la mise en place d'une économie circulaire basée sur le recyclage des ressources, l'utilisation des ressources naturelles locales, la pérennité des aménagements littoraux mais aussi une contribution au piégeage du  $\text{CO}_2$  atmosphérique.

Cette association des bactéries marines biocalcifiantes avec l'électrochimie a d'ailleurs fait l'objet de travaux aux laboratoires LIENSs et LaSIE (La Rochelle Université) menés par Colin *et al.* (102), en

parallèle de ces travaux de thèse. Ces auteurs ont montré, qu'en eau de mer artificielle additionnée de bouillon nutritif à 0,5g/L, l'application d'un courant cathodique à  $-600\mu\text{A}/\text{cm}^2$  n'a pas modifié significativement la croissance et la mobilité des bactéries CD6 et CD10. En revanche, ces bactéries ayant conservé leur capacité à biocalcifier sous courant imposé, ont induit une modification de la composition chimique du dépôt calcomagnésien formé en faveur de la calcite magnésienne. A savoir qu'en l'absence de ces bactéries biocalcifiantes, le dépôt est composé d'aragonite et de brucite.

Dans mes travaux de thèse, l'ajout des granulats recyclés au consortium bactéries marines/polarisation cathodique constitue un paramètre supplémentaire à prendre compte vis-à-vis de la biocalcification. En effet, nous avons préalablement démontré que malgré une croissance des bactéries et un métabolisme enzymatique fonctionnel, leur capacité à bio-précipiter du  $\text{CaCO}_3$  est inhibée par la modification de la composition chimique de leur milieu environnant induite par les GR.

D'un point de vue applicatif, l'association des bactéries biocalcifiantes avec le couple GR/électrochimie nécessite d'évaluer leur croissance mais aussi leur capacité à bio-précipiter du  $\text{CaCO}_3$  en présence d'un courant électrique basse tension et d'un lixiviat de GR. Dans ce contexte, nous avons utilisé un dispositif expérimental spécialement conçu pour permettre l'insertion des bactéries marines dans une cellule électrochimique, développé dans les travaux de Colin *et al.* (102). Nous avons ainsi étudié le comportement de la souche bactérienne CD6 (*Virgibacillus Halodenitrificans*)(uréase et AC positive) et sa capacité à bio-précipiter du  $\text{CaCO}_3$  en présence d'une densité de courant basse tension ( $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , en référence à une des densités utilisées pour la formation de l'agglomérat calcomagnésien) et de lixiviat de granulats recyclés.

Le lixiviat utilisé (protocole détaillé dans le **Chapitre 2**) pour les milieux de culture placés dans le compartiment cathodique est pourvu de petits grains de GR ainsi que de possibles précipités ce qui, en conséquence, rend inexploitable la quantification du  $\text{CaCO}_3$  (analyse ATG) en solution dans le compartiment cathodique et sur les cathodes. Néanmoins, la présence de grains de GR dans le milieu permet d'appréhender le comportement des bactéries en conditions réelles d'application visant à un contact direct des bactéries avec les granulats recyclés dans la formation de l'agglomérat calcomagnésien. Pour mesurer l'effet des bactéries marines sur la précipitation du DC, nous avons, d'une part, déterminé le volume de DC précipité sur les cathodes au moyen d'un scanner 3D (Einscan) et, d'autre part, nous avons réalisé des analyses DRX pour identifier la composition chimique du dépôt.

### **5.5.1. Suivi du pH et de la croissance bactérienne en présence d'un lixiviat de GR avec et sans polarisation cathodique**

#### 2.6.3.13. 5.5.1.1. Croissance bactérienne

Le suivi de croissance de la souche bactérienne CD6 a été réalisé avec et sans PC ( $i=-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ) dans différents milieux de culture à base de lixiviat de granulats recyclés à savoir : EL+U, EL+U+ $\text{CaCl}_2$  et EL+ $\text{CaCl}_2$ . Des mesures de pH sont également réalisées avec et sans la présence des bactéries. Les

résultats sont illustrés sur la **Figure 5-13**. Pour le suivi de croissance « sans polarisation », les milieux de culture sont placés dans des erlenmeyers et non dans la cuve pour toute la durée de l'expérimentation.

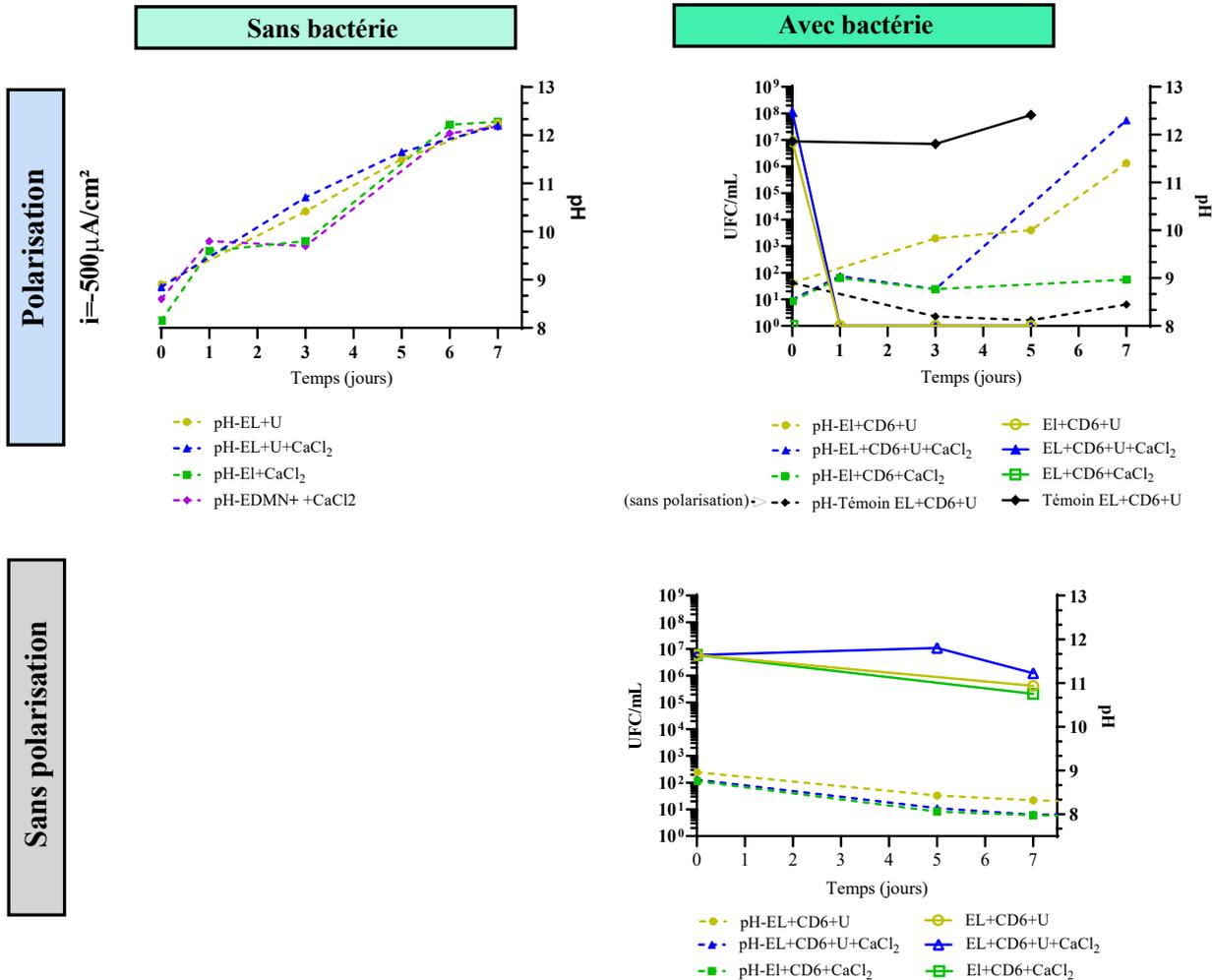


Figure 5-13 : Suivi du pH et de la croissance de la souche bactérienne CD6 incubée pendant 7 jours à 20°C dans différents milieux de culture à base de lixiviat de granulats recyclés : EL+U, EL+U+CaCl<sub>2</sub> et EL+CaCl<sub>2</sub>, avec (en haut) et sans polarisation cathodique (en bas). Ces expériences ont été réalisées qu'une seule fois.

Sans PC, nous pouvons constater que la souche CD6 ne se développe pas mais survit en présence de GR pendant 7 jours. L'enrichissement en urée ne semble pas affecter la croissance bactérienne. Le pH diminue au bout de 7 jours jusqu'à 8 mais reste néanmoins plus élevé en présence d'urée (pH=8,3). Dans les essais sous PC, nous observons une très légère croissance bactérienne pendant 5 jours dans le témoin EL+CD6+U+CaCl<sub>2</sub> sans polarisation. Cependant, l'application ensuite d'un courant cathodique a rendu difficile le dénombrement de la souche à 24h, 3, 5 et 7 jours d'incubation comme en atteste l'absence de colonies dénombrables dans les milieux EL+CD6+U+CaCl<sub>2</sub> et EL+CD6+U. Pour le milieu EL+CD6+CaCl<sub>2</sub>, le dénombrement réalisé à T<sub>0</sub> n'a pas permis de déterminer la concentration cellulaire en raison d'une contamination (expérience réalisée qu'une fois). Cependant, il convient de noter que

l'expérience n'a été effectuée qu'à une seule reprise, ce qui souligne la nécessité de répéter les expérimentations pour renforcer la fiabilité des résultats.

L'absence de bactéries dénombrables dès 24h d'incubation suggère soit la mort très rapide des bactéries lorsqu'elles sont soumises à un courant imposé de  $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , soit leur adhésion à la surface de l'acier afin de former un biofilm pour se protéger et survivre (103,104) ce qui ne permet pas de les dénombrer en suspension dans le milieu liquide. Néanmoins, les avis divergent quant à l'adhésion de microorganismes sur une surface métallique polarisée cathodiquement. Certains auteurs ont montré que la PC empêchait la croissance bactérienne et leur adhésion sur la surface de l'acier en raison des forces électrostatiques répulsives générées par la polarisation cathodique (surface acier et cellules bactériennes chargées négativement (105–111) et en raison de l'augmentation du pH induite par la réduction de l'eau et de l'oxygène (108,112). À l'inverse, d'autres auteurs ont constaté un accroissement de la concentration bactérienne et une augmentation de la quantité de bactéries adhérentes (113,114). Dans l'eau de mer, Zhang *et al.* (115) ont observé que la précipitation d'un dépôt calcomagnésien favorisait l'adhésion des microorganismes marins (bactéries et microalgues) sur la surface d'un acier. En zone de marnage, Refait *et al.* (116) ont trouvé qu'un épais biofilm s'était formé sous le dépôt calcomagnésien et Erdogan et Swain (117) ont démontré que l'oscillation du niveau de l'eau de mer contribuait à la formation du biofilm. Les observations rapportées de la littérature peuvent ainsi suggérer une adhésion de la souche CD6 à la surface de l'acier d'autant que cette dernière a été isolée à partir d'un dépôt calcomagnésien formé par polarisation cathodique dans le Port des minimes, c'est-à-dire dans l'eau de mer naturelle (4). Néanmoins, Colin *et al.* (102) ont pu observer la croissance de cette même bactérie CD6 sous PC à  $i=-600\mu\text{A}/\text{cm}^2$  dans le milieu de culture liquide à base de MB placé dans le compartiment cathodique. On peut ainsi se demander si l'adhésion des bactéries sur le métal polarisé est la seule hypothèse expliquant l'absence de la bactérie marine dans les prélèvements réalisés dans nos expériences. La deuxième hypothèse impliquant la mort des bactéries peut également être envisagée dans le contexte où le lixiviat de GR utilisé dans les milieux de culture modifie de façon importante la composition chimique en sels des milieux de culture (en comparaison avec ceux utilisés par Colin *et al.* (102) et que ce stress vient s'ajouter à celui exercé par l'application du courant imposé de  $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$  au niveau de la cathode. Néanmoins, cela ne corrèle pas avec les évolutions du pH et la quantité de dépôt précipité sur les cathodes, plus importante en présence de bactéries, ce qui suggère le rôle du métabolisme bactérien et donc la présence de bactéries. Il est important de noter que les expériences électrochimiques ont été réalisées qu'une seule fois, soulignant ainsi la nécessité de reproduire ces expérimentations pour assurer de la fiabilité des résultats obtenus. Toutefois, ces expériences fournissent des résultats préliminaires et des éléments de réponse quant à l'association entre l'électrochimie, les bactéries marines et les granulats recyclés, en particulier en ce qui concerne la croissance des souches dans un environnement stressant. De futures perspectives visant à approfondir cette association sont envisagées, notamment en modifiant le courant appliqué et en suivant les variations de concentration ionique en solution, en particulier en ions calcium et magnésium. Ces études

permettront d'évaluer si les bactéries marines favorisent la précipitation du dépôt calcomagnésien et de déterminer l'impact réel des granulats recyclés sur la croissance bactérienne.

#### 2.6.3.14. 5.1.1.2. Suivi du pH

La **Figure 5-14** résume les valeurs de pH mesurées dans les différents milieux avec et sans CD6 à 3 et 7 jours.

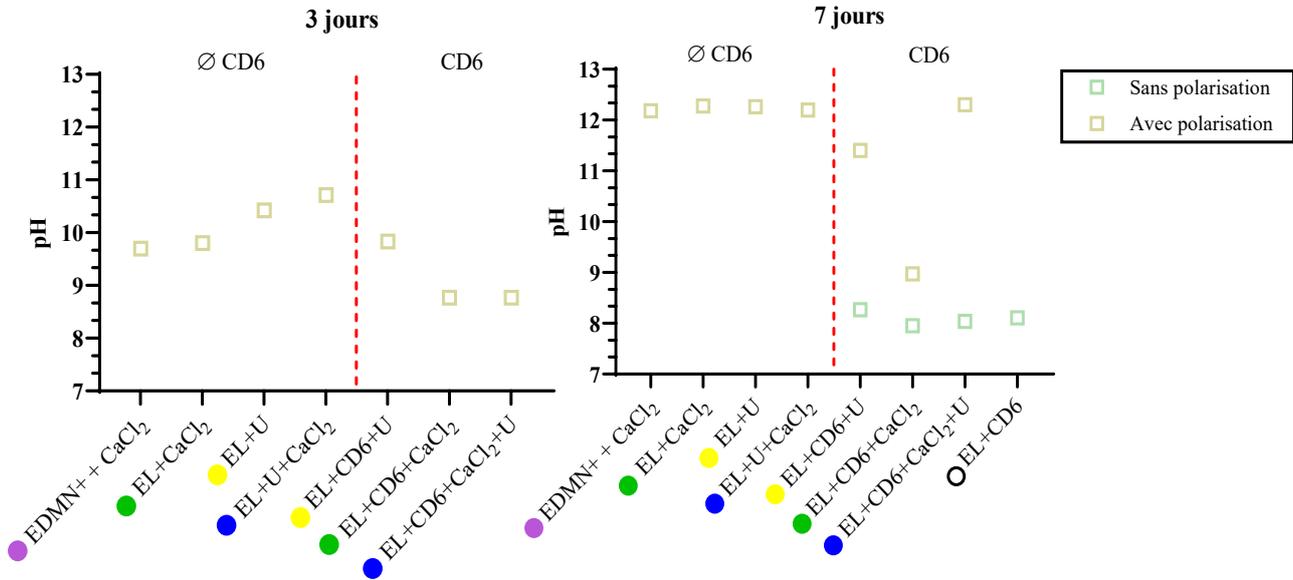
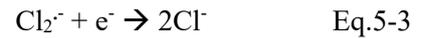


Figure 5-14 : Courbes de pH à 3 et 7 jours des milieux sans CD6 ; EDMN+ +  $\text{CaCl}_2$ , EL +  $\text{CaCl}_2$ , EL+U et EL+U+ $\text{CaCl}_2$ , et avec CD6 ; EL+U+CD6, EL+CD6+ $\text{CaCl}_2$  et EL+CD6+ $\text{CaCl}_2$ +U.

Sans bactéries, l'application d'une PC conduit à une augmentation significative du pH passant de 8-9 à plus de 12 au bout de 7 jours. Dans les milieux dépourvus d'urée (EL+ $\text{CaCl}_2$  et EDMN+ +  $\text{CaCl}_2$ ), le pH croît pendant 24h jusqu'à pH=9,8 puis se stabilise pendant 2 jours avant de réaugmenter de façon linéaire jusqu'à 7 jours (**Figure 5-12**). La réduction de l'eau et de l'oxygène à la surface de l'acier amène à la libération d' $\text{OH}^-$  et la formation d'ions carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) qui vont se combiner avec les ions calcium et magnésium pour former du  $\text{CaCO}_3$  et du  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ . En précipitant, ces composés atténuent l'alcalinisation du milieu et stabilisent le pH. Une fois les ions calcium et magnésium totalement consommés, les ions hydroxyde générés par les réactions de réduction ne sont plus piégés et provoquent de nouveau une élévation du pH. Avec un enrichissement en urée, le pH évolue linéairement pendant 7 jours. Nous pouvons constater sur la **Figure 5-13** que l'ajout de la souche CD6 retarde l'alcalinisation du milieu. À 3 jours, le pH est plus faible d'une, voire deux unités de pH en présence de CD6. Cet écart s'estompe à 7 jours, excepté pour EL+CD6+ $\text{CaCl}_2$  où le pH se stabilise à 9 à partir de 24h. A 24h, le pH est de 9 en présence de CD6, pour les milieux  $\text{CaCl}_2$  et  $\text{CaCl}_2$  + U pouvant expliquer la précipitation du  $\text{CaCO}_3$ . À 3j, le pH atteint 10 avec urée pouvant traduire la précipitation simultanée de  $\text{CaCO}_3$  et  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  (**Figure 5-12**). Nous remarquons par ailleurs qu'à 7 jours, l'enrichissement en  $\text{CaCl}_2$  dans un milieu riche en urée favorise l'augmentation du pH. Les valeurs élevées de pH (10-12) peuvent traduire

d'un appauvrissement en ions carbonates/bicarbonates ou encore des ions calciums dans le milieu, causée par la préparation du lixiviat de granulats recyclés. En effet, la préparation du lixiviat suppose une augmentation du pH jusqu'à peu près 9, ce qui, d'après les observations du chapitre 3, favoriserait la carbonatation en solution. Ainsi, si des précipités de CaCO<sub>3</sub> se sont formés en solution, l'étape de filtration a retenu ces composés, appauvrissement donc le milieu en Ca<sup>2+</sup> et/ou en carbonates/bicarbonates.

Sous polarisation, l'urée s'oxyde en formant du diazote (N<sub>2</sub>) et du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) à la surface de l'anode ainsi que du dihydrogène (H<sub>2</sub>) sur l'électrode négative (cathode) par réduction de l'eau (118). La libération d'OH<sup>-</sup> par oxydation de l'urée favorise l'élévation du pH du milieu en plus de la réduction de l'eau et de l'oxygène, contribuant ainsi à la précipitation du dépôt. Dans une étude réalisée par Kim *et al.* (119) (cathode = acide inoxydable et anode = BiO<sub>x</sub>-TiO<sub>2</sub>) portant sur l'influence de l'oxydation de l'urée sur la production du H<sub>2</sub> dans une solution de NaCl, il apparaît une compétition entre la réduction des espèces chlorées (radicaux) (**Eq.5-2** et **5-3**) et celle de l'eau ( $6\text{H}_2\text{O}_{(l)} + 6\text{e}^- \rightarrow 3\text{H}_{2(g)} + 6\text{OH}^-_{(aq)}$ ).

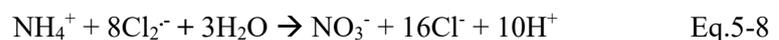


Ainsi, la réduction des chlorures (**Eq.5-2** et **5-3**) provenant du CaCl<sub>2</sub> présent dans notre milieu rentre en compétition avec la production de H<sub>2</sub> réduisant ainsi la production d'OH<sup>-</sup>. En présence d'urée et de CaCl<sub>2</sub>, nous constatons des valeurs de pH légèrement plus élevées qu'avec l'urée seule. Kim *et al.* constatent une augmentation de la production en H<sub>2</sub> lorsque l'urée est ajoutée dans la solution de NaCl. Ils expliquent que les espèces actives chlorées (Cl<sup>·</sup>) oxydent l'urée conduisant à la formation d'un intermédiaire aminé (NH<sub>2</sub>) et du CO<sub>2</sub> (**Eq.5-4** à **4-6**).



Cette réaction diminue temporairement la quantité d'espèces actives chlorées susceptibles de se réduire à la cathode ce qui favorise la production de H<sub>2</sub>.

Dans les milieux riches en urée, la présence de CD6 retarde le processus d'alcalinisation en raison de son hydrolyse par l'enzyme uréase. En effet, l'hydrolyse de l'urée constitue une étape intermédiaire dans l'enchaînement des réactions électrochimiques se produisant à l'interface solution/cathode. Sans CaCl<sub>2</sub>, l'urée s'hydrolyse simplement en donnant lieu à la libération de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> et OH<sup>-</sup> (**Eq.5-1**) Avec CaCl<sub>2</sub>, les ions ammoniums peuvent réagir avec les espèces chlorées actives (Cl<sub>2</sub><sup>·-</sup>) pour former principalement des ions hydronium (H<sup>+</sup>) et des nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) selon **Eq.5-7** et **5-8** (119) :



Les ions  $\text{H}^+$  se combinent automatiquement avec les  $\text{OH}^-$  pour former de l'eau qui se réduit pour libérer des  $\text{OH}^-$ . Ainsi, lorsque l'urée et le  $\text{CaCl}_2$  sont présents dans le milieu de culture, la libération d' $\text{OH}^-$  sous l'action conjuguée de l'uréase et des  $\text{Cl}_2^-$  de  $\text{CaCl}_2$  contribue à l'élévation du pH. Concernant le milieu EL+CD6+ $\text{CaCl}_2$ , nous ne comprenons pas pourquoi le pH se stabilise tout au long de la polarisation. Il semblerait que les réactions de réduction soient bloquées en présence de la souche. En effet, même si les espèces chlorées actives peuvent entrer en compétition avec la production de  $\text{H}_2$ , cette stabilisation est seulement observée en présence de CD6.

### 5.5.2. Précipitation du dépôt calcomagnésien

Après 7 jours de polarisation cathodique, les cathodes sont analysées pour évaluer la précipitation du dépôt calcomagnésien. Elles sont illustrées sur la **Figure 5-15**.

Dans tous les milieux confondus, nous constatons que les cathodes sont recouvertes d'un dépôt minéral. A partir des observations visuelles, on remarque que dans les milieux EL, la couleur du dépôt est plus marron-jaune alors qu'en eau de mer, elle est blanche. Cette différence de couleur peut être attribuée en partie aux particules de GR encore présentes en suspension dans le milieu qui ont été piégées lors de la précipitation du dépôt. La présence de matières organiques (composés tel que l'urée, les polymères organiques apportés par le MB, les bactéries...) peut également modifier la couleur du dépôt par rapport à celui formée dans l'eau de mer simple (102).

Visuellement, la quantité de dépôt semble plus importante en présence de CD6, tous milieux confondus. En ce qui concerne le recouvrement de la cathode, la précipitation du dépôt paraît plus homogène avec l'addition de  $\text{CaCl}_2$  dans le milieu, qu'en présence d'urée où l'on peut observer des zones dépourvues de dépôt. En effet, dans le milieu EL+U, nous avons retrouvé des morceaux de dépôt détachés de la cathode dans le milieu liquide, ce qui peut témoigner d'un phénomène de délamination. Ce phénomène a par ailleurs été observé par Colin *et al* (102). De plus, la texture du dépôt nous a semblé plus gélatineux en présence d'urée qu'avec le  $\text{CaCl}_2$ . Un autre point important à noter concerne l'apparition de petits cratères au niveau du dépôt, particulièrement observables pour les milieux riches en urée. Ces orifices correspondent à la production de bulles de gaz  $\text{H}_2$  à la surface de l'acier. Si l'on compare les milieux EL+CD6+U  $\pm$   $\text{CaCl}_2$  on remarque que ces petites bulles sont nettement plus nombreuses avec un enrichissement en  $\text{CaCl}_2$ . Cette observation a été également faite par Kim *et al* (119) où ils observent une amélioration de la production de  $\text{H}_2$  de l'ordre de 20% avec l'urée dans le NaCl.

Dans le milieu EDMN+ +  $\text{CaCl}_2$ , le dépôt calcomagnésien est composé de  $\text{CaCO}_3$  sous la forme d'aragonite et de brucite  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  alors que pour l'ensemble des milieux à base EL avec et sans CD6, la forme  $\text{CaCO}_3$  est la calcite. La brucite est également retrouvée pour la majorité des cas sauf pour EL+CD6+ $\text{CaCl}_2$ , les valeurs de pH n'étant pas suffisamment élevées (pH=9) pour précipiter le  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ . Nous pouvons difficilement déterminer l'origine précise de la calcite car les granulats recyclés et les bactéries peuvent induire de la calcite (102). La présence de grains de GR en suspension complique donc l'interprétation.

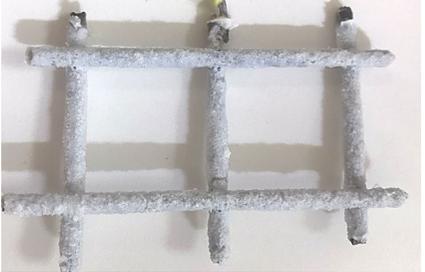
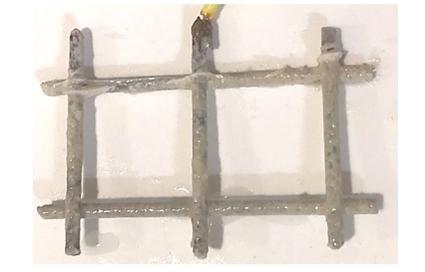
	EDMN+	EL		
	CaCl <sub>2</sub>	Urée	CaCl <sub>2</sub> +Urée	
Sans bactéries				
Précipités	Brucite et Aragonite	Brucite et Calcite	Brucite et Calcite	Brucite et Calcite
Avec bactéries	<i>Non réalisée</i>			
Précipités	/	Calcite	Brucite et Calcite	Brucite et Calcite

Figure 5-15 : Photographies des cathodes après 7 jours sous polarisation cathodique à  $i = -500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , avec et sans CD6, et composition du dépôt minéral associé déterminée par analyse DRX.

Le volume apparent de dépôt précipité sur la cathode a été déterminé par le scan des cathodes. Les volumes présentés sur la **Figure 5-16**, correspondent à la soustraction entre le volume total de la cathode avec celui du dépôt et le volume de la cathode seule. Ces mesures ne tiennent pas compte de la porosité du dépôt.

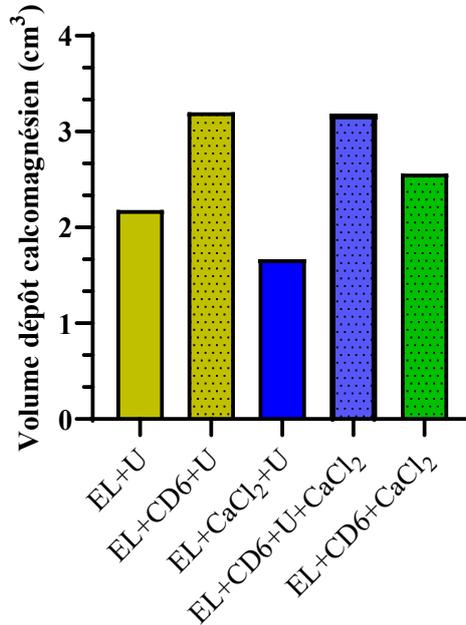


Figure 5- 16 : Volumes apparents des dépôts calcomagnésiens ( $\text{cm}^3$ ) précipités sur les cathodes au bout de 7 jours de polarisation cathodique. Scans réalisés par le scanner Einscan et son logiciel de mesure Exscan V3.

Le volume apparent du dépôt est sensiblement plus important en présence de bactéries comme nous l'avons supposé précédemment. Sans bactérie, le dépôt formé en présence de  $\text{CaCl}_2$  + urée semble plus faible qu'avec l'urée seule. Des expériences doivent être réitérées pour le confirmer car seulement une expérience a été réalisée pour chaque condition. À l'inverse, avec CD6, le volume de dépôt est quasiment le même pour les milieux riches en urée avec et sans  $\text{CaCl}_2$ . Sans addition d'urée mais avec seulement un enrichissement en  $\text{CaCl}_2$ , le volume est plus faible. Cette différence de volume peut, entre autres, s'expliquer par l'apport des ions carbonate par l'hydrolyse de l'urée qui contribue à la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ . Au vu des résultats de pH, il semblerait n'y avoir aucune corrélation entre le pH et le volume de dépôt précipité. Nous n'avons cependant pas été en mesure d'apporter des informations relatives à la proportion respective de  $\text{CaCO}_3$  et de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  dans chaque dépôt à cause des grains de GR. Cette analyse apporterait des informations intéressantes sur la composition du dépôt calcomagnésien d'autant que nous avons vu que l'urée formait un dépôt plus gélatineux, potentiellement composé d'une forte proportion en brucite. Dans cette étude, seule la souche bactérienne CD6, avec une activité uréase très efficace dans la biocalcification, a été couplée à l'électrochimie et les GR.

## 5.6. Conclusion

La croissance et la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  des bactéries marines CD4, CD6, CD8 et CD10 ont été étudiées à travers une série de paramètres visant à 1) privilégier le mécanisme enzymatique impliquant l'interconversion du  $\text{CO}_2$  en  $\text{HCO}_3^-$  par l'anhydrase carbonique 2) évaluer si l'association entre le processus d'électrochimie, l'utilisation de granulats recyclés et l'intégration de bactéries marines est en mesure de générer une synergie favorable à la création d'un agglomérat calcomagnésien. A partir des résultats obtenus, plusieurs conclusions sont tirées :

- Les souches marines se développent dans le milieu MB mais survivent dans le milieu EDMN+. **Toutes les souches ont réussi à précipiter du  $\text{CaCO}_3$**  dans les deux milieux mais cette production reste plus importante dans le milieu MB où **CD10 et CD6 sont les plus performantes** avec une quantité d'environ 1 mg/mL, suivi de près par CD8 avec 0,8 mg/mL et enfin CD4, la moins efficace avec seulement 0,4 mg/mL. Dans l'EDMN+, ce sont les souches **CD10 et CD8 qui produisent le plus de  $\text{CaCO}_3$**  avec 0,3 mg/mL. Cette faible production de  $\text{CaCO}_3$  et la survie des souches dans l'EDMN+, peut être attribuée à un manque de nutriments dans le milieu et/ou à une concentration en magnésium plus faible que dans le milieu MB. Le  $\text{CaCO}_3$  est principalement retrouvé sous la forme de **calcite magnésienne**, pour les deux milieux. **La monohydrocalcite** a été détecté chez CD4, en milieu MB, et CD6, en milieu EDMN+ avec de l'urée.
- Les expérimentations menées sur l'effet du  $\text{CO}_2$  sur la croissance et la production de  $\text{CaCO}_3$  ont montré que l'augmentation de la concentration en  $\text{CO}_2$  n'avait **pas d'impact majeur sur la croissance** des souches marines mais que la **dissolution excessive du  $\text{CO}_2$** , notamment en présence d'eau de mer naturelle (EDMN+), a conduit à une acidification significative du milieu, ce qui a entraîné une **chute drastique de la production en  $\text{CaCO}_3$**  pour toutes les souches. Dans ces conditions extrêmes, quasiment aucune production de  $\text{CaCO}_3$  n'a été observée dans le milieu EDMN+ et seulement 0,1 mg/mL pour les souches CD8, CD6 et CD10 en milieu MB. Néanmoins, nous avons constaté, qu'à 7 jours, la présence des bactéries s'est traduit par une augmentation du pH, dans les deux milieux, particulièrement observable à 3% en  $\text{CO}_2$ , ce qui peut **témoigner de l'action de l'AC**. Nous pensons que la concentration en  $\text{CO}_2$  à 3% est trop élevée et agressive pour permettre la production de  $\text{CaCO}_3$ , ce qui suppose, en perspective, de **réduire la concentration en  $\text{CO}_2$**  pour confirmer cette hypothèse, auquel cas cela permettrait d'évaluer de manière plus précise l'action de l'AC sur la production du  $\text{CaCO}_3$
- Toutes les souches survivent en présence d'un lixiviat de granulats recyclés mais rencontrent de réelles difficultés à produire du  $\text{CaCO}_3$ . Cette faible production de  $\text{CaCO}_3$  peut être attribuée à la **concentration élevée en sels**, induite par la lixiviation des granulats recyclés, qui inhibe la formation de  $\text{CaCO}_3$ . À la vue des résultats sous polarisation, il pourrait également s'agir d'un appauvrissement en ion bicarbonate, issus de la préparation du lixiviat de granulats recyclés,

limitant ainsi la quantité de  $\text{CaCO}_3$  précipité. Toutefois, **la souche CD8 s'est montré la plus efficace** dans la production de  $\text{CaCO}_3$  dans ces conditions, suggérant une certaine adaptabilité. Sa production est d'ailleurs plus importante en présence de MB, ce qui soulève également les questions sur l'influence des nutriments et des ions  $\text{Mg}^{2+}$  fournis par le MB. La présence d'un lixiviat de granulats recyclés a favorisé la formation de **calcite**, comme nous l'avons observé dans le **Chapitre 4** dans le dépôt calcomagnésien. Les ions sulfates mais aussi l'appauvrissement en  $\text{Mg}^{2+}$  sont des paramètres favorisant la précipitation de la calcite.

- L'association électrochimie/granulats/recyclés apparait prometteur à la vue de l'augmentation du volume de dépôt calcomagnésien formé sur la grille en présence de CD6. Le dépôt se compose de **brucite** et de **calcite** alors qu'en eau de mer, l'aragonite est prédominante. Tel que nous l'avons observé dans le chapitre 4, la précipitation de la calcite résulte de la présence des granulats recyclés. Nous présentons cependant de **grandes difficultés à suivre la croissance de CD6** dès le début de l'expérience. Cela suggère soit une possible adhésion de la bactérie à la surface de l'acier pour survivre soit sa mortalité en raison du stress imposé par le courant, auquel cas elle amorcerait la précipitation du dépôt. Des expériences complémentaires sont à prévoir pour confirmer ces hypothèses comme réduire la densité de courant imposée.

## 5.7. Références

1. Zheng T, Qian C. Influencing factors and formation mechanism of CaCO<sub>3</sub> precipitation induced by microbial carbonic anhydrase. *Process Biochemistry*. 2020;91:271-81.
2. Abdelsamad R, Al Disi Z, Abu-Dieyeh M, Al-Ghouti MA, Zouari N. Evidencing the role of carbonic anhydrase in the formation of carbonate minerals by bacterial strains isolated from extreme environments in Qatar. *Heliyon*. 2022;8(10).
3. Billy C FJ, Carpentier P CM. Bactéries calcifiantes et anhydrase carbonique. 1979;288(22):1687-90.
4. Thèse de Vincent J. Biocalcification bactérienne couplée à la polarisation cathodique en milieu marin afin de consolider les ouvrages du littoral. 2022.
5. Copin-Montégut G. Chimie de l'eau de mer [Internet]. Gap: #3, Impr. Louis-Jean; 1996. 1 vol. (319 p.). (Synthèses). Disponible sur: <http://www.sudoc.fr/003885828>
6. Seifan M, Samani AK, Berenjjan A. Induced calcium carbonate precipitation using *Bacillus* species. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1 déc 2016;100(23):9895-906.
7. Castro-Alonso MJ, Montañez-Hernandez LE, Sanchez-Muñoz MA, Macias Franco MR, Narayanasamy R, Balagurusamy N. Microbially Induced Calcium carbonate Precipitation (MICP) and its potential in Bioconcrete: Microbiological and molecular concepts. *Frontiers in Materials*. juin 2019;6:126.
8. Hammes F, Verstraete\* W. Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation. *Rev Environ Sci Biotechnol*. mars 2002;1(1):3-7.
9. Stocks-Fischer S, Galinat JK, Bang SS. Microbiological precipitation of CaCO<sub>3</sub>. *Soil Biology and Biochemistry*. 1999;31(11):1563-71.
10. Nemati M, Greene EA, Voordouw G. Permeability profile modification using bacterially formed calcium carbonate: comparison with enzymic option. *Process Biochemistry*. 2005;40(2):925-33.
11. CHENG L, SHAHIN MA, CORD-RUWISCH R. Bio-cementation of sandy soil using microbially induced carbonate precipitation for marine environments. *Géotechnique*. 2014;64(12):1010-3.
12. Xue C, Li W, Luo Z, Wang K, Castel A. Effect of chloride ingress on self-healing recovery of smart cementitious composite incorporating crystalline admixture and MgO expansive agent. *Cement and Concrete Research*. 2021;139:106252.
13. Dong B, Liu S, Yu J, Cai Y, Tu B. Evaluation of the effect of natural seawater strengthening calcareous sand based on MICP. *Yantu Lixue/Rock and Soil Mechanics*. août 2021;42.
14. Peng J, Cao T, He J, Dai D, Tian Y. Improvement of Coral Sand With MICP Using Various Calcium Sources in Sea Water Environment. *Frontiers in Physics* [Internet]. 2022;10. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphy.2022.825409>
15. Zhou Q, Gao T. *Microbiology of environmental engineering*. HEP, Beijing. 2000;
16. Lin W, Gao Y, Lin W, Zhuo Z, Wu W, Cheng X. Seawater-based bio-cementation of natural sea sand via microbially induced carbonate precipitation. *Environmental Technology & Innovation*. 2023;29:103010.
17. Fu Q, Wu Y, Liu S, Lu L, Wang J. The adaptability of *Sporosarcina pasteurii* in marine environments and the feasibility of its application in mortar crack repair. *Construction and Building Materials*. 2022;332:127371.
18. Zhang M, Zhao L, Li GK, Zhu C, Dong S, Li Z, *et al*. Microbially Induced Magnesium Carbonate Precipitation and its Potential Application in Combating Desertification. *Geomicrobiology Journal*. 2021;38(6):549-60.
19. Zhang C, Li F, Li X, Li L, Liu L. The Roles of Mg over the Precipitation of Carbonate and Morphological Formation in the Presence of *Arthrobacter* sp. Strain MF-2. *Geomicrobiology Journal*. févr 2018;35:1-10.
20. Dominguez DC. Calcium signalling in bacteria. *Molecular Microbiology*. 2004;54(2):291-7.
21. Maguire ME, Cowan JA. Magnesium chemistry and biochemistry. *Biometals*. 1 sept 2002;15(3):203-10.
22. Carlucci A, Pramer D. Factors affecting the survival of bacteria in sea water. *Applied microbiology*. 1959;7(6):388-92.
23. Sharma A, Bhattacharya A, Pujari R, Shrivastava A. Characterization of carbonic anhydrase from diversified genus for biomimetic carbon-dioxide sequestration. *Indian Journal of Microbiology*. 1 sept 2008;48(3):365-71.

24. Imran MA, Kimura S, Nakashima K, Evelpidou N, Kawasaki S. Feasibility Study of Native Ureolytic Bacteria for Biocementation Towards Coastal Erosion Protection by MICP Method. *Applied Sciences* [Internet]. 2019;9(20). Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2076-3417/9/20/4462>
25. Vincent J, Colin B, Lanneluc I, Sabot R, Sopéna V, Turcry P, *et al.* New Biocalcifying Marine Bacterial Strains Isolated from Calcareous Deposits and Immediate Surroundings. *Microorganisms*. déc 2021;10:76.
26. Omoregie AI, Ngu LH, Ong DEL, Nissom PM. Low-cost cultivation of *Sporosarcina pasteurii* strain in food-grade yeast extract medium for microbially induced carbonate precipitation (MICP) application. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019;17:247-55.
27. Price NM, Harrison PJ. Comparison of methods for the analysis of dissolved urea in seawater. *Marine Biology*. 1 mars 1987;94(2):307-17.
28. Imran M, Nakashima K, Evelpidou N, Kawasaki S. Factors affecting the urease activity of native ureolytic bacteria isolated from coastal areas. *Geomechanics and Engineering*. avr 2019;17:421-7.
29. Labare MP, Bays JT, Butkus MA, Snyder-Leiby T, Smith A, Goldstein A, *et al.* The effects of elevated carbon dioxide levels on a *Vibrio* sp. isolated from the deep-sea. *Environmental Science and Pollution Research*. 1 mai 2010;17(4):1009-15.
30. Xie H, Liu T, Hou Z, Wang Y, Wang J, Tang L, *et al.* Using electrochemical process to mineralize  $\text{CO}_2$  and separate  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  ions from hard water to produce high value-added carbonates. *Environmental Earth Sciences*. 1 juin 2015;73(11):6881-90.
31. Pytkowicz RM. Rates of Inorganic Calcium Carbonate Nucleation. *The Journal of Geology*. 1965;73(1):196-9.
32. Pokrovsky O. Kinetics of  $\text{CaCO}_3$  homogeneous precipitation in seawater. *Mineral Mag A*. 1994;58:738-9.
33. Ingle SE, Culberson CH, Hawley JE, Pytkowicz RM. The solubility of calcite in seawater at atmospheric pressure and 35‰permil; salinity. *Marine Chemistry*. 1973;1(4):295-307.
34. Rushdi A, PYTKOWICZ R, Suess E, Chen CTA. The effects of magnesium-to-calcium ratios in artificial seawater, at different ionic products, upon the induction time, and the mineralogy of calcium carbonate: a laboratory study. *International Journal of Earth Sciences*. janv 1992;81:571-8.
35. Novitsky JA. Calcium carbonate precipitation by marine bacteria. *Geomicrobiology Journal*. 1981;2(4):375-88.
36. MacLeod RA, Onofrey E, Norris ME. NUTRITION AND METABOLISM OF MARINE BACTERIA I: Survey of Nutritional Requirements. *Journal of Bacteriology*. 1954;68(6):680-6.
37. 塩要求性について. *Studies on the Marine Bacteria II: On the Specificity of Mineral Requirements of Marine Bacteria*. Mem Fac Fish, Kagoshima Univ. 1965;14:127-80.
38. Rüger HJ, Hentzschel G. Mineral salt requirements of *Bacillus globisporus* subsp. *marinus* strains. *Archives of Microbiology*. 1 mai 1980;126(1):83-6.
39. DRAPEAU GR, MACLEOD RA. A Role for Inorganic Ions in the Maintenance of Intracellular Solute Concentrations in a Marine Pseudomonad. *Nature*. 1 mai 1965;206(4983):531-531.
40. Zheng L, Pan Y, Zhao Y. Biomineralization eliminating marine organic colloids (MOCs) during seawater desalination: Mechanism and efficiency. *Biochemical Engineering Journal*. juill 2020;161:107705.
41. Ho HJ, Iizuka A. Mineral carbonation using seawater for  $\text{CO}_2$  sequestration and utilization: A review. *Separation and Purification Technology*. 2023;307:122855.
42. Li H, Zhang R, Wang T, Wu Y, Xu R, Wang Q, *et al.* Performance evaluation and environment risk assessment of steel slag enhancement for seawater to capture  $\text{CO}_2$ . *Energy*. 2022;238:121861.
43. Kim D, Kim MJ. Study on Carbon Dioxide Storage through Mineral Carbonation using Sea Water and Paper Sludge Ash. *Journal of the Korean Society for Marine Environment & Energy*. 2016;19(1):18-24.
44. Zhao Y, Yuan J, Zhang J, Xie L, Ji Z, Su M, *et al.* A different approach for seawater decalcification pretreatment using carbon dioxide as precipitator. *Desalination*. 2013;322:151-8.
45. Vincent J, Colin B, Lanneluc I, Refait P, Sabot R, Jeannin M, *et al.* La biocalcification bactérienne en milieu marin et ses applications. *Matériaux & Techniques*. mai 2023;110:606.

46. Taylor GF. The occurrence of monohydrocalcite in two small lakes in the south-east of South Australia. *American Mineralogist: Journal of Earth and Planetary Materials*. 1975;60(7-8):690-7.
47. Last F, Last W, Halden N. Carbonate microbialites and hardgrounds from Manito Lake, an alkaline, hypersaline lake in the northern Great Plains of Canada. *Sedimentary Geology*. mars 2010;225:34-49.
48. Dahl K, Buchardt B. Monohydrocalcite in the Arctic Ikka Fjord, SW Greenland: First Reported Marine Occurrence. *Journal of Sedimentary Research - J SEDIMENT RES*. avr 2006;76:460-71.
49. Ito T. The occurrence of monohydrocalcite from calcareous sinter of cold spring of Shiowakka, Asyoro, Hokkaido. *Journal of Mineralogy, Petrology and Economic Geology*. 1993;88:485-91.
50. Gao X, Li J, Hu K, Zhao Y, Han Y, Liu F, *et al*. Calcification of cell membranes: From ions to minerals. *Chemical Geology*. 2023;617:121266.
51. Rivadeneyra MA, Párraga J, Delgado R, Ramos-Cormenzana A, Delgado G. Biomineralization of carbonates by *Halobacillus trueperi* in solid and liquid media with different salinities. *FEMS Microbiology Ecology*. avr 2004;48(1):39-46.
52. Pan J, Zhao H, Tucker ME, Zhou J, Jiang M, Wang Y, *et al*. Biomineralization of Monohydrocalcite Induced by the Halophile *Halomonas Smyrnensis* WMS-3. *Minerals* [Internet]. 2019;9(10). Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2075-163X/9/10/632>
53. Zhao Y, Han Z, Yan H, Zhao H, Tucker ME, Gao X, *et al*. Selective Adsorption of Amino Acids in Crystals of Monohydrocalcite Induced by the Facultative Anaerobic Enterobacter *ludwigii* SYB1. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2021;12. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.696557>
54. Kamiya K, Sakka S, Terada K. Aragonite formation through precipitation of calcium carbonate monohydrate. *Materials Research Bulletin*. 1977;12(11):1095-102.
55. Broughton PL. Microbial EPS-mediated amorphous calcium carbonate–monohydrocalcite–calcite transformations during early tufa deposition. *The Depositional Record*. 2023;9(3):647-74.
56. Politi Y, Levi-Kalisman Y, Raz S, Wilt F, Addadi L, Weiner S, *et al*. Structural Characterization of the Transient Amorphous Calcium Carbonate Precursor Phase in Sea Urchin Embryos. *Advanced Functional Materials*. 2006;16(10):1289-98.
57. Shang LM, Jiang J, Yu SH. Formation of magnesium calcite mesocrystals in the inorganic environment only by using Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> and its biological implications. *Science China Materials*. 2020;64(4):999-1006.
58. Wang YY, Yao QZ, Zhou GT, Fu SQ. Transformation of amorphous calcium carbonate into monohydrocalcite in aqueous solution: a biomimetic mineralization study. *European Journal of Mineralogy*. déc 2015;27(6):717-29.
59. Robles-Fernández A, Areias C, Daffonchio D, Vahrenkamp VC, Sánchez-Román M. The Role of Microorganisms in the Nucleation of Carbonates, Environmental Implications and Applications. *Minerals* [Internet]. 2022;12(12). Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2075-163X/12/12/1562>
60. Lose E, Wilson RM, Seshadri R, Meldrum FC. The role of magnesium in stabilising amorphous calcium carbonate and controlling calcite morphologies. *Journal of Crystal Growth*. 2003;254(1):206-18.
61. Zhuona Z, Xie Y, Xu X, Pan H, Tang R. Transformation of amorphous calcium carbonate into aragonite. *Journal of Crystal Growth*. mars 2012;343:62-7.
62. Rodriguez-Blanco JD, Shaw S, Bots P, Roncal-Herrero T, Benning LG. The role of pH and Mg on the stability and crystallization of amorphous calcium carbonate. *Journal of Alloys and Compounds*. 2012;536:S477-9.
63. Nishiyama R, Munemoto T, Fukushi K. Formation condition of monohydrocalcite from CaCl<sub>2</sub>–MgCl<sub>2</sub>–Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> solutions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 2013;100:217-31.
64. Politi Y, Mahamid J, Goldberg H, Weiner S, Addadi L. Asprich mollusk shell protein: in vitro experiments aimed at elucidating function in CaCO<sub>3</sub> crystallization. *CrystEngComm*. 2007;9(12):1171-7.
65. Addadi L, Joester D, Nudelman F, Weiner S. Mollusk Shell Formation: A Source of New Concepts for Understanding Biomineralization Processes. *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*. avr 2006;12:980-7.

66. Rao A, Berg J, Kellermeier M, Gebauer D. Sweet on biomineralization: Effects of carbohydrates on the early stages of calcium carbonate crystallization. *European Journal of Mineralogy*. août 2014;26.
67. Rodríguez-Navarro C, Ruiz-Agudo E, Harris J, Wolf SE. Nonclassical crystallization in vivo et in vitro (II): Nanogranular features in biomimetic minerals disclose a general colloid-mediated crystal growth mechanism. *Journal of Structural Biology*. 2016;196(2):260-87.
68. Broughton PL. Monohydrocalcite in speleothems: An alternative interpretation. *Contributions to Mineralogy and Petrology*. 1 juin 1972;36(2):171-4.
69. Last WM. Petrology of modern carbonate hardgrounds from East Basin lake, a saline maar lake, southern Australia. *Sedimentary Geology*. 1992;81(3):215-29.
70. Fujita M, Nakashima K, Achal V, Kawasaki S. Whole-cell evaluation of urease activity of *Pararhodobacter* sp. isolated from peripheral beachrock. *Biochemical Engineering Journal*. 2017;124:1-5.
71. Sun X, Miao L. The comparison of microbiologically-induced calcium carbonate precipitation and magnesium carbonate precipitation. In Springer; 2019. p. 302-8.
72. Panyachariwat N, Steckel HPD. Stability of urea in solution and pharmaceutical preparations. *Journal of cosmetic science*. 2014;65 3:187-95.
73. Tziviloglou E, Van Tittelboom K, Palin D, Wang J, Sierra-Beltrán MG, Erşan YÇ, *et al.* Bio-Based Self-Healing Concrete: From Research to Field Application. In: Hager MD, van der Zwaag S, Schubert US, éditeurs. *Self-healing Materials* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2016. p. 345-85. Disponible sur: [https://doi.org/10.1007/12\\_2015\\_332](https://doi.org/10.1007/12_2015_332)
74. Vijay K, Murmu M, Deo SV. Bacteria based self healing concrete – A review. *Construction and Building Materials*. 2017;152:1008-14.
75. Jogi PK, Lakshmi TVSV. Self healing concrete based on different bacteria: A review. *Materials Today: Proceedings*. 2021;43:1246-52.
76. Jonkers HM, Thijssen A, Muyzer G, Copuroglu O, Schlangen E. Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. *Ecological Engineering*. 2010;36(2):230-5.
77. Luo M, Qian C xiang, Li R yang. Factors affecting crack repairing capacity of bacteria-based self-healing concrete. *Construction and Building Materials*. 2015;87:1-7.
78. Chen B, Sun W, Sun X, Cui C, Lai J, Wang Y, *et al.* Crack sealing evaluation of self-healing mortar with *Sporosarcina pasteurii*: Influence of bacterial concentration and air-entraining agent. *Process Biochemistry*. 2021;107:100-11.
79. Joshi S, Goyal S, Mukherjee A, Reddy MS. Microbial healing of cracks in concrete: a review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. nov 2017;44(11):1511-25.
80. Williams SL, Kirisits MJ, Ferron RD. Influence of concrete-related environmental stressors on biomineralizing bacteria used in self-healing concrete. *Construction and Building Materials*. 2017;139:611-8.
81. Algaifi HA, Bakar SA, Sam ARM, Ismail M, Abidin ARZ, Shahir S, *et al.* Insight into the role of microbial calcium carbonate and the factors involved in self-healing concrete. *Construction and Building Materials*. 2020;254:119258.
82. Wang JY, De Belie N, Verstraete W. Diatomaceous earth as a protective vehicle for bacteria applied for self-healing concrete. *Journal of industrial microbiology and biotechnology*. 2012;39(4):567-77.
83. Zhang X, Jin Z, Li M, Qian C. Effects of carrier on the performance of bacteria-based self-healing concrete. *Construction and Building Materials*. 2021;305:124771.
84. Wang JY, Snoeck D, Vlierberghe SV, Verstraete W, Belie ND. Application of hydrogel encapsulated carbonate precipitating bacteria for approaching a realistic self-healing in concrete. *Construction and Building Materials*. 2014;68:110-9.
85. Wang J, Tittelboom KV, Belie ND, Verstraete W. Use of silica gel or polyurethane immobilized bacteria for self-healing concrete. *Construction and Building Materials*. 2012;26(1):532-40.
86. Rangamaman VR, Shanmugam VK. Biocalcification by Piezotolerant *Bacillus* sp. NIOTVJ5 Isolated from Deep Sea Sediment and its Influence on the Strength of Concrete Specimens. *Marine Biotechnology*. 1 avr 2019;21(2):161-70.
87. Piña RG, Cervantes C. Microbial interactions with aluminium. *Biometals*. 1 juill 1996;9(3):311-6.

88. Kurniawan SB, Purwanti I, Titah H. The Effect of pH and Aluminium to Bacteria Isolated from Aluminium Recycling Industry. *Journal of Ecological Engineering*. avr 2018;19.
89. Wang R. Study on Biomineralization Process of Calcium Carbonate Mediated by Microbe and Its Application in Restoration of Cement-Based Materials Defects. 2009;
90. Flis SE, Glenn AR, Dilworth MJ. The interaction between aluminium and root nodule bacteria. *Soil Biology and Biochemistry*. 1993;25(4):403-17.
91. Li W, Chen WS, Zhou PP, Zhu SL, Yu LJ. Influence of initial calcium ion concentration on the precipitation and crystal morphology of calcium carbonate induced by bacterial carbonic anhydrase. *Chemical Engineering Journal*. 2013;218:65-72.
92. Okwadha G, Li J. Optimum conditions for microbial carbonate precipitation. *Chemosphere*. oct 2010;81:1143-8.
93. Rivadeneyra MA, Delgado R, Quesada E, Ramos-Cormenzana A. Precipitation of calcium carbonate by *Deleya halophila* in media containing NaCl as sole salt. *Current Microbiology*. 1 mars 1991;22(3):185-90.
94. Rivadeneyra M, Delgado R, Párraga J, Ramos-Cormenza A, Delgado G. Precipitation of minerals by 22 species of moderately halophilic bacteria in artificial marine salts media: Influence of salt concentration. *Folia microbiologica*. févr 2006;51:445-53.
95. Rivadeneyra M, Delgado G, Soriano M, Ramos-Cormenzana A, Delgado R. Precipitation of carbonates by *Nesterokonia halobia* in liquid media. *Chemosphere*. sept 2000;41:617-24.
96. Krishnamoorthy S, Iyer N, Annaselvi M, Murthy A. The Micro-mechanism Involved and Wollastonite Signature in the Calcareous Precipitates of Marine Isolates. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. mars 2016;178.
97. Ma J, Wang J, Ai X, Zhang S. Biomimetic Self-assembly of Apatite Hybrid Materials: From A Single Molecular Template to Bi-/Multi-molecular Templates. *Biotechnology advances*. nov 2013;32.
98. Bansal R, Dharmi NK, Mukherjee A, Reddy MS. Biocalcification by halophilic bacteria for remediation of concrete structures in marine environment. *J Ind Microbiol Biotechnol*. nov 2016;43(11):1497-505.
99. Carré C, Zanibellato A, Achgare N, Mahieux PY, Turcry P, Jeannin M, *et al*. Electrochemical limestone synthesis in seawater binds metal grids and sediments for coastal protection. *Environmental Chemistry Letters*. 1 sept 2020;18(5):1685-92.
100. Colin B, Vincent J, Kozirowski L, Frein A, Lanneluc I, Sabot R, *et al*. Calcareous deposit formation under cathodic polarization and marine biocalcifying bacterial activity. *Bioelectrochemistry*. 2022;148:108271.
101. Lv M, Du M. A review: microbiologically influenced corrosion and the effect of cathodic polarization on typical bacteria. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 1 sept 2018;17(3):431-46.
102. Vuong P, McKinley A, Kaur P. Understanding biofouling and contaminant accretion on submerged marine structures. *npj Materials Degradation*. 21 juin 2023;7(1):50.
103. Hong SH, Jeong J, Shim S, Kang H, Kwon S, Ahn KH, *et al*. Effect of electric currents on bacterial detachment and inactivation. *Biotechnology and bioengineering*. 2008;100(2):379-86.
104. Istanbulu O, Babauta J, Duc Nguyen H, Beyenal H. Electrochemical biofilm control: mechanism of action. *Biofouling*. 2012;28(8):769-78.
105. Liu T, Cheng YF. The influence of cathodic protection potential on the biofilm formation and corrosion behaviour of an X70 steel pipeline in sulfate reducing bacteria media. *Journal of Alloys and Compounds*. 2017;729:180-8.
106. Del Pozo JL, Rouse MS, Mandrekar JN, Steckelberg JM, Patel R. The electricidal effect: reduction of *Staphylococcus* and *Pseudomonas* biofilms by prolonged exposure to low-intensity electrical current. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009;53(1):41-5.
107. Heckels J, Blackett B, Everson JS, Ward M. The influence of surface charge on the attachment of *Neisseria gonorrhoeae* to human cells. *Microbiology*. 1976;96(2):359-64.
108. Wilson WW, Wade MM, Holman SC, Champlin FR. Status of methods for assessing bacterial cell surface charge properties based on zeta potential measurements. *Journal of microbiological methods*. 2001;43(3):153-64.

109. Busalmen J, De Sanchez S. Adhesion of *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 17552) to nonpolarized and polarized thin films of gold. *Applied and Environmental Microbiology*. 2001;67(7):3188-94.
110. Perez M, Gervasi C, Armas R, Stupak M, Di Sarli A. The influence of cathodic currents on biofouling attachment to painted metals. 1994;
111. Shirtliff ME, Bargmeyer A, Camper AK. Assessment of the ability of the bioelectric effect to eliminate mixed-species biofilms. *Applied and environmental microbiology*. 2005;71(10):6379-82.
112. Little BJ, Wagner PA, Hart KR, Ray RI. Spatial Relationships Between Bacteria and Localized Corrosion. In 1996. p. NACE-96278.
113. Zhang J, Yu Z, Zhao X, Lan X, Wang J, Lv X, *et al.* The interaction of biofoulants and calcareous deposits on corrosion performance of Q235 in seawater. *Materials*. 2020;13(4):850.
114. Refait P, Jeannin M, Sabot R, Antony H, Pineau S. Corrosion and cathodic protection of carbon steel in the tidal zone: Products, mechanisms and kinetics. *Corrosion Science*. 2015;90:375-82.
115. Erdogan C, Swain G. The effect of macro-galvanic cells on corrosion and impressed current cathodic protection for offshore monopile steel structures. *Ocean Engineering*. 2022;265:112575.
116. King RL, Botte GG. Hydrogen production via urea electrolysis using a gel electrolyte. *Journal of Power Sources*. 2011;196(5):2773-8.
117. Kim J, Choi WJK, Choi J, Hoffmann MR, Park H. Electrolysis of urea and urine for solar hydrogen. *Catalysis Today*. 2013;199:2-7.





# **CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES**



## Conclusion générale et perspectives

L'objectif ultime de ma thèse visait à créer une synergie positive entre le procédé électrochimique, avec la précipitation du dépôt calcomagnésien via l'électrolyse de l'eau de mer, le procédé microbiologique, avec le processus de bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  des bactéries marines biocalcifiantes, et l'utilisation des granulats recyclés en tant que matériau d'apport pour la formation d'un agglomérat calcomagnésien à faible impact environnemental et puits de  $\text{CO}_2$ , dédié à la consolidation des zones/infrastructures côtières partiellement immergées.

Pour répondre à la problématique, nous nous sommes d'abord intéressés au squelette granulaire de l'agglomérat, en étudiant l'effet de la lixiviation des granulats recyclés, plus particulièrement les matériaux à matrice cimentaire (Rc) par l'eau de mer sur la précipitation du dépôt calcomagnésien. Puis nous avons cherché à étudier l'impact d'une polarisation cathodique appliquée sur une grille en écoulement, via un écoulement d'eau de mer, sur la composition chimique du dépôt calcomagnésien précipité entre les granulats recyclés et sur la croissance des agglomérats. Enfin, nous avons étudié le processus de bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  des bactéries marines biocalcifiantes CD4, CD6, CD8 et CD10, en vue d'envisager leur association avec le couplage électrochimie/granulats recyclés, afin de contribuer à la précipitation du dépôt calcomagnésien tout en piégeant le  $\text{CO}_2$ . Les conclusions principales tirées des résultats obtenus pour ces trois axes sont rapportées dans le schéma récapitulatif présenté dans la

Figure-1

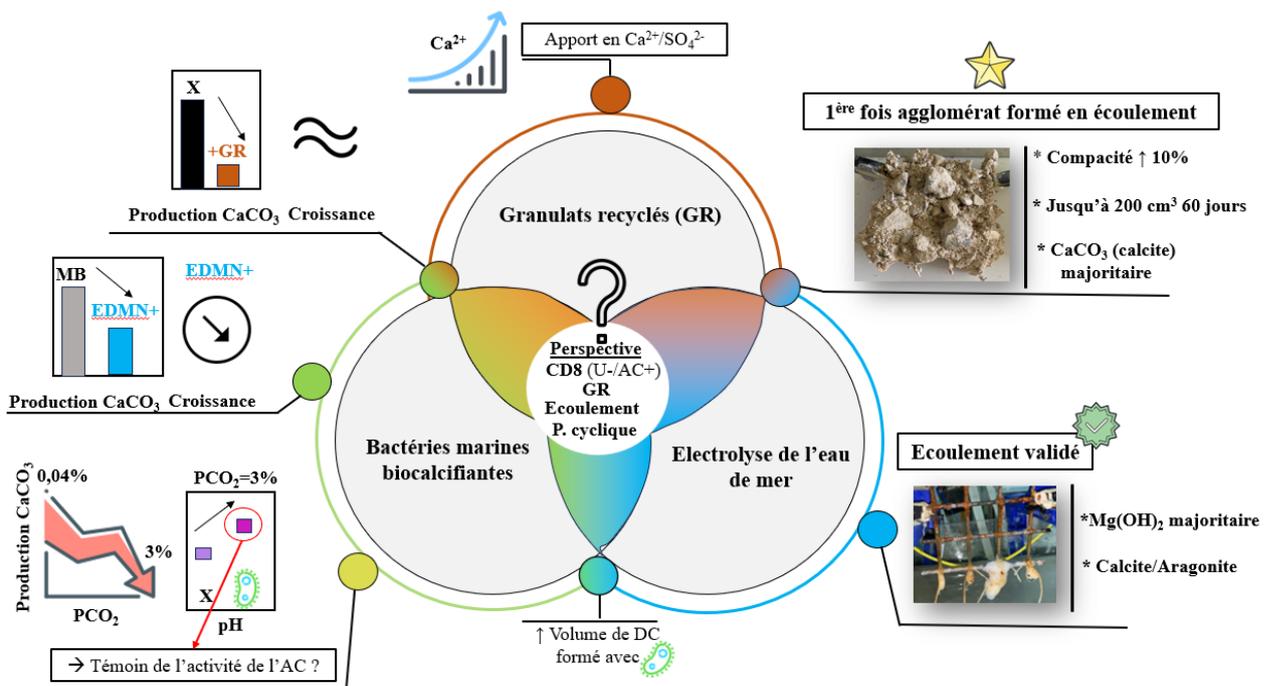


Figure 1 : Conclusions principales et perspectives de ces travaux de thèse

En plongeant les GR dans l'eau de mer naturelle, nous avons montré que ces matériaux recyclés sont réactifs et conduisent, par **déstabilisation des hydrates cimentaires** contenus dans les Rc, à la **libération excessive d'ions calcium** (dissolution des phases CH, C-S-H, AFm et AFt), et libération présumée **d'ions sulfates** (via la dissolution des phases AFm et AFt) **en solution**. Cette libération massive d'ions calcium s'est traduit par une **inversion du rapport Mg/Ca de l'eau de mer**, initialement à 2,7 pour atteindre des valeurs inférieures à 1 pendant une semaine. Nous avons également constaté une augmentation du pH et une diminution de la conductivité pendant les premières heures d'immersion des Rc, synonymes d'une **carbonatation en solution** amenant à la précipitation de trois composés carbonatés : la calcite, l'aragonite et la calcite magnésienne. À partir de ces résultats, nous avons émis l'hypothèse que l'utilisation des granulats recyclés en tant que matériaux d'apport pour la formation de l'AG favoriserait la précipitation du DC en fournissant un apport en calcium localisé entre les grains.

Grâce au développement et à la mise en place d'un système d'écoulement assurant la circulation du courant électrique, nous avons montré **que le dépôt calcomagnésien peut précipiter sous un écoulement d'eau de mer**. De plus, ce DC permet la **cimentation de granulats** naturels et recyclés pour former des **agglomérats calcomagnésiens volumineux** en seulement 15 jours de polarisation. Nous avons donc démontré pour la première fois que la formation d'un agglomérat est possible via un écoulement d'eau de mer. Après 60 jours de polarisation à  $-500\mu\text{A}/\text{cm}^2$ , le volume apparent des agglomérats avec des granulats recyclés atteint pratiquement  $200\text{ cm}^3$ , soit une cinétique de croissance en volume de près de  $3\text{ cm}^3/\text{jr}$ . Cette précipitation du dépôt a **augmenté la compacité d'environ 10 %** par rapport à la compacité initiale du squelette, quelle que soit la nature minéralogique des granulats et le positionnement de la grille d'acier (immersion/écoulement).

La précipitation du dépôt a débuté par la partie basse de l'agglomérat et s'est propagée vers la partie haute. Bien que les AG formés en immersion soient plus volumineux à la même échéance que ceux formés en écoulement, le DC précipité (immersion) entre les grains est majoritairement composé de brucite avec des rapports fluctuants entre 1 et 13 alors qu'en écoulement, celui-ci tend vers 1, c'est-à-dire à proportion équivalente en brucite et  $\text{CaCO}_3$ . **L'effet de l'écoulement a donc favorisé la précipitation du  $\text{CaCO}_3$** , probablement en raison de plusieurs facteurs notamment en **facilitant la dissolution de la brucite**, conduisant à un **pH interne moins élevé** maintenu par l'écoulement par rapport à l'immersion ou encore en fournissant un **approvisionnement continu en ions calcium et magnésium**.

L'effet conjugué de **l'écoulement d'eau de mer** et **la présence des granulats recyclés** a favorisé la précipitation de carbonate de calcium, pour tendre vers un rapport  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  **inférieure ou égale à 1**, pour les deux densités de courant, alors que sans la présence des granulats, le DC était essentiellement composé de brucite. Notre hypothèse de départ sur l'effet positif de la lixiviation des GR sur la précipitation du dépôt est confirmée.

Des analyses au MEB ont révélé qu'une **couche bien définie de CaCO<sub>3</sub>** se forme en périphérie des granulats recyclés, suggérant que ces matériaux peuvent servir de **sites d'amorces** pour la précipitation du dépôt, probablement en fournissant un apport localisé en ions calcium et sulfate.

Dans les dépôts, la brucite et le carbonate de calcium sont presque systématiquement présents. Cependant, la **calcite est majoritaire en écoulement** et en présence de granulats recyclés, tandis qu'en immersion, l'aragonite coexiste avec la calcite. Pour les granulats recyclés, la prédominance de la calcite peut être due à une inversion du rapport Mg(OH)<sub>2</sub>/CaCO<sub>3</sub> induite par la libération des ions calcium et à l'augmentation de la concentration en sulfate (provenant de la dissolution des phases Afm et AFt). Pour l'écoulement, les **raisons restent à clarifier**, mais quel que soit le courant appliqué, le rapport brucite/calcite tend à être égal ou inférieur à 1.

Que la polarisation soit continue ou **cyclique**, la composition chimique du dépôt, la compacité, le volume apparent d'agglomérat et les proportions de brucite/carbonate de calcium sont **quasi similaires**. Envisager une polarisation cyclique pour la formation de l'agglomérat pourrait être une option intéressante en termes de coût énergétique.

Nous avons également pour objectif d'étudier la bio-précipitation de CaCO<sub>3</sub> par les bactéries marines en **priviliégiant la voie enzymatique impliquant l'interconversion du CO<sub>2</sub> et des HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> par l'anhydrase carbonique**. Pour cela, nous avons étudié le comportement de quatre souches bactériennes marines CD4 (*Epibacterium mobile*), CD6 (*Virgacillus halodenitrificans*), CD8 (*Pseudoalteromonas*) et CD10 (*Planococcus maritimus*) dans différents environnements et conditions pour évaluer leur capacité à précipiter du carbonate de calcium.

En milieu optimal Marine Broth (MB) ou en présence d'Eau de Mer Naturelle + bouillon nutritif (EDMN+), avec ou sans la présence de granulats recyclés, toutes les souches bactériennes se sont développées (MB) ou ont survécu (EDMN+). **Toutes les souches ont produit du CaCO<sub>3</sub>**, mais la production a été largement plus importante dans le milieu MB. Dans ce milieu, les **souches CD10 et CD6** se sont avérées les plus performantes dans la production de carbonate de calcium, avec une quantité **d'environ 1 mg/mL**. En milieu EDMN+, ce sont les souches **CD10 et CD8** qui ont produit le plus de CaCO<sub>3</sub>, avec **seulement 0,3 mg/mL**. Cependant, cette quantité est nettement inférieure à celle obtenue dans le milieu MB. Cette faible production peut être due à **un manque de nutriments** ou à une **différence de concentration de Mg<sup>2+</sup>** par rapport au milieu MB. Pour vérifier cela, il serait envisageable d'augmenter la concentration en bouillon nutritif dans l'EDMN+ ou d'ajuster la concentration en magnésium à celle du milieu MB.

Dans les deux environnements étudiés, la forme prédominante du carbonate de calcium formé était la **calcite magnésienne**. Cependant, il convient de noter que de la **monohydrocalcite** a été observée chez CD4 dans le milieu MB et chez CD6 dans le milieu EDMN+ en présence d'urée. Malgré la **salinité excessive** induite par la lixiviation **des granulats recyclés** et/ou probablement **un appauvrissement en**

**ions calcium et/ou ions carbonate** lié à la préparation du lixiviat, qui a  **affecté la production de  $\text{CaCO}_3$**  des bactéries, la **souche CD8 s'est avérée être la plus efficace dans ces conditions extrêmes**. L'augmentation de la **concentration en dioxyde de carbone** n'a **pas eu un effet significatif sur la croissance** des bactéries marines, mais elle a considérablement **affecté la production de carbonate de calcium** pour l'ensemble des souches, probablement en raison de la dissolution excessive en solution de ce  $\text{CO}_2$ , entraînant une acidification. **Toutefois, l'augmentation du pH induit par les bactéries en solution à 3 % en  $\text{CO}_2$  suggère l'activité de l'anhydrase carbonique**. Il est possible que la concentration en  $\text{CO}_2$  à 3 % **soit trop agressive** pour permettre la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$ .

Les premiers essais électrochimiques associant la microbiologie, et les granulats recyclés (lixiviat) sont prometteurs puisque nous avons observé **une augmentation en volume du dépôt calcomagnésien formé sur la cathode en présence de la bactérie CD6**.

À la lumière des résultats obtenus dans cette étude, plusieurs perspectives de recherche se dessinent pour créer une synergie positive électrochimie/microbiologie/granulats recyclés, pour la formation d'un agglomérat calcomagnésien à faible impact environnemental et puits de  $\text{CO}_2$  pour la consolidation des zones côtières partiellement immergées.

Tout d'abord, il serait intéressant d'approfondir la compréhension des **mécanismes de précipitation du DC au voisinage des granulats recyclés**, que l'on suppose être **des sites d'amorces via la libération localisée d'ions sulfate et calcium**. Par ailleurs, un **suivi de la teneur en ions sulfate** en solution permettrait de vérifier d'une part que la lixiviation des phases cimentaires des Rc conduit à une augmentation des sulfates en solution, et d'autres part que ces ions, combinés avec les ions calcium, permettent un amorçage du dépôt en privilégiant la précipitation de carbonate de calcium sous la forme de calcite.

De plus, l'effet de l'écoulement d'eau de mer sur la précipitation du carbonate de calcium doit être davantage exploré. Des expériences visant à comprendre en **détail les mécanismes de dissolution/précipitation du DC sous l'influence de l'écoulement** pourraient conduire à des améliorations dans le processus de précipitation du DC et donc au niveau de la formation des agglomérats calcomagnésiens.

Concernant la bio-précipitation par les bactéries marines, il serait judicieux **d'optimiser les conditions nutritionnelles des bactéries** afin de comprendre les raisons d'une diminution de la production de carbonate de calcium dans l'EDMN+. **L'ajustement de la concentration en bouillon nutritif** et de la **concentration en magnésium** dans l'eau de mer pourrait permettre d'atteindre des rendements plus élevés de  $\text{CaCO}_3$ . Il serait également intéressant de comprendre pourquoi les bactéries marines peinent à produire du  $\text{CaCO}_3$  en présence de lixiviat de granulats recyclés. Nous soupçonnons que **la salinité élevée induite** par la lixiviation des GR et/ou un **appauvrissement en ions calcium et/ou ions carbonate lié à la préparation du lixiviat** peuvent être à l'origine de cet effet inhibiteur. Un dosage ionique de ces ions permettrait de lever le doute. Nous avons supposé que la concentration en  $\text{CO}_2$  à 3%

pouvait induire un environnement trop stressant/agressif pour permettre la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  par les bactéries. Il serait envisageable **d'évaluer des concentrations en  $\text{CO}_2$  plus faibles que 3% sur la précipitation du  $\text{CaCO}_3$  par les bactéries**, d'autant que l'activité de l'AC chez les bactéries biocalcifiantes semble avoir été favorisée avec l'augmentation du  $\text{CO}_2$  par rapport à la concentration contenue dans l'atmosphère (0,04%).

Concernant l'application d'une polarisation cathodique, il serait intéressant d'opter pour des cycles de polarisation plutôt que qu'une polarisation continue pour favoriser la précipitation du dépôt tout en limitant les coûts énergétiques.

En vue de favoriser la formation d'un agglomérat calcomagnésien résistant et durable, il serait judicieux de privilégier une approche combinant une polarisation cyclique, un écoulement d'eau de mer, l'utilisation de granulats recyclés et la souche bactérienne CD8, qui s'avère capable de s'adapter en présence de granulats recyclés. Par ailleurs, la souche CD8 est une candidate prometteuse et intéressante pour étudier le rôle de l'AC dans l'hydratation du  $\text{CO}_2$  car elle est uréase négative et anhydrase carbonique positive. Cette synergie électrochimie/microbiologie/granulats recyclés peut potentiellement améliorer la cinétique de formation des agglomérats calcomagnésiens tout en réduisant les coûts énergétiques associés à la polarisation continue et conduire, *in fine* au piégeage du  $\text{CO}_2$ . Des études sur l'utilisation de cette bactérie dans des conditions réelles, c'est-à-dire dans le dispositif expérimental utilisé pour la formation de l'agglomérat, seraient essentielles pour évaluer l'applicabilité de cette approche. L'électricité étant une énergie décarbonée, l'ensemble du système électrochimie/microbiologie/granulats recyclés pourrait ainsi représenter un piège à carbone.

## Listes des abréviations

<b>ABREVIATIONS</b>	<b>DEFINITION</b>
AC	Anhydrase Carbonique
AFM	Monosulfate de calcium hydraté (hydrate cimentaire)
AFT	Ettringite (hydrate cimentaire)
AG	Agglomérat Calcomagnésien
BN	Bouillon Nutritif
CH	Portlandite (hydrate cimentaire)
CM	Calcite Magnésienne
CO <sub>2</sub> -ATM	Teneur ATMosphérique naturelle en dioxyde de carbone (0,4%)
CO <sub>2</sub> -3%2D	Teneur à 3% en CO <sub>2</sub> dans l'atmosphérique pendant 2 jours
CO <sub>2</sub> -3%	Teneur à 3% en CO <sub>2</sub> dans l'atmosphère
C-S-H	Silicate de calcium hydraté (hydrate cimentaire)
DC	Dépôt Calcomagnésien
DO	Densité Optique
EDMA	Eau de Mer Artificielle
EDMN	Eau de Mer Naturelle
EDMN+	Eau de Mer Naturelle + Bouillon Nutritif
EL	Eau Lixiviée
GES	Gaz à Effet de Serre
GN	Granulats Naturels
GR	Granulats Recyclés
MA	Marine Agar
MB	Marine Broth
MHC	Monohydrocalcite
PC	Protection Cathodique
U	Urée
RB	Terre cuite, briques.. (famille des granulats recyclés)
RC	Matériaux à matrice cimentaire (famille des granulats recyclés)
REEM	Réservoir d'Écoulement d'Eau de Mer
RU	Pierres naturelles (famille des granulats recyclés)

SN	Sable Naturel
SNO	Squelette non optimisé
SO	Squelette Optimisé
SR	Sable Recyclé
TA	Température Ambiante
TIMMO	Titane Métal/Métal Oxyde





## **Résumé**

L'objectif de cette étude vise à développer une solution à faible impact environnemental pour la consolidation des zones côtières partiellement immergées. Cette solution, la formation d'un agglomérat calcomagnésien par électrolyse de l'eau de mer, s'appuie d'une part sur l'économie des ressources locales par valorisation des déchets inertes du BTP (granulats recyclés (GR)) ; et d'autre part sur le processus de biominéralisation impliquant l'hydratation du  $\text{CO}_2$  par l'enzyme anhydrase carbonique (AC) présente chez les bactéries marines prélevées dans le Port de La Rochelle. Trois axes majeurs ont été étudiés pour optimiser la précipitation d'un liant composé de  $\text{CaCO}_3$  et de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  (le dépôt calcomagnésien) au sein de l'agglomérat : l'effet de la dissolution des GR dans l'eau de mer, l'application d'une polarisation cathodique via un écoulement d'eau de mer et l'étude de la bio-précipitation de  $\text{CaCO}_3$  par piégeage du  $\text{CO}_2$  (rôle de l'AC) par les souches marines. L'écoulement d'eau de mer a permis de former un agglomérat de  $200 \text{ cm}^3$  en 60 jours, à  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , soit une cinétique de croissance de  $3 \text{ cm}^3/\text{jr}$ . Une augmentation de 10% de la compacité a été constatée dans le cas d'une grille enfouie (dans les GR) en immersion et en écoulement. L'écoulement et la présence des granulats recyclés favorisent la précipitation du  $\text{CaCO}_3$  sous forme de calcite pour tendre vers un rapport  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  inférieur ou égale à 1, en polarisation continue ou cyclique. La libération excessive des ions calcium et sulfate en solution liée à la dissolution de la matrice cimentaire contenue au sein des GR, peut expliquer l'augmentation de  $\text{CaCO}_3$ . Toutes les souches ont bio-précipité du  $\text{CaCO}_3$  dans leur milieu optimal et en présence d'eau de mer naturelle. Leur production a drastiquement chuté avec une teneur à 3% en  $\text{CO}_2$  ( $\text{CO}_2$  atmosphérique = 0,4%) ainsi qu'en présence de lixiviat de granulats recyclés. À 3% en  $\text{CO}_2$ , le pH du milieu augmente en présence des souches, pouvant témoigner d'une activité de l'AC.

## **Summary**

The objective of this study is to develop a low environmental impact solution for the consolidation of partially submerged coastal areas. This solution, the formation of a limestone concretion based on seawater electrolysis, relies on two main aspects: firstly, the efficient use of local resources through the valorization of inert construction waste (recycled aggregates (RA)); and secondly, the biomineralization process involving the hydration of  $\text{CO}_2$  by the enzyme carbonic anhydrase (CA) found in marine bacteria sampled from the Port of La Rochelle. Three major axes were studied to optimize the precipitation of a binder within the limestone concretion composed of  $\text{CaCO}_3$  and  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  (the calcareous deposit): the effect of RA dissolution in seawater, the application of cathodic polarization via seawater flow, and the study of  $\text{CaCO}_3$  bio-precipitation by  $\text{CO}_2$  capture (the role of CA) by marine strains. Seawater flow allowed the formation of a  $200 \text{ cm}^3$  agglomerate in 60 days at  $-500 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , resulting in a growth rate of  $3 \text{ cm}^3/\text{day}$ . A 10% increase in compactness was observed when the grid was buried (within the RA) either submerged or emerged. Seawater flow and the presence of RA favored the precipitation of  $\text{CaCO}_3$ , particularly in the form of calcite, leading to an  $\text{Mg}(\text{OH})_2/\text{CaCO}_3$  ratio less than or equal to 1, whether under continuous or cyclic polarization. The excessive release of calcium and sulfate ions into solution due to the dissolution of the cementitious matrix within the RA could explain the increase in  $\text{CaCO}_3$ . All strains bio-precipitated  $\text{CaCO}_3$  in their optimal medium and in the presence of natural seawater. Their production drastically decreased at 3%  $\text{CO}_2$  (atmospheric  $\text{CO}_2 = 0.4\%$ ) and in the presence of leachate from recycled aggregates. At 3%  $\text{CO}_2$ , the pH of the medium increased in the presence of the strains, which could indicate the activity of CA.