

N° D'ORDRE : 41130

MINES DOUAI



UNIVERSITE DE LILLE 1



THESE

présentée en vue
d'obtenir le grade de

DOCTEUR

en

Spécialité : Géosciences

Par

Eminence Dorelle HONDJUILA MIOKONO

**DOCTORAT DELIVRE CONJOINTEMENT
PAR MINES DOUAI ET L'UNIVERSITE DE LILLE 1**

Titre de la thèse :
**BIODÉTÉRIORATION DE MORTIERS AVEC UNE SUCCESSION
DE BACTÉRIES SULFO-OXYDANTES NEUTROPHILES ET ACIDOPHILES**

Soutenue le 20 Juin 2013 devant le jury d'examen :

Rapporteur	M. Richard GAGNE, Professeur, Université de Sherbrooke
Rapporteur	M. Philippe GROSSEAU, HDR, ENSM Saint Etienne
Examineur	M. Arnaud GAUTHIER, Professeur, Université de Lille 1
Examineur	M. Hervé FRYDA, Docteur, Kerneos
Examinatrice	Mme Christine LORS, HDR, ENSM Douai
Directeur de thèse	M. Denis DAMIDOT, Professeur, ENSM Douai

Laboratoire d'accueil : Département Génie civil et environnemental de l'ENSM Douai
Ecole Doctorale SMRE 104 (Lille I)

REMERCIEMENTS

Cette thèse a été réalisée au sein du département Génie civil et Environnemental de l'École Nationale Supérieure des Mines de Douai.

J'exprime ma profonde reconnaissance à M. Denis DAMIDOT, directeur du département Génie civil et Environnemental de l'École Nationale Supérieure des Mines de Douai et directeur cette thèse, qui m'a témoigné sa confiance, m'a apporté son aide scientifique et qui, par son expérience et sa compétence m'a transmis, pas à pas, sa passion pour la chimie du béton. Il m'a laissé une grande liberté dans ma recherche mais a toujours été disponible malgré ses diverses activités.

Je remercie très chaleureusement M. Richard GAGNE (Professeur titulaire au département Génie Civil de l'université de Sherbrooke et directeur adjoint du Centre de recherche sur les infrastructures en béton) et M. Philippe GROSSEAU (Directeur de département Sciences des processus industriels et naturels de l'École Nationale Supérieure des Mines de Saint Etienne) de m'avoir fait l'honneur de rapporter cette thèse.

J'adresse mes sincères remerciements à M. Arnaud GAUTHIER (Professeur des universités de Lille 1) et M. Hervé FRYDA (Responsable R&D réfractaire et hydratation chez Kerneos) pour tout l'intérêt qu'ils ont porté à mes travaux de recherches en acceptant d'en être les examinateurs. Je les remercie encore pour le temps qu'ils ont pris à évaluer ce travail.

Je tiens à remercier Mme Christine LORS (Enseignant-chercheur au département Génie civil et Environnemental de l'École Nationale Supérieure des Mines de Douai) pour son encadrement et pour l'intérêt avec lequel elle a suivi cette thèse.

Je remercie tout le personnel du département Génie civil et Environnemental de l'École Nationale Supérieure des Mines de Douai pour m'avoir chaleureusement accueillie au sein du laboratoire, plus particulièrement Claire ALARY.

Un grand merci aux techniciens du département, Christophe CAPPELAERE, Michael D'HELF, Guillaume POTIER surtout Damien BETRANCOURT, Johanna CABOCHE et Dominique DUBOIS (Merci d'avoir été là très cher DD !) pour leur aide précieuse durant ces trois ans. Je remercie également Carole DELCAMBRE, secrétaire du département pour son aide.

J'ai une pensée particulière pour Vincent THIERY, Ingénieur de recherche au département Génie civil et Environnemental de l'École Nationale Supérieure des Mines de Douai. Merci pour ton écoute et ton soutien tout le long de ma thèse.

Toute ma reconnaissance à Jacqueline WOITRAIN, ma très chère Jaja, je souhaite à tous les doctorants du monde d'avoir durant leur thèse une personne aussi humaine que toi. Je ne te remercierai jamais assez pour toute ton attention et ton écoute.

Je tiens à remercier mes collègues docteurs, post-docteurs, thésards et stagiaires qui ont fait de cette thèse un souvenir inoubliable et une belle étape de ma vie. Merci à Raouf ACHOUR, Hassane AZRAR, Laurent BAKO, Coralie DEPARIS, Moussa DIA, Jean DUCASSE-LAPEYRUSSE, Marius DUNCIANU, Khadija EL-CHEIKH, Coralie HAMIEZ, Abdelhafid KASMI, Issameddine KHEZAMI, Mohamed MIRAOU, Idriss MOUNDOUNGO, Nassim SEBAIBI, Jules SIMO TALA, Erwan SIMON, Thomas VALEYRE, Caroline VANSIMAEYS, Dongxing WANG, kai WU, Zengfeng ZHAO et Abdeljalil ZRI. Une attention particulière pour Mohamad HAJJ CHEHADE (quelle belle réussite !), Hung LE NGOC NGUYEN (oh ! j'espère te voir devenir francilien), Alexandra BOURDOT (je suis sûre que tu soutiendras ta thèse avant la fin de l'année 2013 !) et Nathalie GINEYS (que de bons moments partagés, le meilleur reste à venir !).

Il est de ces rencontres qu'on fait qui vous marquent pour le restant de votre vie. Je pars du Nord avec une famille plus agrandie qu'à l'arrivée. Merci à la famille KIMBONGUILA (je compte aussi lily), la famille BRAKNI-BECQUART (je compte aussi Adam) et la famille TSHIKUNA pour votre amitié et votre soutien, bienvenue dans ma grande famille.

Je remercie également tous mes amis en Europe, aux USA et en Afrique pour leurs encouragements tout le long de mes études. Toute ma reconnaissance à tous les professeurs que j'ai eus du collège à l'université qui ont su me transmettre leur passion pour les sciences. Une attention particulière pour M. Urbain NGAKONO, M. Etienne TONDO, M. Ernest ELEGBEDE, M. Michel TROUPEL, M. Edouard MIAMBI et M. Nouredine BOUSSERRHINE.

Je remercie de tout mon cœur ma famille qui a su me donner sans cesse son soutien et son amour. J'ai une attention particulière pour Jeannet BANTSIMBA, Paule TCHIBINDA, Beorgeat NTALANI, Arnaud HONDJUILA MIOKONO, Eustache NGUIE SINO, Rock EDOURA GAENA, Maurice MBAN, Nicolas HONDJUILA YOYO et Edmond MIABANGANA, pour leur soutien sans faille. Ma reconnaissance va également à ma grand-mère bien-aimée Céline NDOUNDOU, qui dès le plus jeune âge m'a appris que le travail est une « valeur ». Mes remerciements à mes mamans Esther et Rachel BAKOUMBA et à ma sœur Suzanne MUTIAMO, pour leur amour inconditionnel. Et enfin, j'adresse toute ma gratitude à ma mère Clémentine BAKOUMBA et à mon père Joseph HONDJUILA MIOKONO. Papa, depuis 40 ans tu as souhaité tellement fort avoir un enfant docteur comme toi. Cette thèse je l'ai certes faite pour moi, mais aussi pour toi, alors je te la dédie. J'espère que tu es fière de moi et que je saurai te rendre fière toute ma vie.

Pour finir, toutes mes louanges et mon adoration à mon DIEU TOUT PUISSANT, riche en miséricorde et en bonté, créateur du ciel et de la terre, pour tout ce qu'il a déjà accompli et continue à accomplir dans ma vie. Mon histoire avec Toi ne s'arrêtera jamais, car j'ai l'assurance qu'elle survivra à ma mort.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1 : LA BIODÉTERIORATION DANS LES TUYAUX D'ÉGOUT A BASE DE CIMENT – ETAT DE L'ART	7
1. Les égouts : milieu environnemental bioréceptif au développement bactérien	9
1.1. La température et l'humidité	10
1.2. Le pH	10
1.3. Les effets mécaniques	11
2. Les bactéries impliquées dans la biodétérioration dans les égouts	12
2.1. Les biofilms bactériens dans les tuyaux d'égout	12
2.2. Les bactéries sulfato-réductrices	14
2.3. Les bactéries sulfo-oxydantes	14
2.3.1. <i>Thiobacillus thioparus</i>	15
2.3.2. <i>Starkeya novella</i>	16
2.3.3. <i>Thiomonas intermedia</i>	16
2.3.4. <i>Halothiobacillus neapolitanus</i>	16
2.3.5. <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	17
2.3.6. Résumé des caractéristiques de croissance des différentes souches de BSO impliquées dans le processus de biodétérioration	17
3. Les tuyaux d'égout : raisons et mécanismes d'attaque bactérienne	18
3.1. La bioréceptivité de la surface des tuyaux d'égout	18
3.1.1. Composition chimique des tuyaux d'égout	19
3.1.1.1. Composition chimique de la pâte de ciment Portland	20
3.1.1.2. Composition chimique de la pâte de ciment CAC	22
3.1.2. Influence de la porosité de la pâte de ciment et du rapport Eau/Ciment (E/C)	23
3.1.3. Carbonatation des tuyaux d'égout	23
3.1.3.1. Carbonatation de la pâte de ciment OPC	24
3.1.3.2. Carbonatation de la pâte de ciment CAC	24
3.1.4. Lixiviation à l'eau des tuyaux d'égout	24
3.1.5. L'adsorption du sulfure d'hydrogène sur la surface des tuyaux d'égout	26
3.2. Les mécanismes d'attaque des bétons par l'acide sulfurique biogénique	28
3.2.1. Évolution minéralogique lors de l'attaque à l'acide sulfurique du béton ou mortier OPC	29
3.2.2. Évolution minéralogique lors de l'attaque à l'acide sulfurique du béton/mortier CAC	31
4. Le processus de biodétérioration dans les tuyaux d'égout	32
5. L'étude de la biodétérioration des tuyaux d'égout dans la littérature scientifique	34
5.1. Les études de laboratoire sur l'attaque à l'acide sulfurique biogénique	36
5.1.1. Etude de Sand (1987) (Figure 12 A)	36
5.1.1.1. Les conditions expérimentales de l'essai	36
5.1.1.2. Les paramètres mesurés et les techniques utilisées	36
5.1.1.3. Les résultats	36
5.1.2. Etude de Mori <i>et al.</i> , (1992) (Figure 12 B)	38
5.1.2.1. Les conditions expérimentales de l'essai	38
5.1.2.2. Les paramètres mesurés et les techniques utilisées	38
5.1.2.3. Les résultats	38
5.1.3. Etude de Hormann <i>et al.</i> , (1997) (Figure 12 C)	39
5.1.3.1. Les conditions expérimentales de l'essai	39
5.1.3.2. Les paramètres mesurés et les techniques utilisées	39

5.1.3.3 Les résultats	39
5.1.4. Etude de Rogers <i>et al.</i> , (2003) (Figure 12 D)	40
5.1.4.1 Les conditions expérimentales de l'essai	40
5.1.4.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées	40
5.1.4.3 Les résultats	40
5.1.5. Etude De Belie <i>et al.</i> (2004)	41
5.1.5.1 Les conditions expérimentales des essais	41
5.1.5.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées	42
5.1.5.3 Les résultats	42
5.1.6. Etude de Okabe <i>et al.</i> (2007)	43
5.1.6.1 Les conditions expérimentales des essais	43
5.1.6.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées	43
5.1.6.3 Les résultats	43
5.1.7. Etude de Gutiérrez-Padilla <i>et al.</i> (2010) (Figure 12 E)	44
5.1.7.1 Les conditions expérimentales de l'essai	44
5.1.7.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées	45
5.1.7.3 Les résultats	45
5.1.8. Etude de Herisson (2012) (Figure 12 F)	46
5.1.8.1 Les conditions expérimentales de l'essai	46
5.1.8.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées	46
5.1.8.3 Les résultats	46
5.1.9. Etude de Hajj Chegade (2010) (Figure 12 G)	48
5.1.9.1 Les conditions expérimentales de l'essai	49
5.1.9.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées	49
5.1.9.3 Les résultats	50
5.2. Conclusions relatives aux différents essais	50
6. Conclusions de l'état de l'art sur la biodétérioration des tuyaux d'égout formulés avec des matériaux cimentaires	51
 CHAPITRE 2 : LA DEMARCHE EXPERIMENTALE	 55
 CHAPITRE 3 : MATERIAUX ET METHODES	 61
1. Choix, fabrication, pré-lixiviation et analyse microscopique des mortiers	61
1.1. Choix et formulation des mortiers	61
1.1.1. La composition chimique et la minéralogie du ciment OPC	62
1.1.2. La composition chimique et minéralogie du ciment CAC	64
1.2. Fabrication et analyse minéralogiques des mortiers	66
1.2.1. La confection des mortiers	66
1.2.2. La maturation des mortiers	67
1.2.3. La porosité des mortiers	67
1.2.4. Les analyses minéralogiques initiales des mortiers	68
1.2.4.1 La minéralogie du mortier OPC	68
1.2.4.2 La minéralogie du mortier CAC	69
1.3. Pré-lixiviation des mortiers	70
1.4. Analyse microscopique des mortiers après pré-lixiviation	73
1.4.1. Les analyses MEB/EDS du mortier OPC pré-lixivié avec HCl à pH de 2	73
1.4.2. Les analyses MEB/EDS du mortier CAC pré-lixivié avec HCl à pH de 2	74
2. Choix, formulation des milieux d'étude et tests de croissance des BSO	75
2.1. Choix des BSO testées pour l'étude	75
2.2. Choix du milieu d'étude	76
2.3. Sélection de la (des) bactérie (s) neutrophile (s)	78
2.3.1. Les conditions de culture des BSO	78
2.3.2. Les méthodes d'évaluation des paramètres de croissance : pH ; nombre de BSO ; μ	79
2.3.3. La croissance des BSO dans le milieu II	80
2.4. Formulation d'un milieu optimal de croissance des BSO	81
2.4.1. La croissance des BSO dans le milieu III	82

2.4.2. L'évaluation de la quantité d'acide sulfurique produite par l'activité bactérienne des BSO dans le milieu III	83
2.5. Détermination des pH maxima de croissance et de la zone de chevauchement commune à <i>H. neapolitanus</i> et <i>A. thiooxidans</i>	88
2.5.1. Croissance de <i>H. neapolitanus</i> à différents pH initiaux	89
2.5.2. Croissance de <i>A. thiooxidans</i> à différents pH initiaux	91
2.6. Conclusions de l'étude sur les souches bactériennes et le milieu d'étude	94
3. Description du protocole de l'essai de biodétérioration et nomenclature des essais réalisés	96
3.1. Dispositif expérimental	96
3.2. Protocole expérimental	97
3.3. La stratégie de mise en œuvre de l'essai de biodétérioration et nomenclature des échantillons	99
 CHAPITRE 4 : ESSAI DE BIODETERIORATION AVEC <i>A. thiooxidans</i>	 103
1. Essai de biodétérioration du mortier OPC	103
1.1. L'évolution du milieu réactionnel	103
1.1.1 L'évolution du pH	103
1.1.2 Évolutions des concentrations des constituants du milieu de croissance et estimation de la quantité d'acide sulfurique biogénérée	104
1.1.3 Le dénombrement bactérien	108
1.1.4. Évolution des éléments chimiques relargués en solution par le mortier	109
1.1.5. Conclusion	115
1.2. L'évolution des mortiers	115
1.2.1. L'analyse macroscopique	115
1.2.2. L'analyse microscopique	117
1.2.2.1 Le mortier OA4y (4 cycles de biodétérioration / 3 mois)	118
1.2.2.2 Le mortier OA2 (2 cycles de biodétérioration / 1,5 mois)	129
1.2.2.3. L'évolution dans le temps de la microstructure du mortier OPC	132
1.3. Conclusions	133
2. Analyse de l'essai de biodétérioration du mortier CAC	134
2.1. L'évolution du milieu réactionnel	134
2.1.1. L'évolution du pH	134
2.1.2 Évolutions des concentrations des constituants du milieu de croissance et estimation de la quantité d'acide sulfurique biogénérée	135
2.1.3 Le dénombrement bactérien	139
2.1.4 L'évolution des proportions d'éléments relargués en solution par le mortier	141
2.1.5. Conclusion	146
2.2. L'évolution des mortiers	146
2.2.1. L'analyse macroscopique	146
2.2.2 L'analyse microscopique	148
2.2.2.1 Le mortier CA4y (4 cycles de biodétérioration / 3 mois)	148
2.2.2.2 Le mortier CA2 (2 cycles de biodétérioration / 1,5 mois)	157
2.2.2.3. L'évolution dans le temps du mortier CAC	161
2.2.3. Conclusion	162
3. Synthèse des résultats de l'essai de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	163
 CHAPITRE 5 : ESSAI DE BIODETERIORATION AVEC <i>H. neapolitanus</i>	 171
1. Analyse de l'essai de biodétérioration du mortier OPC	171
1.1. L'évolution du milieu réactionnel	171
1.1.1 L'évolution du pH	171
1.1.2 Évolutions des concentrations des constituants du milieu de croissance et estimation de la quantité d'acide sulfurique biogénérée	172
1.1.3. Le dénombrement bactérien	175
1.1.4 Évolution des éléments chimiques relargués en solution par le mortier	176
1.1.5. Conclusion	181
1.2. L'évolution du mortier	181
1.2.1. L'analyse macroscopique	181

1.2.2 L'analyse microscopique	183
1.2.2.1 Le mortier ON4y (4 cycles de biodétérioration / 3 mois)	183
1.2.2.2 Le mortier ON2 (2 cycles de biodétérioration / 1,5 mois)	190
1.2.2.3 L'évolution dans le temps du mortier OPC	194
1.3. Conclusions	195
2. Le mortier CAC	196
2.1. L'évolution du milieu réactionnel	196
2.1.1. L'évolution du pH	196
2.1.2. Évolutions des concentrations des constituants du milieu de croissance et estimation de la quantité d'acide sulfurique biogénérée	197
2.1.3 Le dénombrement bactérien	204
2.1.4 L'évolution des proportions d'éléments relargués en solution par le mortier	205
2.1.5. Conclusion	210
2.2. L'évolution du mortier	210
2.2.1. L'analyse macroscopique	210
2.2.2 L'analyse microscopique	212
2.2.2.1 Le mortier CN4y (4 cycles de biodétérioration / 3 mois)	212
2.2.2.2 Le mortier CN2 (2 cycles de biodétérioration / 1,5 mois)	216
2.2.2.3 L'évolution dans le temps du mortier CAC	219
2.3. Conclusion	221
3. Synthèse des résultats de l'essai de biodétérioration par la BSO <i>H. neapolitanus</i>	221
 CHAPITRE 6 : LA SUCCESSION BACTERIENNE <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i>	 227
1. Analyse de l'essai de biodétérioration du mortier OPC	227
1.1. L'évolution du milieu réactionnel	227
1.1.1 L'évolution du pH	227
1.1.2 Évolutions des concentrations des constituants du milieu de croissance et estimation de la quantité d'acide sulfurique biogénérée	228
1.1.3 Le dénombrement bactérien	231
1.1.4 L'évolution des éléments chimiques relargués en solution par le mortier	232
1.2. L'évolution du mortier	236
1.2.1 L'analyse macroscopique	236
1.2.2 L'analyse microscopique	238
1.2.2.1 Le mortier ON2A2y (4 cycles de biodétérioration / 3 mois)	238
1.2.2.2 Le mortier ON2A1 (2 cycles par <i>H. neapolitanus</i> et 1 cycles par <i>A. thiooxidans</i>)	245
1.2.2.3 L'évolution dans le temps du mortier OPC	248
1.3. Conclusions	250
2. Analyse de l'essai de biodétérioration du mortier CAC	251
2.1. L'évolution du milieu réactionnel	251
2.1.1. L'évolution du pH	251
2.1.2. Évolutions des concentrations des constituants du milieu de croissance et estimation de la quantité d'acide sulfurique biogénérée	252
2.1.3. Le dénombrement bactérien	257
2.1.4 L'évolution des éléments chimiques relargués en solution par le mortier	258
2.2. L'évolution du mortier	262
2.2.1. L'analyse macroscopique	262
2.2.2. L'analyse microscopique	263
2.2.2.1 Le mortier CN2A2y (4 cycles de biodétérioration / 3 mois)	263
2.2.2.2 Le mortier CN2A1 (2 cycles par <i>H. neapolitanus</i> et 1 cycle par <i>A. thiooxidans</i>)	269
2.2.2.3 L'évolution dans le temps du mortier CAC	272
2.3. Conclusions	273
3. Synthèse des résultats de l'essai de biodétérioration avec la succession bactérienne	275
 CONCLUSIONS GENERALES & PERSPECTIVES	 281
Conclusions générales	281
1. Synthèse des résultats pour les mortiers OPC	283

2. Synthèse des résultats pour les mortiers CAC -----	284
3. Impact des éléments relargués sur l'activité bactérienne -----	286
4. Quel essai choisir pour estimer en laboratoire la résistance d'un mortier à la biodétérioration par les BSO ? -----	287
Perspectives -----	287
 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----	 291
 LISTES DES FIGURES ET TABLEAUX -----	 301
 ANNEXES -----	 317

« L'égout est la conscience de la ville »

Victor Hugo, Les misérables

INTRODUCTION

La gestion des eaux usées est d'après les Nations Unies l'un des plus grands défis environnementaux mondiaux car elle permet de diminuer les coûts liés aux dégâts écologiques, aux pertes agricoles et surtout à la santé publique (Corcoran *et al.*, 2010). En effet, chaque année dans le monde environ 2,2 millions de personnes, pour la plupart des enfants, décèdent de maladies diarrhéiques liées à l'insalubrité de l'eau, d'où l'importance de mieux gérer et d'améliorer les infrastructures permettant l'assainissement des eaux usées. Dans le cadre du programme « Millénaire pour le développement » initié par les Nations Unies, la réduction de moitié de la population n'ayant pas accès à des services d'assainissement de base est devenue l'un des objectifs mondiaux à atteindre d'ici 2015 [OMS, 2005]. Or, en 2012, seuls 63% des habitants de la planète avaient accès à un système d'assainissement adéquat, chiffre qui, d'après les projections, ne devrait atteindre que 67% en 2015, soit un niveau bien inférieur à l'objectif de 75% [OMS/UNICEF, 2012]. De nos jours, 2,5 milliards de personnes manquent encore de systèmes d'assainissement améliorés, dont 1,8 milliard en Asie [OMS/UNICEF, 2012] (Figure 1).

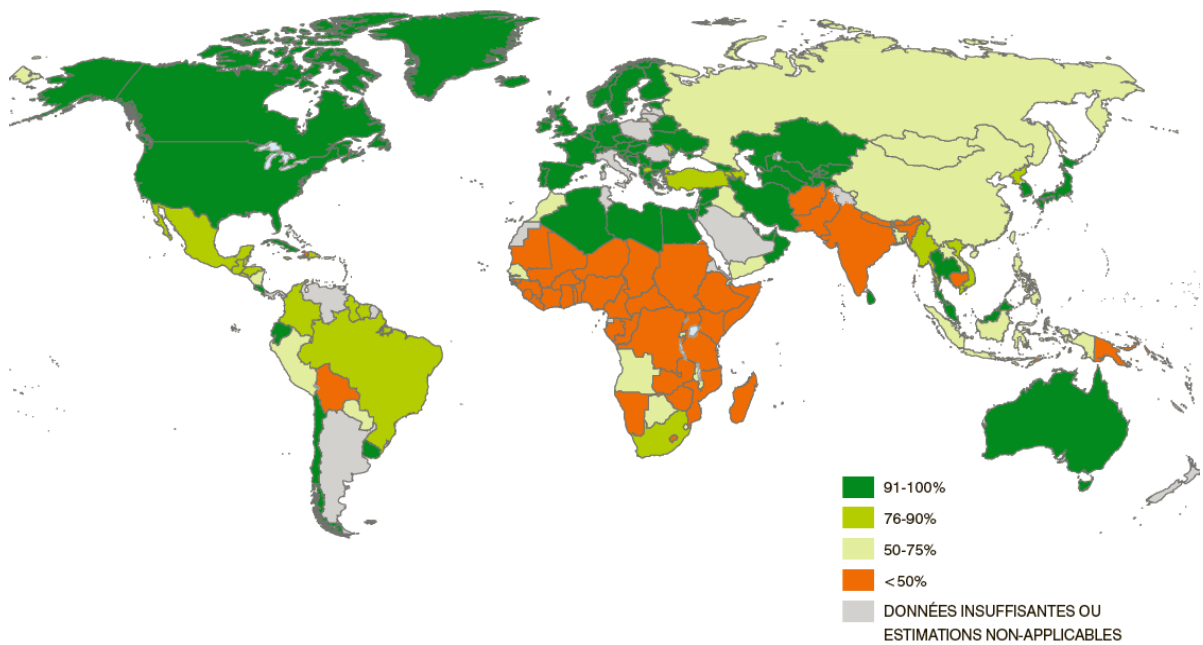


Figure 1: Proportion de la population utilisant des installations d'assainissement améliorées en 2010 (OMS/UNICEF, 2012).

Or, plusieurs études réalisées à travers le monde montrent que la mise en place d'assainissement amélioré s'accompagne en moyenne d'une réduction de plus de 30% de mortalité infantile

[OMS/UNICEF, 2012]. En outre, hormis les effets bénéfiques apportés à la sécurité sanitaire et à la sécurité alimentaire, la gestion des eaux usées est également une nécessité pour préserver un environnement de qualité, car ce dernier permettrait de lutter contre de nouvelles pertes de biodiversité et la résilience des écosystèmes. Ainsi, les besoins en assainissements améliorés à travers le monde sont une problématique très importante, tant dans les pays en voie de développement (pour ce qui est des coûts d'installation) que les pays développés (pour ce qui est des coûts d'entretien, de maintenance et de réhabilitation).

En effet, depuis des décennies, dans les pays développés, le béton de par sa grande flexibilité de mise en œuvre, son faible coût et sa disponibilité a été largement utilisé pour réaliser les réseaux d'assainissement, dont les tuyaux de ces derniers. D'autre part, des solutions plus coûteuses basées sur des tuyaux en fonte nécessitent également la présence d'un mortier de recouvrement intérieur au tuyau, afin d'éviter la corrosion de la fonte. Toutefois, bien que les égouts en béton/mortier dans la plupart des pays développés soient conçus pour durer 50 – 60 ans, des études révèlent que dans certains cas, la durée de service de ces derniers est réduite à 10 ans diminuant ainsi sa durabilité [Monfront, 2007 ; Berland et Juerry, 2003 ; Hvitved-Jacobsen, 2002 ; Olmsted et Hamlin, 1900]. La durabilité du béton correspond à sa capacité à maintenir dans le temps les fonctions pour lesquelles il a été conçu et utilisé dans la construction d'un ouvrage [Regourd, 1982]. A cet égard, cette dernière constitue l'une des préoccupations principales dans la conception et la réalisation des tuyaux d'égout. D'après Kaempfer et Berndt (1998), 40% des dommages causés dans les tuyaux d'égout utilisant le béton/mortier sont attribués à l'action des bactéries sulfo-oxydantes (BSO). Ces dernières produisent de l'acide sulfurique qui attaque le béton/mortier conduisant à la détérioration des tuyaux d'égout : on parle alors de biodétérioration [Nielsen *et al.*, 2008 ; Okabe *et al.*, 1999 ; Milde *et al.*, 1983 ; Parker, 1945]. Ainsi, aux coûts d'installation s'ajoutent également ceux très importants d'entretien, de maintenance et de réhabilitation liés à la détérioration physique, chimique et microbiologique des tuyaux des réseaux d'assainissement. Ces coûts sont estimés à environ 295 millions d'euros par an au Royaume-Uni [Davies *et al.*, 2001] ; 100 millions d'euros par an en Allemagne [Kaempfer and Berndt, 1998] ; 225 milliards d'euros par an aux USA et environ 1 – 5 % du produit national brut au Japon et en Australie [Little and Lee, 2009].

La biodétérioration est définie comme l'attaque biologique d'un matériau à l'origine de la modification de ses propriétés intrinsèques et extrinsèques, incluant la composition chimique ou les caractéristiques mécaniques, pouvant induire un risque pour la structure de l'ouvrage [Hueck, 1968]. Elle peut être esthétique, physique ou chimique. La biodétérioration esthétique est causée par le développement de microorganismes, le plus souvent de biofilms d'algues, à la surface d'un ouvrage [Gaylarde and Gaylarde, 2005 ; Shirakawa *et al.*, 2003 ; Dubosc *et al.*, 2001] (Figure 2 a et b). La biodétérioration physique est induite par les contraintes générées sur un ouvrage lors de la croissance d'organismes (développement des hyphes de champignons ou de racines de mousses, de

lichens ou de plantes) pouvant conduire à la perte de l'intégrité de l'ouvrage due à l'apparition de fissurations (Figure 2 c et d) [Cwalina, 2008 ; Warscheid et Braams, 2000 ; Sand, 1997]. La biodétérioration chimique est causée soit par les microorganismes eux-mêmes avec l'utilisation directe des constituants du matériau comme source de nutriments, soit de manière indirecte via la production de métabolites acides par ces mêmes microorganismes : on parle alors de biodétérioration induite par l'attaque à l'acide biogénique [Shiping *et al.*, 2010 ; Nielsen *et al.*, 2008 ; Bertron *et al.*, 2005, Gu *et al.*, 1998 ; De Belie *et al.*, 1996 ; Parker, 1945].

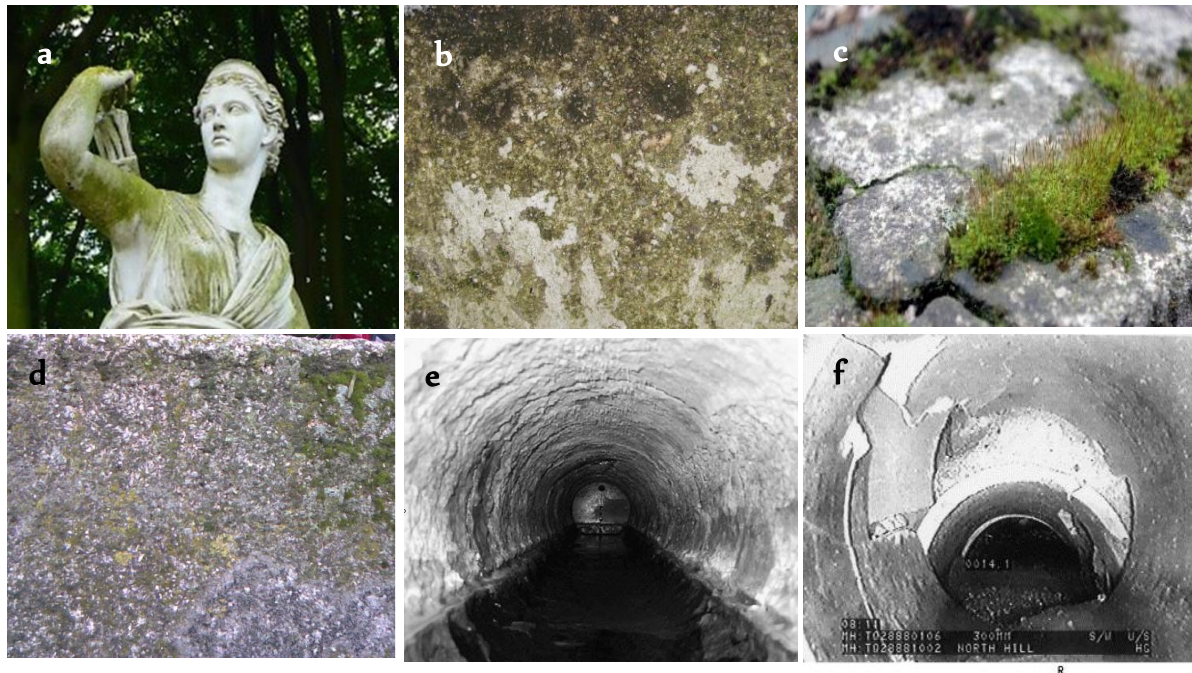


Figure 2 : Exemples de détérioration de matériaux en environnement naturel

a – détail de la statue de la déesse de la chasse et de la nature sauvage, Musée du Louvre ; b – mur d'une maison au nord de Londres, les pigmentations sont dues au développement des algues vertes et brunes ; c – mousse poussant sur un vieux mur de pierre en ruine en Bulgarie ; d – Béton recouvert de différentes espèces de lichens en Pologne [Cwalina, 2008] ; e – Intérieur d'un tuyau d'égout en béton après environ 8 mois de mis en service : essais pilotes [Nielsen *et al.*, 2008] ; f – Début d'effondrement d'un tuyau d'égout en béton au Royaume Uni [Davies *et al.*, 2001].

La biodétérioration induite par l'attaque à l'acide biogénique est souvent retrouvée dans les tuyaux d'égout des municipalités, car les eaux usées domestiques contenues dans ces derniers sont essentiellement composées de 100 - 1000 mg de sulfates par litre [Ito *et al.*, 2002]. Cette prédominance de sulfates favorise la sélection naturelle des bactéries sulfato-réductrices (BSR), par exemple *Desulfovibrio*. Les BSR métabolisent dans la partie immergée du tuyau le sulfate en sulfure d'hydrogène qui est le nutriment de prédilection des bactéries sulfo-oxydantes (BSO). Ces dernières le métabolisent en acide sulfurique dans la partie émergée à la surface du tuyau. L'acide sulfurique conduit principalement à une dissolution des minéraux de la pâte de ciment du béton des tuyaux en béton ou du mortier protégeant les tuyaux en fonte, susceptible de rouiller sans la protection par le

mortier. L'augmentation de porosité induite par la dissolution des minéraux de la pâte de ciment réduit la performance mécanique et accélère la cinétique des mécanismes diffusionnels à la base des réactions chimiques de dissolution. Cette attaque s'accompagne aussi de précipitation de minéraux secondaires comme le gypse et l'ettringite qui peuvent induire un gonflement du béton ou du mortier conduisant souvent à l'apparition de fissures entraînant une perte additionnelle de résistance mécanique des tuyaux. Cette altération des propriétés mécaniques peut conduire jusqu'à l'effondrement du tuyau (Figure 2 e et f) [Nielsen *et al.*, 2008 ; Davies *et al.*, 2001]. Comme la plupart des réactions chimiques, la biodétérioration est accélérée par la température ; elle est par conséquent plus importante dans les pays à climat chaud [Alexander *et al.*, 2008 ; Taché, 1998 ; Levenspiel, 1972 ; Gilchrist, 1953]. Il est donc impératif de la prendre en compte dans les pays en voie de développement lors de la construction et de l'installation des réseaux d'assainissement au cours de la mise en place du programme international de la gestion des eaux usées initié par les Nations Unies.

La lutte contre la biodétérioration dans les égouts peut être réalisée en agissant soit sur l'activité des microorganismes responsables de son occurrence, soit sur la performance des matériaux utilisés lors de la fabrication des tuyaux d'égout.

La lutte contre la prolifération des microorganismes responsables consiste essentiellement à inhiber la croissance des bactéries sulfato-réductrices et des bactéries sulfo-oxydantes. Plusieurs techniques sont recensées dans la littérature allant de l'inhibition de l'activité bactérienne des BSR à l'élimination du sulfure d'hydrogène nécessaire à la croissance des BSO. L'ajout d'hydroxyde de sodium et de formaldéhyde dans les eaux usées est connu pour inhiber la croissance des BSR [Zhang *et al.*, 2008 ; US EPA 1991]. Le premier augmente le pH à des valeurs très basiques empêchant le développement des BSR tandis que le deuxième a une action biocide sur ces dernières. Pour éliminer le sulfure d'hydrogène dans la partie émergée du tuyau, les sels ferreux, le permanganate de potassium et le peroxyde d'hydrogène s'est révélé être très efficace, car ces derniers précipitent le sulfure d'hydrogène ou l'oxydent en sulfate dans les eaux usées [Zhang *et al.*, 2008 ; Nielsen *et al.*, 2005 ; Hvitved-Jacobsen *et al.*, 2002 ; US EPA 1991]. De même, l'injection d'oxygène, qui oxyde le sulfure d'hydrogène, dans la partie émergée du tuyau semble également diminuer l'activité des BSO [Milde *et al.*, 1983]. Cependant, ces techniques sont relativement chères et pour la plupart ont une action très limitée dans le temps. De plus, pour certains, les risques sur l'environnement urbain et sur les égoutiers ne sont à ce jour pas connus, ce qui rend leur utilisation impossible à l'heure actuelle.

Les leviers pour améliorer les matériaux peuvent être indirects en concevant des revêtements acido-résistants ou directs en concevant des matériaux plus résistants à la biodétérioration. Ainsi, l'utilisation de matériaux thermoplastiques est devenue fréquente. Des tuyaux en matériaux thermoplastiques, tels que les polychlorures de vinyle (PVC), les polyéthylènes haute densité (PEHD), les polyuréthanes (PU) ou les polyépoxydes, sont considérés comme inertes donc résistants à la

biodétérioration [Mortezania and Othman, 2012 ; Nielsen *et al.*, 2008 ; Apgar and Witherspoon, 2007 ; Stewart, 2005]. Toutefois, outre le coût, les tuyaux en matériaux thermoplastiques sont uniquement réalisables en petit diamètre donc uniquement utilisables pour les petites installations telles que celles retrouvées dans l'évacuation des eaux usées dans les maisons ou les industries. Par conséquent, les matériaux thermoplastiques sont essentiellement utilisés pour le revêtement des tuyaux d'égout réalisés en béton/mortier [Mortezania and Othman, 2012 ; De Muynck *et al.*, 2009 ; Vollertsen *et al.*, 2008]. Ce dispositif s'est révélé plus résistant à la biodétérioration comparé au tuyau de béton/mortier nu. Bien que le revêtement en matériaux thermoplastiques présente à court terme un avantage certain pour la lutte contre la biodétérioration, il a été constaté qu'à plus long terme il a tendance à se détacher des tuyaux qu'ils recouvrent offrant un environnement confiné propice au développement plus important des BSO [Shook and Bell, 1998]. Ainsi, le revêtement des tuyaux, du fait de son coût et de sa faible performance à long terme, ne peut pas être envisagé dans les pays en voie de développement ; d'où l'importance d'orienter les recherches sur l'amélioration de formulations des bétons ou mortiers plus résistantes à la biodétérioration.

En effet, la formulation de tuyaux en béton, plus résistant à la biodétérioration, permettrait de minimiser les coûts de maintenance des réseaux d'assainissement, qui, dans certains pays, se révèlent à long terme plus chers que leurs installations. La formulation de nouveaux bétons/mortiers est à ce jour la voie la plus étudiée, car elle est considérée comme la solution la plus économique et la plus durable permettant d'affecter de manière durable la biodétérioration dans les tuyaux d'égout [Shook and Bell, 1998]. Ainsi, plusieurs formulations de bétons ou mortiers ont donc été conçues et leur résistance à l'acide sulfurique minéral ou biogénique a été évaluée dans différentes études à travers le monde. Ces formulations jouent sur le type de liant hydraulique (ciments Portland, ciments d'aluminates de calcium, ciments à base de sulfoaluminate de calcium...) [Herisson, 2012 ; Alexander and Fourie, 2011 ; Bassuoni et Nehdi, 2007 ; De Belie *et al.*, 2004 ; Roberts *et al.*, 2002 ; Hormann *et al.*, 1997] et/ou le type de granulats (siliceux, calcaire, dolomite etc ...) [Girardi *et al.*, 2011 ; Alexander and Fourie, 2011 ; Hormann *et al.*, 1997 ; Bayoux *et al.*, 1990]. Mais également sur l'ajout de polymères ou de fibres à la matrice cimentaire [Bassuoni et Nehdi, 2007 ; Bakharev, 2005 ; Vincke *et al.*, 2002 ; Beeldens *et al.*, 2001] et/ou l'ajout de biocides à la surface des tuyaux de béton ou mortier [De Muynck *et al.*, 2009 ; Shook and Bell, 1998].

L'évaluation de la performance de ces nouvelles formulations de béton ou mortier est souvent estimée en se limitant à des essais de laboratoire très simplifiés comme l'attaque à l'acide sulfurique minéral [Alexander and Fourie, 2011 ; Bassuoni and Nehdi, 2007 ; De Belie *et al.*, 2004]. D'autres chercheurs par contre préfèrent utiliser des essais *in situ* pour se rapprocher au mieux des conditions réelles de biodétérioration intervenant dans les égouts [Herisson, 2012 ; Fernandes *et al.*, 2012 ; Alexander and Fourie, 2011 ; Okabe *et al.*, 2007 ; Mori *et al.*, 1992 ; Milde *et al.*, 1983]. En effet, les essais chimiques de laboratoire ne prennent généralement pas en compte les interactions

matériaux – microorganismes mises en jeu dans les égouts [Alexander and Fourie, 2011]. De même, les essais *in situ*, du fait de la non-maîtrise de leurs conditions expérimentales, ne permettent pas d'approfondir la compréhension des mécanismes chimiques et microbiologiques mises en jeu au cours de la biodétérioration ; mécanismes demeurant à ce jour non entièrement élucidés. Il est donc impératif de concevoir des essais de laboratoire qui se rapprochent au mieux des conditions *in situ*, afin, d'une part, de mieux comprendre les interactions matériaux – microorganismes mis en jeu au cours de la biodétérioration, et, d'autre part, de trouver des voies d'amélioration des formulations pour une plus grande durabilité des tuyaux d'égout.

Cette thèse s'inscrit dans cette démarche et fait suite à la thèse de Hajj Chegade (2010) qui avait mis en œuvre un essai de biodétérioration de mortier par une culture mature de *Acidithiobacillus thiooxidans*. Les principaux acquis de cette première thèse ainsi que les connaissances issues de la littérature scientifique sont réunis dans le chapitre étude bibliographique. Ce dernier nous permettra de définir les principaux objectifs scientifiques de cette étude ainsi que la méthodologie mise en œuvre pour y répondre.

CHAPITRE 1 : LA BIODETERIORATION DANS LES TUYAUX D'EGOUT A BASE DE CIMENT- ETAT DE L'ART

La détérioration des tuyaux d'égout en béton a été reportée pour la première fois par Olmstead et Hamlin (1900), qui ont observé qu'une portion du tuyau en béton avait été transformée en une matière pâteuse blanche. A l'époque, cette attaque intervenant dans la partie émergée du tuyau a été qualifiée de purement chimique et attribuée à l'action de l'acide sulfurique issu de l'oxydation chimique du sulfure d'hydrogène produit par les bactéries sulfato-réductrices (BSR) dans la partie immergée du tuyau (Figure 3 A). En effet, les eaux rejetées dans les tuyaux d'égout par les activités domestiques contiennent d'importantes quantités de composés soufrés oxydés (essentiellement sous forme de sulfates), qui sont les nutriments de prédilection des BSR. Ces dernières transforment les sulfates en sulfure d'hydrogène. En 1936, Lea et Desch ont émis l'hypothèse que dans la partie émergée du tuyau, l'oxydation du sulfure d'hydrogène en acide sulfurique serait catalysée par la surface basique du béton des tuyaux [Lea and Desch, 1936]. La détérioration résulterait des changements induits par l'acide sulfurique dans le béton (Figure 3 A).

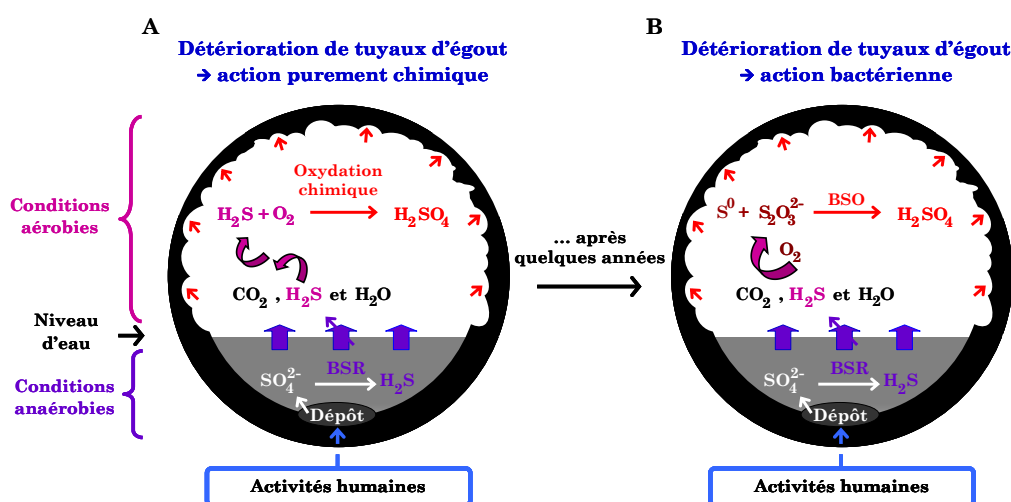


Figure 3 : Schématisation du cycle du soufre dans les tuyaux d'égout avant l'étude de Parker en 1945a (A) et après l'étude de Parker en 1945a (B) (modifié de Roberts *et al.*, 2002).

Cette interprétation a été affinée par Parker (1951 ; 1947 ; 1945a) qui a inclus dans le processus de détérioration l'action d'agents microbiens après avoir isolé des bactéries sulfo-oxydantes (BSO) de la surface du béton détérioré et démontré que ces dernières étaient capables de se développer sur les tuyaux en béton en utilisant les composés partiellement oxydés issus de l'oxydation chimique du sulfure d'hydrogène. Les BSO métabolisent les composés soufrés partiellement oxydés en acide sulfurique : on a alors parlé pour la première fois de détérioration du béton induite par les microorganismes (Figure 3 B). La première BSO isolée par Parker en 1945a sur du béton détérioré fut *Thiobacillus concretivorus* aujourd'hui renommée *Acidithiobacillus thiooxidans* [Kelly and Wood, 2000a]. Par la suite, il a isolé une deuxième BSO, *Thiobacillus neapolitanus* aujourd'hui renommée *Halothiobacillus neapolitanus* [Kelly and Wood, 2000a], puis une troisième, *Thiobacillus thioparus*, capables de produire également de l'acide sulfurique [Parker and Prisk, 1953 ; Parker, 1947].

Des années plus tard, plusieurs auteurs à travers le monde ont réalisé des études qui ont confirmé la présence des espèces mises en évidence par Parker dans le processus de biodétérioration et d'autre part montré que d'autres espèces contribuaient à ce processus : *A. thiooxidans* [Okabe *et al.*, 2007 ; Vincke *et al.*, 2001 ; Mori *et al.*, 1992 ; Diercks *et al.*, 1991 ; Sand *et al.*, 1987 ; Milde *et al.*, 1983] ; *H. neapolitanus* [Sato *et al.*, 2009 ; Okabe *et al.*, 2007 ; Sand *et al.*, 1987 ; Milde *et al.*, 1983] ; *T. thioparus* [Gilchrist, 1953] et plus récemment *T. intermedius* aujourd'hui renommée *Thiomonas intermedia* [Okabe *et al.*, 2007 ; Kelly and Wood, 2000a ; Yoshida *et al.*, 1993 ; Sand *et al.*, 1987 ; Milde *et al.*, 1983] et *T. novellus* aujourd'hui renommée *Starkeya novella* [Kelly *et al.*, 2000b ; Sand *et al.*, 1987 ; Milde *et al.*, 1983].

Par ailleurs, plusieurs auteurs ont montré que d'autres espèces bactériennes hétérotrophes (*Acidophilium*, *Pseudomonas*, *Bacillus* ...) et chimolithotrophes (*Thiothrix*, *Beggiatoa* ...) ainsi que des champignons (*Fusarium*) prenaient part au processus de biodétérioration du béton dans les égouts [Sato *et al.*, 2009 ; Okabe *et al.*, 2007 ; Hernandez *et al.*, 2002 ; Nica *et al.*, 2000 ; Davis *et al.*, 1998 ; Gu *et al.*, 1998 ; Cho and Mori, 1995 ; Islander *et al.*, 1991 ; Sand and Bock, 1984 ; Parker and Prisk, 1953]. En effet, une grande variété de bactéries hétérotrophes et autotrophes ainsi que des champignons ont été isolés de morceaux de béton d'égout biodétériorés en même temps que les BSO [Okabe *et al.*, 2007 ; Hernandez *et al.*, 2002 ; Gu *et al.*, 1998]. Ainsi, dans les égouts, une seule espèce est rarement responsable de la biodétérioration, cette dernière est souvent accompagnée d'un microbiote qui crée des conditions optimales à la croissance des microorganismes responsables de la biodétérioration : on parle alors de mutualisme [Islander *et al.*, 1991].

La découverte du rôle des BSO dans le processus de biodétérioration des tuyaux d'égout a incité la communauté scientifique à se questionner sur les mécanismes chimiques et microbiologiques intervenant au cours de la biodétérioration. Ainsi, différents essais de laboratoire simplifiés ainsi que des essais en conditions *in situ* ont été réalisés à travers le monde [Fernandes, *et al.*, 2012 ; Herisson, 2012 ; Alexander and Fourie, 2011 ; Okabe *et al.*, 2007 ; De Belie *et al.*, 2004 ; Rogers *et al.*, 2003 ; Nica *et al.*, 2000 ; Ehrich *et al.*, 1999 ; Davis *et al.*, 1998 ; Schmidt *et al.*, 1997 ; Hormann *et al.*, 1997 ; Mori *et al.*, 1992 ; Islander *et al.*, 1991 ; Sand, 1987 ; Saricimen and Maslehuddin, 1987 ; Sand and Bock, 1984 ; Milde *et al.*, 1983 ; Thistlethwayte and Goleb, 1972 ; Parker and Prisk, 1953 ; Parker, 1945a, 1945b]. Bien qu'à ce jour plusieurs interrogations persistent sur ce processus, la communauté scientifique est d'accord pour admettre que la biodétérioration du béton dans les égouts semble dépendre de différents facteurs que sont :

- la composition des eaux usées contenues dans les tuyaux d'égout, qui influence l'activité des BSR et indirectement celle des BSO ;
- les conditions environnementales des égouts, température, pH des eaux usées ou de la surface émergée des tuyaux, effets mécaniques et taux d'oxygène qui vont influencer sur les activités des BSR et BSO mais également sur la vitesse d'émission du sulfure d'hydrogène des eaux usées vers la surface émergée des tuyaux ;

- la production plus ou moins importante d'acide sulfurique par les BSO au contact de la surface émergée des tuyaux ;
- la formulation de béton plus ou moins résistante utilisée pour concevoir les tuyaux.

1. Les égouts : milieu environnemental bioréceptif au développement bactérien

Les égouts sont définis comme étant un ensemble de canalisations ou de conduits destiné à collecter et à évacuer les eaux naturelles, pluviales ainsi que celles générées par les activités humaines. Ainsi, les eaux usées contenues dans les tuyaux d'égout urbains sont les sous-produits finaux des activités domestiques. Leur composition chimique est directement responsable de la flore microbienne contenue dans la partie immergée des tuyaux et indirectement responsable de celle contenue dans la partie émergée des tuyaux.

La bioréceptivité d'un environnement peut être définie comme l'ensemble des conditions physico-chimiques et biologiques favorisant le développement de microorganismes [Feugeas, 2010]. Or, les tuyaux d'égout constituent de par leur composition un environnement bioréceptif.

En effet, il est admis que les eaux usées domestiques contenues dans les tuyaux d'égout des grandes villes renferment des quantités de sulfates pouvant atteindre jusqu'à 1000 mg par litre d'eaux usées [Ito *et al.*, 2002] responsables du développement des bactéries sulfato-réductrices (BSR) dans la partie immergée du tuyau. Ces dernières transforment le sulfate en sulfure d'hydrogène qui est par la suite transféré dans la partie émergée des tuyaux où il est utilisé par les bactéries sulfo-oxydantes (BSO) responsables de la biodétérioration du béton. De plus, les conditions environnementales présentes dans les tuyaux d'égout et en particulier la température, l'humidité relative, le pH, la composition chimique et microbiologique ainsi que les effets mécaniques de contact, apportent une contribution à leur bioreceptivité. La température et l'humidité ont un impact sur la croissance et l'activité des bactéries, BSR et BSO, tandis que le pH et la composition chimique sont à l'origine de la sélection des microorganismes présents dans les eaux usées et à la surface du tuyau. Les effets mécaniques liés au niveau de turbulence agissent sur le renouvellement en oxygène des tuyaux, sur la vitesse de transfert du sulfure d'hydrogène des eaux usées vers la surface émergée du béton et sur l'avancement de l'attaque du béton dû au décapage des parties biodétériorées [Yongsiri *et al.*, 2005]. Par ailleurs, dans les tuyaux d'égout, l'attaque dans la zone de flottaison, située juste au-dessus du niveau des eaux usées, est habituellement très sévère en comparaison à celle située dans la couronne des tuyaux de béton. Cette intensité d'attaque est très certainement due à un certain nombre de facteurs, dont les cycles de mouillage-séchage liés aux turbulences des eaux usées. Ces derniers créent des contraintes qui favorisent la fissuration puis le détachement de la couche détériorée à la surface du tuyau [Alexander *et al.*, 2008 ; Goyns *et al.*, 2008 ; Mori *et al.*, 1992].

1.1. La température et l'humidité

La température et l'humidité relative influent sur la croissance des microorganismes responsables de la biodétérioration. En effet, les BSR et les BSO sont des bactéries mésophiles qui ont des températures optimales de croissance qui se situent entre 25 et 30°C pour les BSR et entre 30 et 40°C pour les BSO [Muyzer and Stams, 2008 ; Kelly and Wood, 2000a ; Parker and Prisk, 1953 ; Kluyver and van Niel, 1936 ; Waksman and Joffe, 1922]. C'est pour cette raison que la biodétérioration est plus observée dans les pays à climat chaud. De plus, la température est un facteur qui influence les vitesses des différentes réactions chimiques entraînant la détérioration du béton ainsi que la vitesse de diffusion. Par conséquent, une augmentation de la température des égouts revient à augmenter les vitesses de réactions responsables de la biodétérioration du béton [Vrigaud, 1998].

L'eau circulant dans les tuyaux assure une humidité relative élevée dans la partie émergée des tuyaux d'égout, notamment à la surface de la zone émergée du tuyau. Cette humidité est nécessaire à la mise en place du processus de biodétérioration, car elle favorise l'oxydation du sulfure d'hydrogène à la surface des tuyaux. De plus, les BSO ont un développement optimum en présence d'humidité relative supérieure à 90% ; d'où l'importance de cette dernière dans le processus de biodétérioration [Roberts *et al.*, 2002 ; Ehrich *et al.*, 1999 ; Kowalik, 1980]. Par ailleurs, l'eau est indispensable aux réactions chimiques intervenant au cours de la biodétérioration, car elle accélère les cinétiques de réaction en agissant d'une part comme substrat de réaction et d'autre part comme transporteur des molécules agressives, en l'occurrence les ions hydronium et les ions sulfates, de la surface vers le cœur du matériau [Roberts *et al.*, 2002 ; Stumm and Morgan, 1996].

1.2. Le pH

Le pH des eaux usées a un impact d'une part sur les espèces microbiennes qui colonisent la partie immergée du tuyau et d'autre part sur la nature des espèces chimiques présentes. En effet, les eaux usées ont un pH d'environ 6 – 7 pour lequel le sulfure d'hydrogène produit par les BSR est essentiellement sous forme de H₂S (aqueux) et de HS⁻ (Équation 1) [Yang *et al.*, 2005 ; Yongsiri *et al.*, 2005 ; Roberts *et al.*, 2002].



Du fait que l'H₂S est faiblement soluble dans l'eau en H₂S aqueux, ce dernier est mécaniquement émis dans l'atmosphère du tuyau selon la loi d'Henry :

$$p_i = x_i^L \cdot K_i$$

p_i est la pression partielle du corps pur gazeux
 x_i^L est la fraction molaire du corps pur gazeux dans un solvant
 K_i est la constante de la loi d'Henry.

Ainsi, la présence du sulfure d'hydrogène dans la partie émergée du tuyau d'égout est la conséquence du pH de l'eau usée dans la partie immergée.

Le pH de la surface du béton va influencer les vitesses de colonisation et de biodétérioration du tuyau. En effet, les mécanismes abiotiques, tels que la carbonatation, la lixiviation et l'adsorption du sulfure d'hydrogène sur la surface du béton vont permettre de la rendre bioréceptive à l'installation des BSO [Guillitte, 1995].

1.3. Les effets mécaniques

Les eaux usées des tuyaux d'égout sont des milieux dynamiques soumis à des fluctuations qui ont une influence directe sur le développement des BSR, et par conséquent sur celui des BSO. En effet, ces effets mécaniques ont un impact sur la composition des eaux usées dans la partie immergée liée :

- au renouvellement des nutriments et des substances chimiques disponibles, en l'occurrence la quantité de sulfates.
- à la quantité d'oxygène dissous, qui doit être moindre, afin de favoriser la mise en place de conditions anaérobies indispensables au développement des BSR (Figure 3). En effet, un liquide en mouvement dissout plus d'oxygène qu'un liquide stagnant.
- au fait qu'ils favorisent l'émission du sulfure d'hydrogène des eaux usées vers la partie émergée des tuyaux.

Ces flux mécaniques ont également un impact sur l'avancement de la biodétérioration du tuyau dans la partie émergée car ils peuvent :

- perturber les surfaces des tuyaux et conduire au détachement des couches détériorées faiblement liées recouvrant la surface du tuyau en béton surtout dans la zone de flottaison. Cette action a pour conséquence l'exposition de zones précédemment saines qui sont par la suite attaquées par l'acide sulfurique biogénique produit par les BSO entraînant la poursuite de la biodétérioration.
- contribuer au transport de l'acide produit par les BSO à l'intérieur du matériau à travers les pores et favoriser le drainage des produits issus de la décomposition des produits hydratés du ciment.

Les tuyaux d'égout de par leur composition physico-chimique et microbiologique sont bien un milieu environnemental bioréceptif à la mise en place de la biodétérioration. Cependant, bien que les égouts soient un milieu bioréceptif, la biodétérioration des tuyaux en béton est tout de même attribuée à l'action des bactéries se développant en son sein.

2. Les bactéries impliquées dans la biodétérioration dans les égouts

Dans les tuyaux d'égout urbains, le processus de biodétérioration est initié par la conversion des sulfates contenus dans les eaux usées en sulfure d'hydrogène. Cette conversion est réalisée par les BSR anaérobies, telles que *Desulfovibrio* [Jensen *et al.*, 2008 ; Monteny *et al.*, 2000]. Les conditions physico-chimiques présentes dans les eaux usées (pH légèrement acide, absence d'oxygène, effets mécaniques, ...) vont favoriser le transfert du sulfure d'hydrogène vers la zone émergée du tuyau. Ce dernier va dans un premier temps s'adsorber sur la surface des tuyaux et contribuer à la rendre bioréceptive à la colonisation par les BSO avant d'être dans un deuxième temps métabolisé par les BSO en acide sulfurique ; ce dernier étant un acide fort va attaquer le béton des tuyaux (Figure 2 B). Cependant, dans les tuyaux d'égout, les BSR et les BSO sont majoritairement retrouvées dans un biofilm. En effet, d'après Costeron *et al.* (1994), dans la nature, toute surface solide en contact avec un fluide contenant des bactéries est susceptible d'être le support d'un biofilm. Tel est le cas des tuyaux d'égout dont la partie immergée anaérobie et la partie émergée aérobie sont respectivement colonisées par des biofilms de bactéries sulfato-réductrices et de sulfo-oxydantes [Satoh *et al.*, 2009 ; Okabe *et al.*, 2005 ; Okabe *et al.*, 1999 ; Kühl and Jorgensen, 1992].

2.1. Les biofilms bactériens dans les tuyaux d'égout

Un biofilm est une communauté multicellulaire plus ou moins complexe, souvent symbiotique, de microorganismes adhérant simultanément entre eux ainsi qu'à une surface, incluse dans une matrice adhésive et protectrice constituée de substances polymériques exo-cellulaires complexes (SEP) [Characklis and Marshall, 1989]. Les biofilms sont présents sur terre depuis des milliards d'années et certains auteurs estiment qu'ils représentent le mode de vie de plus de 99% de bactéries terrestres en conditions favorables [Dupont, 1997]. Ils constituent un mode de protection assurant aux bactéries une meilleure résistance aux stress environnementaux (agents anti-microbiens, température, pH ...) et une meilleure accessibilité aux nutriments [Mattila-Sandhom and Wirtanen, 1992].

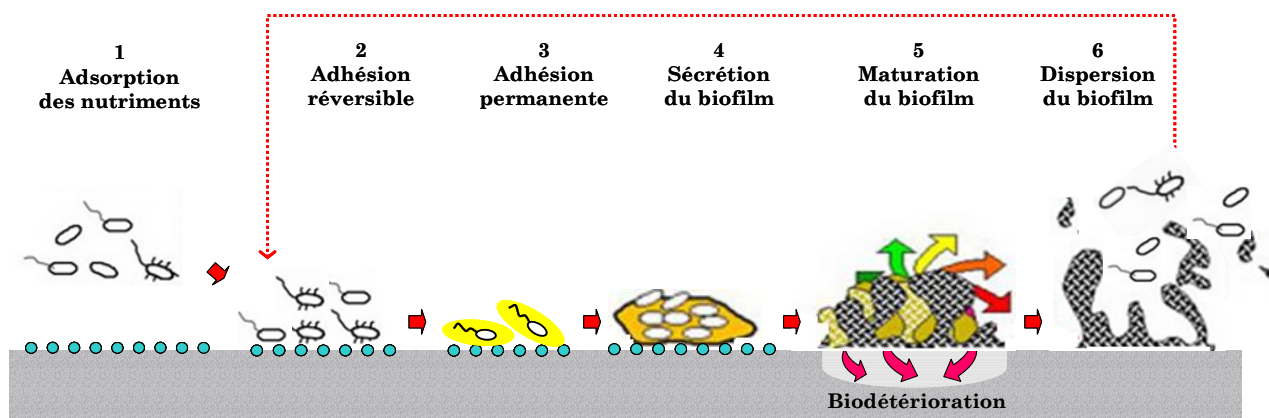


Figure 4 : Schématisation du développement d'un biofilm bactérien (modifié de Ghigo, 2002).

La formation d'un biofilm (Figure 4) peut se décomposer en 6 phases ; une première phase abiotique suivie de 5 phases biotiques :

- L'adsorption des nutriments ou le conditionnement chimique de la surface. Cette étape correspond au dépôt de nutriments (protéines, carbonates, nitrates, sulfates ...) s'accompagnant d'un abaissement du pH de la surface du support. Dans le cas du béton du tuyau d'égout, elle correspond à l'adsorption de composés soufrés partiellement oxydés (S^0 , $S_2O_3^{2-}$, $S_4O_6^{2-}$) ainsi qu'à la lixiviation et à la carbonatation de la surface émergée du tuyau du béton, phénomènes responsables de la diminution du pH de surface permettant l'installation future des BSO.
- L'adhésion réversible ou l'attachement des bactéries. Elle traduit le dépôt de bactéries à la surface, principalement par des liaisons chimiques non covalentes ou faibles. Ce sont essentiellement des liaisons de types van der Waals, électrostatiques ou acide-base de Lewis entre les protéines membranaires des bactéries et la surface [Tomohiro *et al.*, 2008].
- L'adhésion permanente ou l'ancrage des bactéries. Cette phase correspond à la fixation des bactéries par la synthèse de molécules protéiques appelées ligands et l'utilisation de structures d'encrage ou pili. A ce stade, les prémices de la structure du biofilm sont déjà manifestes.
- La sécrétion du biofilm ou la formation de micro-colonies. Au cours de cette phase, les bactéries se divisent conduisant à la formation de micro-colonies qui forment le biofilm. Une fois qu'une densité bactérienne suffisamment importante est atteinte, les micro-colonies commencent à synthétiser des substances exo-polysaccharides (SEP) qui sont des polymères extracellulaires.
- La maturation du biofilm ou accumulation exponentielle. Cette phase correspond à l'épaississement du biofilm avec une synthèse importante de substances exo-polysaccharides (SEP). Ces dernières augmentent l'épaisseur du biofilm et l'adhésion de ce dernier à la surface. Elles permettent également l'intégration d'autres microorganismes au biofilm qui peuvent se développer en utilisant les sécrétions des microorganismes contenues dans le biofilm, on parle alors de métabolisme coopératif. A ce stade, le biofilm est composé de 75 à 95 % de SEP et de 5 à 25 % de bactéries. Dans le cas des tuyaux d'égout, c'est à ce stade que la production de sulfure d'hydrogène par les BSR ou d'acide sulfurique par les BSO est la plus prolifique, donc la biodétérioration des tuyaux est la plus importante.
- La dispersion du biofilm ou phase planctonique. Cette phase correspond au vieillissement du biofilm suite à la manifestation de stress et/ou de carences. Elle conduit à la séparation active des bactéries et peut se solder par la consommation des SEP qui constituent une

source d'énergie. Ces microorganismes retournent à l'état dit « planctonique » et peuvent aller coloniser de nouvelles surfaces, complétant ainsi le cycle.

2.2. Les bactéries sulfato-réductrices

Les bactéries sulfato-réductrices sont des bactéries hétérotrophes à Gram négatif et anaérobies strictes. Elles ont une température optimale de croissance comprise entre 25 et 30°C et un pH optimum de croissance situé entre 6 et 7,5 [Muyzer and Stams, 2008 ; Kluyver and van Niel, 1936]. Les BSR constituent un groupe physiologique unique, car elles sont les seules capables d'utiliser les composés soufrés, essentiellement le sulfate, comme accepteur final d'électrons dans la respiration [Phillibert *et al.*, 2002 ; Barton, 1995]. Les principaux produits finaux de la respiration des BSR avec le sulfate comme accepteur final d'électrons sont le sulfure d'hydrogène (H₂S) et le dioxyde de carbone (CO₂). Elles obtiennent l'énergie nécessaire à leur croissance en oxydant la matière organique (protéines, glucides, lipides) ou l'hydrogène contenu dans les eaux usées tout en réduisant le sulfate en sulfure d'hydrogène (Équations 2 et 3) [Schulze and Mooney, 1993].



Les genres les plus souvent retrouvés dans les eaux usées des tuyaux d'égout sont les *Desulfovibrio* et les *Desulfobulbus* [Ito *et al.*, 2002 ; Okabe *et al.*, 1999 ; Santegoeds *et al.*, 1998 ; USEPA, 1985]. Certaines espèces de ces genres bactériens peuvent utiliser le nitrate comme accepteur d'électrons et produire l'ammoniaque et l'eau comme produits finaux [Steenkamp and Peck, 1981]. Par ailleurs, il a été récemment prouvé qu'elles peuvent tolérer la présence d'oxygène pour des périodes très courtes, jusqu'à 24h [Lamrabet *et al.*, 2011 ; Cypionka, 2000]. Ces propriétés font que les BSR sont les bactéries les plus abondantes dans les eaux usées contenues dans les égouts (partie immergée anaérobie).

Par ailleurs, différents facteurs peuvent influencer l'émission du sulfure d'hydrogène vers la zone émergée des tuyaux d'égout : (i) le pH des eaux usées, plus il est acide plus le sulfure d'hydrogène est émis, (ii) les effets mécaniques, plus les turbulences sont importantes plus le sulfure d'hydrogène est émis mais également (iii) la présence de métaux dans les eaux usées. En effet, le sulfure d'hydrogène peut précipiter avec certains métaux, tels que le fer, le cuivre, le plomb, etc ... [Zhang *et al.*, 2008].

2.3. Les bactéries sulfo-oxydantes

Les bactéries sulfo-oxydantes (BSO) sont des bactéries chimiolithotrophes à Gram négatif et aérobies [Waksman and Joffe, 1922]. Elles obtiennent l'énergie nécessaire à leur croissance en oxydant les composés soufrés (sulfure d'hydrogène [H₂S], soufre élémentaire [S⁰], thiosulfate [S₂O₃²⁻],

tétrathionate [$\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$] en sulfates et en acide sulfurique. Les oxydations de ces composés soufrés sont accompagnées d'une diminution de pH [Parker and Prisk, 1953].

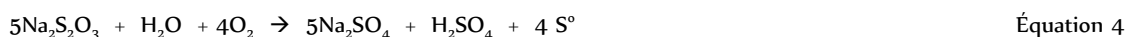
T. thioparus, *S. novella*, *H. neapolitanus*, *T. intermedia* et *A. thiooxidans* sont les espèces qui sont incriminées dans la biodétérioration du béton dans les tuyaux d'égout [Okabe *et al.*, 2007 ; Vincke *et al.*, 2001 ; Mori *et al.*, 1992 ; Milde *et al.*, 1983 ; Parker and Prisk, 1953 ; Parker, 1945a]. Elles peuvent être divisées en deux groupes en fonction de leur gamme de pH de croissance :

- Les bactéries sulfo-oxydantes neutrophiles (BSON) comprenant les espèces *T. thioparus*, *S. novella*, *H. neapolitanus*, *T. intermedia* ont une gamme de pH de croissance comprise entre 10 et 1,9 [Okabe *et al.*, 2007 ; Roberts *et al.*, 2002 ; Islander *et al.*, 1991].
- Les bactéries sulfo-oxydantes acidophiles (BSOA) comprenant l'espèce *A. thiooxidans* a une gamme de pH de croissance comprise entre 4 et 0,5 [Okabe *et al.*, 2007 ; Roberts *et al.*, 2002 ; Islander *et al.*, 1991].

2.3.1. *Thiobacillus thioparus*

Bactérie aérobie stricte, autotrophe et mobile, découverte par Nathansohn en 1902 [Nathansohn, 1902]. Elle a une température optimale de croissance de 30°C et une gamme de pH de croissance comprise entre 4,5 et 10 avec un pH optimum de 7 [Vishniac and Santer, 1957]. Elle peut oxyder le sulfure d'hydrogène, le soufre élémentaire, le tétrathionate ainsi que le thiosulfate [Oyarzun *et al.*, 2003].

Le sulfure d'hydrogène est oxydé en acide sulfurique avec les polythionates comme intermédiaires [Moghanloo *et al.*, 2010 ; Oyarzun *et al.*, 2003 ; Vishniac and Santer, 1957]. Le soufre élémentaire est très lentement et très faiblement oxydé en acide sulfurique et la croissance bactérienne est très lente [Parker and Prisk, 1953 ; Starkey, 1934]. Le tétrathionate est oxydé en soufre élémentaire puis en acide sulfurique [Vishniac and Santer, 1957]. Le thiosulfate est oxydé en sulfate, en acide sulfurique et en soufre élémentaire, avec une accumulation transitoire de tétrathionate [Vishniac, 1952]. Par la suite, une lente oxydation du soufre élémentaire en acide sulfurique est observée (Équations 4 et 5).



Lors de la croissance de *T. thioparus* dans un milieu liquide contenant du thiosulfate, une fine pellicule constituée de cellules et de soufre est observée à la surface du milieu [Hondjuila Miokono *et al.*, 2011 ; Starkey, 1934]. De même, Rigdon et Beardsley (1956) et Islander *et al.*, (1991) ont affirmé que *T. thioparus* est la première BSO à coloniser la surface de béton d'un tuyau neuf et qu'*in situ* une pellicule visqueuse a été observée, cette dernière disparaissant durant les étapes ultérieures de la détérioration.

2.3.2. *Starkeya novella*

Bactérie aérobique stricte, autotrophe facultative (mixotrophe) et non mobile, découverte par Starkey en 1934. Elle a une température optimale de croissance comprise entre 25 et 30°C et une gamme de pH de croissance comprise entre 5,7 et 9 avec un pH optimum de 7 [Kelly *et al.*, 2000b ; Vishniac and Santer, 1957]. Elle peut oxyder le soufre élémentaire, le tétrathionate ainsi que le thiosulfate. Le soufre élémentaire est préférentiellement utilisé en condition autotrophique. Le sulfure d'hydrogène n'est oxydé qu'en présence d'un composé organique tel que l'extrait de levure [Herisson, 2012]. Le thiosulfate est faiblement oxydé en sulfate et en acide sulfurique (Équation 6) [Kappler *et al.*, 2001]. En effet, seul 20% du thiosulfate est oxydé après 40 jours de croissance [Parker and Prisk, 1953]. Toutefois, en présence d'extrait de levure, l'oxydation est plus importante.



2.3.3. *Thiomonas intermedia*

Bactérie aérobique stricte, autotrophe facultative (mixotrophe) et mobile, découverte par London en 1963. Elle a une température optimale de croissance comprise entre 30 et 35°C et une gamme de pH de croissance comprise entre 1,9 et 9 avec un pH optimum de croissance compris entre 6,4 et 6,8 [London and Rittenberg, 1966]. Elle oxyde le thiosulfate, mais est capable également d'oxyder le soufre, le sulfure d'hydrogène et le tétrathionate uniquement en présence de thiosulfate. Cependant, la croissance de *T. intermedia* et la production d'acide sulfurique dans un milieu ayant le thiosulfate comme source de soufre sont faibles et peuvent être augmentées par l'ajout d'un composé organique, tel que l'extrait de levure, le glucose, le fructose ou le maltose [London, 1963].

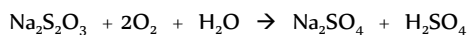
2.3.4. *Halothiobacillus neapolitanus*

Bactérie aérobique stricte, autotrophe et non mobile, découverte par Nathansohn en 1902. Elle a une température optimale de croissance de 28°C et une gamme de pH de croissance comprise entre 3 et 8,5 avec un pH optimum de 6 [Nathansohn, 1902]. Elle peut oxyder le sulfure d'hydrogène, le soufre élémentaire, le tétrathionate ainsi que le thiosulfate [Okabe *et al.*, 2007 ; Wood *et al.*, 2005 ; Parker and Prisk, 1953].

Le sulfure d'hydrogène est oxydé en acide sulfurique. Le soufre élémentaire est lentement et faiblement oxydé en acide sulfurique. Le tétrathionate est oxydé en sulfate et en acide sulfurique (Équation 7) [Parker and Prisk, 1953]. Le thiosulfate est oxydé en sulfate, en acide sulfurique et en tétrathionate. Le tétrathionate accumulé dans le milieu peut être totalement converti en sulfate et en acide sulfurique si le pH du milieu est maintenu au-dessus de 4,7 [Parker and Prisk, 1953] (Équations 7 et 8).



Soit:



2.3.5. *Acidithiobacillus thiooxidans*

Bactérie aérobie stricte, autotrophe et mobile, découverte par Waksman and Joffe en 1922. Elle a une température optimale de croissance comprise entre 28 et 30°C et une gamme de pH de croissance comprise entre 0,5 et 4 avec un pH optimum de croissance compris entre 2,0 et 3,5 [Lee *et al.*, 2006 ; Kempner, 1966 ; Waksman and Joffe, 1922]. Elle peut oxyder le sulfure d'hydrogène, le soufre élémentaire, le tétrathionate ainsi que le thiosulfate.

Le sulfure d'hydrogène est oxydé en acide sulfurique, mais la production d'acide sulfurique n'est suffisante que pour diminuer le pH à 2. Le soufre élémentaire est rapidement et intensément oxydé en acide sulfurique ; ce qui conduit à la diminution du pH à une valeur de 1. Le tétrathionate est oxydé en sulfate et en acide sulfurique (Équation 8) [Parker and Prisk, 1953]. Le thiosulfate est oxydé en sulfate, en acide sulfurique avec une production intermédiaire de soufre élémentaire, qui est très rapidement converti en acide sulfurique [Masau, *et al.*, 2005 ; Parker and Prisk, 1953] (Équations 4 et 5). Plus la concentration initiale en thiosulfate est importante, plus la quantité de soufre élémentaire formée est élevée et moins la croissance bactérienne est rapide. En effet, cette dernière est inhibée pour des concentrations de thiosulfate supérieures ou égales à 40 g/L [Lee *et al.*, 2000].

Plusieurs auteurs ont affirmé que *A. thiooxidans*, du fait de son acidophilie est la dernière BSO à coloniser la surface des tuyaux en béton ou en mortier. Elle constitue le dernier chaînon de la succession bactérienne menant à la biodétérioration du béton ou mortier dans les égouts. Elle est par conséquent retrouvée dans les zones où une biodétérioration est sévère [Okabe *et al.*, 2007 Roberts *et al.*, 2002 ; Islander *et al.*, 1991 ; Milde *et al.*, 1983].

2.3.6 Résumé des caractéristiques de croissance des différentes souches de BSO impliquées dans le processus de biodétérioration

Les caractéristiques de croissance des différentes souches de BSO impliquées dans le processus de biodétérioration sont résumées dans le tableau 1.

Dans les égouts, la formation du biofilm de BSO à la surface des tuyaux est conditionnée par différents facteurs, les plus importants étant : la disponibilité en nutriments, en l'occurrence les composés organiques et soufrés oxydés pour les BSR et les composés soufrés partiellement oxydés pour les BSO ; l'humidité sans laquelle aucune formation de biofilm n'est possible [Carpentier, 1999] et surtout la composition du matériau qui dicte l'adhésion et le développement plus ou moins importants des BSO. Ce dernier facteur influe sur la capacité des BSO à produire de l'acide

sulfurique au contact du matériau, puisque ce dernier peut relarguer des éléments nocifs aux BSO (cas de l'aluminium relargué par les bétons et mortiers CAC) [Alexander and Fourie, 2011 ; Saucier and Lamberet, 2009 ; Hormann *et al.*, 1997].

	pH de croissance	pH optimum de croissance	Température optimale de croissance	Source de soufre	Intermédiaire de métabolisme	Produit de métabolisme
<i>T. thioparus</i>	4,5 - 10	7	30° C	H ₂ S, S ⁰ , S ₄ O ₆ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻	S ⁰ , S ₄ O ₆ ²⁻ , Polythionate	SO ₄ ²⁻ , H ⁺
<i>S. novella</i>	5,7 - 9	7	25 - 30° C	H ₂ S, S ⁰ , S ₄ O ₆ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻		SO ₄ ²⁻ , H ⁺
<i>T. intermedia</i>	1,9 - 9	6,4 - 6,8	30 - 35° C	S ₂ O ₃ ²⁻		SO ₄ ²⁻ , H ⁺
<i>H. neapolitanus</i>	3 - 8,5	6	28° C	H ₂ S, S ⁰ , S ₄ O ₆ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻	S ₄ O ₆ ²⁻	SO ₄ ²⁻ , H ⁺
<i>A. thiooxidans</i>	0,5 - 4	2 - 3,5	28 - 30° C	H ₂ S, S ⁰ , S ₄ O ₆ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻	S ⁰	SO ₄ ²⁻ , H ⁺

Tableau 1 : Caractéristiques de croissance des BSO responsables de la biodétérioration.

3. Les tuyaux d'égout : raisons et mécanismes d'attaque bactérienne

La surface des tuyaux d'égout peut être colonisée par les BSO qui produisent de l'acide sulfurique et des sulfates, responsables de sa détérioration. Cette attaque est favorisée par les conditions environnementales retrouvées dans les égouts et surtout par la bioréceptivité de la surface de ces matériaux.

3.1. La bioréceptivité de la surface des tuyaux d'égout

La bioréceptivité d'une surface de matériau peut être définie comme l'ensemble des propriétés permettant l'attache et le développement des microorganismes [Guillitte, 1995]. Elle est un préambule à la biocolonisation et est dépendante des caractéristiques physiques liées à sa mise en œuvre (porosité, rugosité) ainsi que de la composition chimique liée à sa formulation (pH, phases cristallines).

En effet, le pH de la surface d'un tuyau d'égout, en béton ou en fonte recouverte de mortier, fraîchement installé est compris entre 12,4 et 13,5 [Macias *et al.*, 1996 ; Lea, 1970] ; donc quasiment non-colonisable par les microorganismes, car peu d'entre eux arrivent à se développer sur une surface aussi basique. Toutefois, la composition chimique de la surface du béton est susceptible de changer avec le temps suite aux phénomènes de carbonatation et de lixiviation à l'eau. Ces phénomènes vont contribuer à augmenter la porosité et à abaisser le pH de la surface du tuyau d'égout. De plus, l'adsorption du sulfure d'hydrogène à la surface du tuyau va également conduire à

la diminution de son pH de surface, mais aussi à la disponibilité des nutriments (composés soufrés) à la surface du tuyau [Mori *et al.*, 1992].

3.1.1. Composition chimique des tuyaux d'égout

La conception des tuyaux d'égout a évolué dans le temps parallèlement aux avancées technologiques réalisées dans le génie civil. A l'origine, les tuyaux d'égout étaient construits en pierres, puis en brique et enfin en matériaux cimentaires après la découverte du ciment (Figure 5). Ces évolutions dans la conception des tuyaux d'égout ont été initiées dans le but de diminuer les coûts et de faciliter l'installation des tuyaux d'égout. En effet, les tuyaux en matériaux cimentaires peuvent être confectionnés très vite, en très grand nombre et de façon maîtrisée en usine. De ce fait, aujourd'hui, les tuyaux d'égout sont majoritairement conçus en béton ou en fonte (alliage de fer contenant 2,1 à 6,67 % de carbone). Ces derniers sont très souvent recouverts à l'intérieur d'un mortier protecteur sacrificiel qui l'isole du milieu agressif prolongeant ainsi sa durée de vie. Ainsi, étudier la composition chimique des tuyaux d'égout revient à étudier celle du béton ou du mortier qui le compose.



Figure 5 : Photographies de différents types de tuyaux d'égout. a – tuyau d'égout en pierre Texas, USA ; b – tuyau d'égout en brique New York, USA ; c – tuyau d'égout en béton Texas, USA.

Le béton est un matériau composite résultant du mélange d'un squelette granulaire (granulats et sable) et d'une pâte de ciment durcie composée de ciment, d'eau et parfois d'adjuvants. Le mortier par contre n'est composé que de sable, de ciment, d'eau et parfois d'adjuvants. Les granulats et le sable peuvent être siliceux, calcaires ou à base d'aluminate de calcium. Toutefois, les plus souvent utilisés dans la fabrication du béton ou mortier sont des granulats siliceux qui sont chimiquement inertes en présence d'acide sulfurique. Ainsi, la réactivité chimique du béton ou mortier est liée à celle de la pâte de ciment [Feugeas, 2010].

Le ciment est un liant hydraulique. Il s'agit d'une matière minérale finement moulue, qui, gâchée avec de l'eau, forme une pâte qui durcit suite à des réactions chimiques désignées par le terme « hydratation ». Après le durcissement, le solide formé conserve sa résistance et sa stabilité même sous l'eau. En dehors du ciment Portland qui correspond à plus de 95% des ciments utilisés, il existe d'autres types de ciments : les ciments d'aluminate de calcium, les ciments à base de sulfoaluminate

de calcium, le ciment d'oxychlorure de magnésium, le ciment de phosphate de magnésium et enfin les géo-polymères.

Le ciment Portland (OPC) est le premier ciment ayant été artificiellement conçu et il est à ce jour le ciment le plus utilisé (environ 3 milliards de tonnes/an) ; d'où sa large utilisation dans la conception des tuyaux d'égout. Pour des applications spécifiques, comme la protection des tuyaux en fonte, des mortiers à base de ciment d'aluminate de calcium (CAC) sont également utilisés. En effet, le ciment CAC est connu pour être plus résistant aux attaques acides que le ciment OPC [Alexander and Fourie, 2011 ; Roberts *et al.*, 2002 ; Ehrich *et al.*, 1999 ; Hormann *et al.*, 1997].

3.1.1.1. Composition chimique de la pâte de ciment Portland

Le ciment OPC est fabriqué à partir de clinker et de gypse. Des constituants additionnels peuvent être substitués au clinker [Norme NF EN 206 – 1]. Les abréviations suivantes (Tableau 2) basées sur les oxydes sont utilisées pour décrire la chimie des différents constituants du ciment.

Oxyde	CaO	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	SO ₃	TiO ₂	CO ₂	H ₂ O
Abréviation	C	S	A	F	\$ ou <u>S</u>	T	<u>C</u>	H

Tableau 2 : Abréviations utilisées pour décrire la chimie des différents constituants du ciment.

Le clinker contient quatre minéraux principaux décrits par importance décroissante vis-à-vis de leur quantité. Ces derniers sont hydratés selon un processus de dissolution et de précipitation [Scrivener, 2003 ; Neville, 2000] :

- Le silicate tricalcique (C₃S) qui donne une résistance mécanique au matériau au jeune âge donc à court terme. Son hydratation conduit à la formation de portlandite (CH) et du silicate de calcium hydraté (C-S-H) (Équation 9).



- Le silicate bicalcique (C₂S) qui donne une résistance mécanique au matériau à moyen et long termes. Son hydratation conduit également à la formation de portlandite (CH) et du silicate de calcium (C-S-H) (Équation 10).



- L'aluminate tricalcique (C₃A), qui réagit très vite, conduirait à une prise très rapide du matériau. Ainsi, le sulfate de calcium est ajouté pour ralentir son hydratation qui se déroule en deux étapes. La première aboutit à la formation d'ettringite (C₆A\$₃H₃₂ souvent appelé AFt) (Équation 11).



La deuxième conduit à la formation du monosulfo-aluminate de calcium hydraté ($C_4A\$H_{12}$, souvent appelé AFm), dû à la réaction entre l'ettringite ($C_6A\$_3H_{32}$) et le reste d'aluminate tricalcique (C_3A) suite à la consommation complète du gypse ($C\$H_2$) (Équation 12).



- L'alumino-ferrite tétracalcique (C_4AF) réagit selon le même principe que le C_3A . Cependant, la réaction est plus lente avec une substitution partielle des oxydes d'aluminium (A) par les oxydes de fer (F) dans les différents composés formés.

Ainsi, la résistance de la pâte de ciment aux solutions agressives acides est liée à la stabilité des hydrates formés : C-S-H, ettringite, monosulfoaluminate de calcium hydraté et portlandite [Faucon *et al.*, 1997 ; Romben, 1979]. Globalement, ces différentes phases sont stables à des valeurs de pH élevés ou très élevés. Le pH de la solution interstitielle de la pâte de ciment OPC est supérieur à 13 à cause de l'accumulation d'ions alcalins (Na^+ et K^+) au cours de la dissolution du ciment [Macias *et al.*, 1996 ; Lea, 1970]. Ainsi, aucun des hydrates de la pâte de ciment OPC n'est stable à des pH inférieurs à 7. Un autre paramètre important à prendre en compte est la solubilité des hydrates formés. En effet, la résistance à une attaque acide d'un hydrate pourra être élevée en dépit de son instabilité en conditions acides, si sa solubilité est très faible. Ainsi, lors d'une attaque acide, on pourra estimer que la résistance des hydrates est inversement proportionnelle à leur solubilité à un pH acide donné. La portlandite est l'hydrate le plus vulnérable lors d'une attaque acide ; ce qui est d'autant plus pénalisant qu'il est présent en forte quantité dans la pâte de ciment OPC :

$$\begin{aligned} \text{solubilité CH} &>> \text{solubilité AFm et AFt} > \text{solubilité C-S-H} \\ \text{résistance CH} &<< \text{résistance AFm et AFt} < \text{résistance C-S-H} \end{aligned}$$

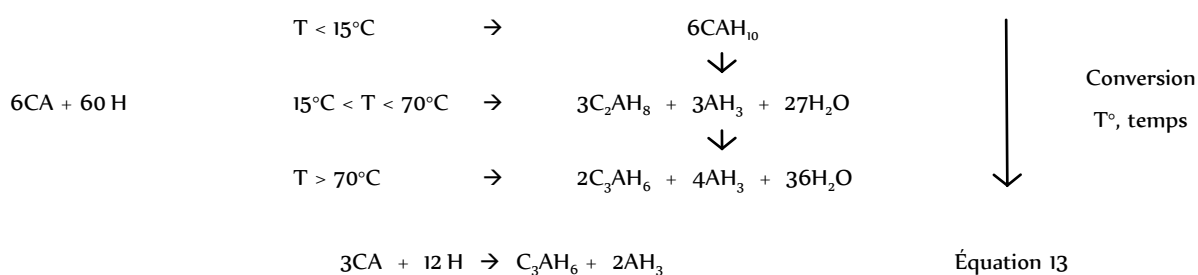
Le ciment OPC encore appelé ciment courant est subdivisé, selon la norme EN 197 – 1, en cinq types en fonction de sa composition chimique :

- CEM I ou ciment Portland, composé de 95 % de clinker et au plus 5 % de constituants secondaires,
- CEM II ou ciment Portland composé, contenant 65 % de clinker et au plus 35 % d'autres constituants : laitier de haut fourneau, fumée de silice (limitée à 10 %), pouzzolane naturelle, cendres volantes, calcaires, constituants secondaires,
- CEM III ou ciment de Haut fourneau, constitué de 36 et 95 % de laitier de haut fourneau et de 5 à 19 % de clinker,
- CEM IV ou ciment pouzzolanique, composé de 45 et 90 % de clinker, d'au plus 35 % de pouzzolane et de 55 % de cendres siliceuses (dont 10 % de fumée de silice),
- CEM V ou ciment composé, contenant 20 à 64 % de clinker, 18 à 50 % de cendres volantes et 18 à 50 % de laitier

Ainsi, les ciments CEM III, CEM IV et CEM V, du fait de leur faible quantité de clinker, donc de portlandite, sont plus résistants à l'attaque acide, d'où leur grande utilisation en environnements agressifs.

3.1.1.2. Composition chimique de la pâte de ciment CAC

Le ciment CAC est plus riche en aluminium (Al) que le ciment OPC et à contrario contient moins de silicium (Si). Le principal minéral est l'aluminate monocalcique (CA). D'autres phases cristallines secondaires sont également formées en fonction des types de ciments CAC : gehlenite (C_2AS), bélite (C_2S), l'alumino-ferrite tétracalcique (C_4AF) et parfois la mayenite ($C_{12}A_7$). Certaines phases non réactives sont également observées : la merwinite ($Ca_3Mg[SiO_4]_2$) et le titanate de calcium (CT). L'aluminate monocalcique est hydraté selon un processus de dissolution et de précipitation tout comme le ciment OPC [Scrivener, 2003]. Toutefois, les réactions chimiques sont différentes. L'hydratation se fait en plusieurs étapes, qui varient avec la température, pour toutefois conduire à terme à la formation d'aluminate de calcium hydraté (C_3AH_6) et d'hydroxyde d'aluminium ou gibbsite (AH_3) (Équation 13) [Sakamoto and Kudo, 2000 ; Scrivener *et al.*, 1999].



L'hydratation de la bélite (C_2S) conduit à former des hydrates qui peuvent être différents de ceux trouvés lors de l'hydratation de ce minéral dans le ciment OPC ; silicate de calcium hydraté contenant de l'aluminium (C-A-S-H) ou hydrogénat ($C_3AS_xH_{6-2x}$). Toutefois, contrairement au ciment Portland, il n'y pas de formation de portlandite. La gehlenite (C_2AS) s'hydrate pour former de la stratlingite (C_2ASH_8).

Le pH d'un béton ou mortier CAC est légèrement inférieur à celui d'un béton ou mortier OPC ; 12,4 au lieu de 13,5 [Macias *et al.*, 1996]. Cette différence est liée à la différence minéralogique des hydrates (absence de portlandite) mais aussi à une plus faible accumulation d'ions alcalins (Na^+ et K^+). Ainsi, comme pour la pâte de ciment Portland, les hydrates formés ne sont pas stables en milieu acide, à l'exception notable de la gibbsite qui peut être stable jusqu'à des pH voisins de 3. La résistance des hydrates est également inversement proportionnelle à leur solubilité à un pH acide donné :



Les ciments OPC et CAC ont des compositions chimiques différentes. Par conséquent, des mécanismes de résistance différents sont mis en jeu lors de la carbonatation, de la lixiviation à l'eau et de l'attaque par des composés agressifs acides. Ainsi, la composition chimique du matériau cimentaire joue un rôle très important dans la bioréceptivité de ce dernier, car elle va conditionner la vitesse et l'intensité de ces trois actions, qui vont conduire à une baisse progressive du pH de surface du béton ou mortier.

3.1.2. Influence de la porosité de la pâte de ciment et du rapport Eau/Ciment (E/C)

Hormis la composition chimique, la porosité de la pâte de ciment est également un paramètre extrêmement important de la performance des matériaux cimentaires. En effet, cette dernière influe fortement sur la résistance mécanique du matériau, mais aussi sur la vitesse de diffusion, donc sur le transport des espèces agressives à l'intérieur du matériau [Neville, 1973]. Elle est donc l'une des clés de la performance du matériau cimentaire (béton/mortier) vis-à-vis de sa durabilité et de sa résistance mécanique ou chimique [Tulliani, *et al.*, 2002]. De plus, la présence de porosités interconnectées permet aux microorganismes de pénétrer plus facilement à l'intérieur du matériau et donc d'atteindre rapidement les zones saines [De Belie *et al.*, 2004 ; Davis, *et al.*, 1998]. Une porosité élevée du matériau permet donc une avancée plus rapide du front de détérioration. La porosité de la pâte de ciment est quant à elle influencée par le rapport eau sur ciment (E/C).

Le rapport E/C est un facteur très important dont l'augmentation induit parallèlement celle de la porosité du matériau. En effet, l'eau présente en excès, qui ne sert pas aux différents processus d'hydratation du ciment, conduit à une augmentation de la macroporosité [Neville, 2000]. La perméabilité et la diffusivité du matériau se trouvent ainsi augmentées, favorisant la pénétration d'agents potentiellement agressifs (agents chimiques tels que l'eau usée, le dioxyde de carbone, l'hydrogène sulfuré ou des agents biologiques comme les BSO) dans le matériau [Dutron, 1985]. De façon opposée, un rapport E/C du béton inférieur à 0,35 permet d'obtenir des matériaux plus résistants à l'attaque acide et ayant de bonnes propriétés mécaniques [Gutiérrez-Padilla *et al.*, 2010 ; De Belie *et al.*, 2004 ; Zivica and Bajza, 2002]. Ainsi, le rapport E/C, tout comme la composition chimique du ciment, sont deux paramètres importants lors de la formulation du béton/mortier pour la conception des réseaux d'égout.

3.1.3. Carbonatation des tuyaux d'égout

Les tuyaux d'égout, de par leur composition chimique, qui leur confère un pH élevé ($12,4 < \text{pH} < 13,5$), vont très rapidement subir une carbonatation dès leur mise en service. La carbonatation est définie comme l'ensemble des mécanismes chimiques résultant de l'instabilité des phases composant la matrice cimentaire en présence du dioxyde de carbone (CO_2). Généralement, pour un béton ou mortier non saturé, le CO_2 de l'air pénètre sous forme gazeuse dans le milieu poreux de la matrice

cimentaire, se dissout dans la solution interstitielle des pores et réagit avec les phases de la pâte de ciment.

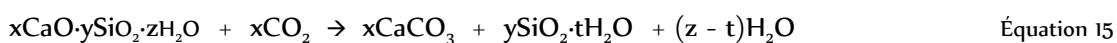
3.1.3.1. Carbonatation de la pâte de ciment OPC

Le dioxyde de carbone dissous attaque préférentiellement la portlandite (CH) et les silicates de calcium hydratés (C-S-H), qui sont les hydrates majoritaires pour former des carbonates de calcium et un gel de silice.

Réaction du dioxyde de carbone avec la portlandite [Thierry, 2005] :



Réaction du dioxyde de carbone avec les silicates de calcium hydratés [Thiery, 2005] :

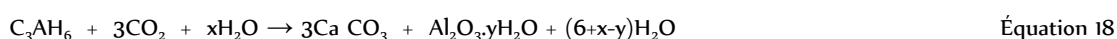
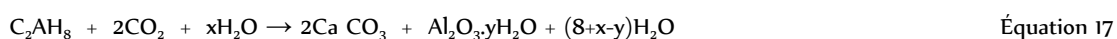
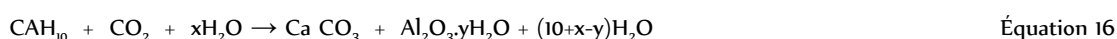


Les phases AFm et AFt peuvent également se carbonater en passant par des intermédiaires réactionnels comme le monocarboaluminate de calcium hydraté pour finir par former du carbonate de calcium et de la gibbsite.

3.1.3.2. Carbonatation de la pâte de ciment CAC

Le dioxyde de carbone attaque aussi les hydrates d'aluminate de calcium CAH_{10} , C_2AH_8 et C_3AH_6 pour former à terme du carbonate de calcium et de l'hydroxyde d'aluminium [Blenkinsop *et al.*, 1985].

Réaction du dioxyde de carbone avec les hydrates d'aluminate de calcium [Pundiene, *et al.*, 2006] :



Il y a souvent la formation de monocarboaluminate de calcium hydraté comme intermédiaire réactionnel. La stratlingite se carbonate également et conduit à terme à la formation de gibbsite, de gel de silice et de carbonate de calcium.

La vitesse de carbonatation en condition ambiante varie en fonction de la composition du béton. Cette dernière varie de 1 cm/an de profondeur à moins de 1 mm/an [Gervais *et al.*, 2004 ; George, 1997]. Elle est accélérée quand l'humidité relative est comprise entre 60 et 80 % [Herisson, 2012].

3.1.4. Lixiviation à l'eau des tuyaux d'égout

La lixiviation est définie comme un lessivage des hydrates de la pâte de ciment au contact de milieux fluides. Plus les hydrates seront solubles, plus ces derniers seront lixiviés notamment si le fluide

agresseur est renouvelé ; ce qui généralement ne permet pas d'atteindre la solubilité de l'hydrate se dissolvant.

L'intérieur des tuyaux d'égout est en contact permanent avec l'eau usée contenue dans la partie immergée des tuyaux et lorsque les turbulences apparaissent dans les égouts, cette eau entre en contact avec la partie émergée du tuyau. Par ailleurs, la partie émergée des tuyaux est également en contact permanent avec la fine couche d'eau issue de la condensation de la vapeur d'eau saturant l'atmosphère des égouts [Roberts *et al.*, 2002]. Ainsi, dans les tuyaux d'égout, le béton/mortier est lixivié plus ou moins intensément par l'eau usée, dont le pH est de l'ordre de 6 - 7 [Yang *et al.*, 2005 ; Yongsiri *et al.*, 2003 ; Roberts *et al.*, 2002]. Généralement, la cinétique de lixiviation est liée à la vitesse de diffusion des ions dans la matrice cimentaire qui est liée au gradient de concentration entre la phase interstitielle du béton ou mortier et l'eau usée. La diffusion de l'eau usée dans la phase interstitielle induit la dissolution progressive des hydrates de la pâte de ciment. Elle est responsable de l'évolution chimique et minéralogique du matériau se traduisant par l'apparition d'une zonation de la surface vers le cœur du matériau [Moudilou, 2000 ; Adénot, 1992].

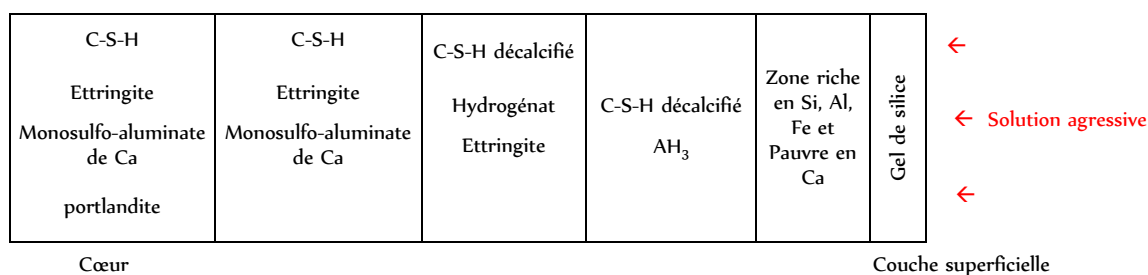


Figure 6 : Zonation d'une pâte de ciment OPC après lixiviation à l'eau dé-ionisée et maintenue à pH 7, d'après Adénot (1992).

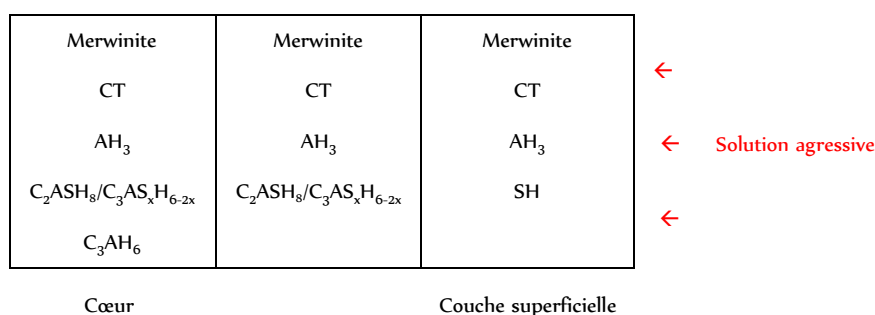


Figure 7 : Schématisation de la zonation d'un matériau CAC après lixiviation à l'eau, inspirée de Bayoux *et al.* (1990).

Cette zonation chimique et minéralogique du matériau cimentaire est due à des phénomènes de dissolution totale ou partielle des hydrates et la précipitation de phases secondaires. Pour une pâte de ciment OPC, la dissolution de la portlandite ainsi que la décalcification de C-S-H sont les mécanismes prédominants. Par contre pour une pâte de ciment CAC, la dissolution des aluminates de calcium

hydratés est prédominante alors que la gibbsite reste stable et se forme en plus grande quantité pouvant ainsi conduire à un mécanisme de protection [Moudilou, 2000 ; Scrivener *et al.*, 1999 ; Faucon, 1997 ; Adenot, 1992 ; Bayoux *et al.*, 1990] (Figure 6 , Figure 7).

L'apparition d'une zonation conduit à une augmentation de la porosité des échantillons, clé de la résistance des matériaux. La vitesse de diffusion dans les zones altérées est par conséquent augmentée et se traduit par une accélération de la dégradation des échantillons [Jain and Neithalath, 2009].

La carbonatation et la lixiviation à l'eau usée sont plus intenses dans les environnements ayant une température élevée [Sakamoto and Kudo, 2000 ; Moudilou, 2000] ainsi que dans les matériaux ayant une porosité élevée conduisant à une plus grande vitesse de diffusion. De plus, la carbonatation et la lixiviation modifient la microstructure et les propriétés mécaniques de la partie superficielle du matériau cimentaire ; elles augmentent donc la porosité du matériau tandis qu'elles diminuent sa résistance mécanique et donc sa durabilité [Jain and Neithalath, 2009 ; Taylor, 1997 ; Adenot, 1992].

3.1.5. L'adsorption du sulfure d'hydrogène sur la surface des tuyaux d'égout

Le sulfure d'hydrogène formé par les BSR dans la partie immergée du tuyau (Figure 3) se trouve initialement sous la forme liquide aqueuse dissous [H_2S (aqueux)]. Pour que ce composé peu soluble contribue au processus de détérioration du béton, il doit être transféré des eaux usées vers la phase gazeuse. L'émission de sulfure d'hydrogène est un processus physico-chimique impliquant à la fois la partie immergée du tuyau ou phase aqueuse et la partie émergée du tuyau ou phase atmosphérique [Elmaleh *et al.*, 1998]. La vitesse de transfert du sulfure d'hydrogène est contrôlée par plusieurs facteurs, les plus importants étant la température, le pH et le niveau de turbulence des eaux usées [Yongsiri *et al.*, 2005].

Le sulfure d'hydrogène dans les eaux usées est essentiellement présent sous forme de deux espèces chimiques : H_2S (aqueux) et HS^- , avec cependant une quantité plus importante de H_2S (aqueux) due au pH acide des eaux usées de l'ordre de 6 - 7 (Équation 1) [Yang *et al.*, 2005 ; Yongsiri *et al.*, 2003 ; Roberts *et al.*, 2002].



Cependant, la faible solubilité de l' H_2S dans l'eau et la présence de fortes turbulences retrouvées dans les égouts vont conduire à l'émission du sulfure d'hydrogène des eaux usées vers la zone émergée des tuyaux selon la loi d'Henry (Équation 19) [Monteny *et al.*, 2000 ; Fu et Shen, 1990].



Dans la partie émergée, l' H_2S (gazeux) va se déposer à la surface du tuyau au-dessus d'une fine couche d'humidité [O'connell *et al.*, 2010]. La présence de cette fine couche d'humidité est le résultat

de l'adsorption de la vapeur d'eau sur la surface du tuyau favorisée par la rugosité de la surface suite à l'action de la carbonatation et de la lixiviation. Cette couche d'eau est importante pour l'oxydation abiotique du sulfure d'hydrogène. Le sulfure d'hydrogène se répartit en couche condensée sur la surface exposée du tuyau ; cette répartition est d'autant plus grande que le pH de surface du tuyau est élevé [Herisson, 2012 ; Roberts *et al.*, 2002].

Sur le béton/mortier, le H_2S (gazeux) est converti en HS^- ou S^{2-} (Équation 20) [Roberts *et al.*, 2002].



Dans la partie émergée du tuyau, HS^- et S^{2-} réagissent avec l'oxygène pour donner des formes partiellement oxydées, comme les thiosulfates, le soufre élémentaire, les poly-sulfates (Équations 21 et 22) [Roberts *et al.*, 2002 ; Chen et Morris, 1972].



Ces composés soufrés partiellement oxydés constituent un excellent substrat pour le développement des BSO [Hondjuila Miokono *et al.*, 2011 ; Hajj Chehade, 2010 ; Roberts *et al.*, 2002 ; Islander *et al.*, 1991 ; Milde *et al.*, 1983 ; Parker and Prisk, 1953].

D'après certains auteurs, l'oxydation du sulfure d'hydrogène à la surface du béton du tuyau se fait selon deux mécanismes majeurs, mais bien distincts, car influencés par le pH de surface du mortier [Islander *et al.*, 1991 ; Parker, 1947]. Le premier mécanisme conduit à la formation du thiosulfate ou du tétrathionate et intervient préférentiellement à la surface d'un béton ou mortier non altéré. Le deuxième mécanisme conduit à la formation du soufre élémentaire et intervient préférentiellement à la surface d'un béton ou mortier détérioré [Nielsen *et al.*, 2008 ; Islander *et al.*, 1991 ; Parker, 1947]. Ainsi, dans les tuyaux d'égout, au cours de l'attaque acide du béton ou mortier par les BSO, le sulfure d'hydrogène est converti en thiosulfate ou en tétrathionate pendant la phase neutrophile du processus de biodétérioration tandis qu'il est converti en soufre élémentaire pendant la phase acidophile.

Par ailleurs, différentes autres études vont dans le même sens que Islander *et al.*, (1991) et Parker (1947). En effet, Parker et Prisk (1953) ont trouvé que le thiosulfate est la seule source qui permet le développement de toutes les BSO neutrophiles (*T. thioparus*, *S. novella*, *H. neapolitanus*, *T. intermedius*) à des pH neutres. Hutchinson *et al.*, (1969) ont montré que le soufre élémentaire est la seule source de soufre qui permet la croissance de *A. thiooxidans* à des pH très bas. Chen et Morris (1972) ont révélé que dans les canalisations, le sulfure d'hydrogène est spontanément oxydé en soufre (10%), en sulfite (30%), en sulfate (30%) et en thiosulfate (30%). Johnston et Mc Amish (1973) ont indiqué que le thiosulfate est relativement instable en milieu acide et est décomposé chimiquement en soufre et en sulfite pour des pH inférieurs à 4. Sand (1987) a montré une activité plus importante

des BSO neutrophiles accompagnée d'une biodétérioration modérée quand le thiosulfate constitue la source de soufre pour l'essai de biodétérioration. Parallèlement, une activité plus importante de *A. thiooxidans* accompagnée d'une biodétérioration sévère est observée quand le sulfure d'hydrogène est utilisé ; ce dernier étant intégralement transformé en soufre élémentaire. Okabe *et al.* (2005) semblent affirmer que le thiosulfate et le sulfate sont les produits majeurs de l'oxydation chimique du sulfure d'hydrogène tandis que le soufre élémentaire est le résultat d'une oxydation biologique. Cependant, leur étude de biodétérioration, réalisée avec des BSO sur des disques de polyméthacrylate de méthyle, a plutôt indiqué une production de thiosulfate. Le fait que le polyméthacrylate de méthyle soit un matériau inerte, contrairement au matériau cimentaire, pourrait expliquer l'absence de soufre élémentaire malgré la présence de BSO.

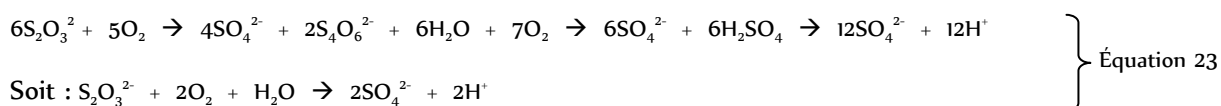
Ces résultats sont pour la plupart en accord avec les hypothèses de Parker (1947) et Islanders *et al.*, (1991). Ainsi, au cours de la biodétérioration des tuyaux d'égout, le sulfure d'hydrogène est bien transformé en thiosulfate et en tétrathionate pendant la phase neutrophile (pH de surface du tuyau supérieur à 5) tandis qu'il est transformé en soufre élémentaire au cours de la phase acidophile (pH de surface du tuyau inférieur à 5).

La carbonatation, la lixiviation à l'eau usée et l'adsorption du sulfure d'hydrogène conduisent à la diminution du pH de surface du tuyau qui passe de 12,4 – 13,5 à moins de 9, valeur de pH permettant la colonisation par les BSO neutrophiles [Roberts *et al.*, 2002 ; Ismail *et al.*, 1993 ; Islander *et al.*, 1991].

3.2. Les mécanismes d'attaque des bétons par l'acide sulfurique biogénique

Les composés soufrés partiellement oxydés à la surface du tuyau sont les nutriments préférentiels des BSO. C'est donc tout naturellement que ces derniers vont coloniser la surface des tuyaux et produire l'acide sulfurique et les ions sulfate qui vont attaquer le matériau cimentaire (Équation 23 et 24).

BSO neutrophiles



BSO acidophile



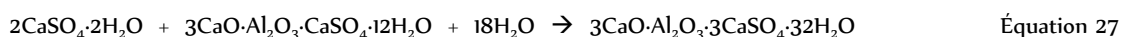
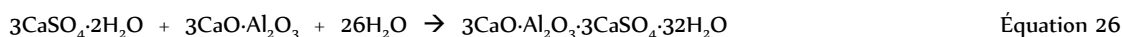
Ainsi, la biodétérioration du béton dans les égouts est la combinaison d'une attaque acide liée à la présence des ions hydronium et d'une attaque sulfatique liée à la présence des ions sulfate [Skalny *et al.*, 2002 ; Attiogbe and Rizkalla, 1988].

3.2.1. Évolution minéralogique lors de l'attaque à l'acide sulfurique du béton ou mortier OPC

Lors de la biodétérioration du béton ou mortier OPC, la portlandite réagit en premier avec l'acide sulfurique pour former le gypse ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Équation 25), qui précipite généralement à la surface du tuyau en béton ou mortier sous forme d'une substance blanche, spongieuse sans propriétés de cohésion et ayant la consistance d'un fromage blanc [Davis *et al.*, 1998 ; Thistlethwayte, 1972]. Il correspond à la matière pâteuse blanche retrouvée sur une portion de tuyau de Los Angeles par Olmstead et Hamlin au début du siècle dernier [Olmstead and Hamlin, 1900].



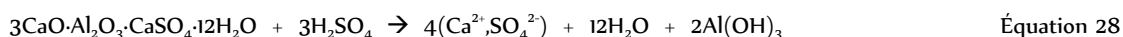
Ainsi, plus la quantité de portlandite dans un béton ou mortier est élevée, cas des matériaux cimentaires réalisés à base de ciment OCP CEM I, plus la biodétérioration de ce dernier sera importante [Alexander and Fourie, 2010 ; Alexander *et al.*, 2008 ; De Belie *et al.*, 2004 ; Roberts *et al.*, 2002 ; Ehrich *et al.*, 1999 ; Hormann *et al.*, 1997 ; Sand *et al.* 1992]. Par la suite, le gypse ainsi formé réagit en partie avec l'aluminate tricalcique résiduel ou le monosulfoaluminate de calcium hydraté pour former de l'ettringite secondaire (Équations 26 et 27).

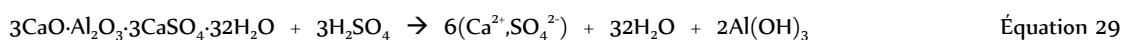


L'ettringite est considérée par certains auteurs [De Belie, 2010 ; De Ceukelaire, 1989] comme étant une phase pouvant conduire à l'expansion du volume du béton ou mortier lorsque l'ettringite précipite dans un milieu poreux restreint. Cette expansion génère des contraintes internes et provoque l'apparition de fissures au sein du matériau, induisant une augmentation des sites de pénétration de l'acide sulfurique produit par les BSO à l'intérieur du béton ou mortier. Ainsi, la formation de gypse et d'ettringite affaiblit l'intégrité structurelle des tuyaux contenus dans les égouts en réduisant la capacité de charge du matériau. Elle peut aboutir à terme à l'effondrement final du tuyau d'égout [Davies *et al.*, 2001].

Cependant, selon certains auteurs [Thistlethwayte, 1972 ; Meyer et Ledbetter, 1970], les conditions acides des tuyaux d'égout pourraient empêcher la formation d'ettringite à la surface du matériau. En effet, l'ettringite, qui n'est pas stable à pH acide, se dissout dans les zones superficielles du matériau en contact direct avec l'acide sulfurique produit par les BSO [Lea, 1970]. Toutefois, Skalny *et al.* (2002) rapporte que l'ettringite pourrait être formé dans des zones plus profondes du matériau à condition que le pH soit suffisamment élevé et que le gypse puisse migrer dans ces régions profondes.

La dissolution de la portlandite est suivie de celle des phases alumineuses, telles que le monosulfoaluminate de calcium hydraté et l'ettringite ; ceux-ci sont convertis dans un premier temps en hydroxyde d'aluminium (souvent sous forme de gibbsite) et en sel de calcium (Équations 28 et 29).

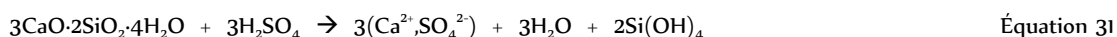




Par la suite, à des pH très faibles, la gibbsite peut réagir pour former des sulfates d'aluminium si leur solubilité est atteinte. Dans le cas contraire, la gibbsite est dissoute (Équation 30).



Les dernières phases à être attaquées par l'acide sulfurique au cours de la biodétérioration sont les silicates de calcium hydratés qui sont convertis en sel de calcium et en gel de silice (Équation 31) [Faucon *et al.*, 1997 ; Romben, 1979].



Ainsi, le produit final issu de la dissolution complète de la matrice cimentaire du béton ou mortier OPC est le gel de silice. Ce dernier est retrouvé à la surface du béton ayant subi une attaque acide sévère (Figure 8) [Alexander et Fourie, 2011 ; Faucon *et al.*, 1997].

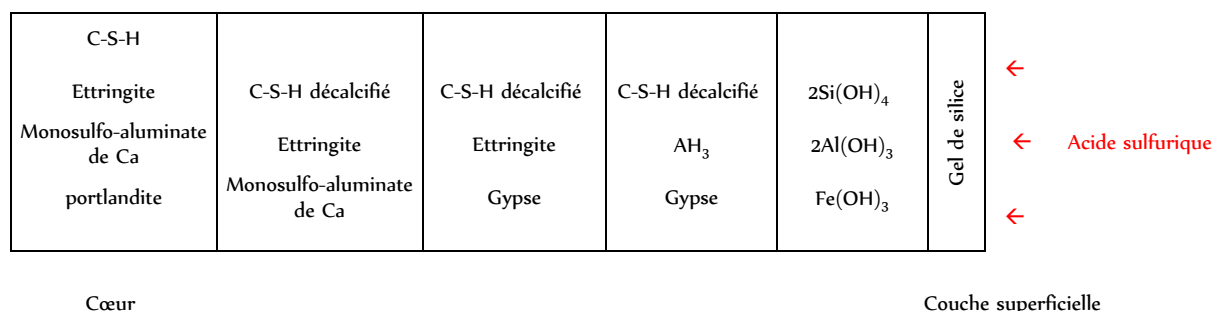


Figure 8 : Schématisation de la zonation d'une pâte OPC après attaque à l'acide sulfurique

Dans les égouts, le pH de surface des tuyaux fabriqués à base de ciment OPC diminue très rapidement de 9 à 1 après l'action des BSO, se soldant par une forte détérioration du matériau (Figure 9) [Alexander et Fourie, 2011 ; Okabe *et al.*, 2007].

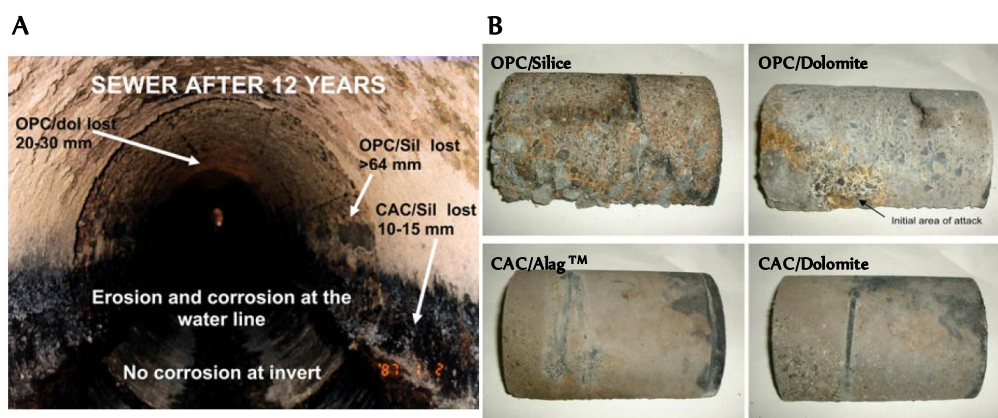
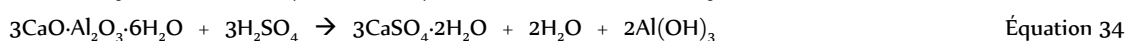
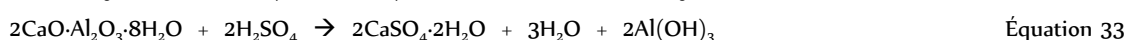


Figure 9 : A - Photographie de l'intérieur d'un égout expérimental montrant la performance de différents matériaux cimentaires après 12 ans d'opération, Virginia (Afrique du Sud). B - Echantillons de mortier OPC et CAC après une exposition de 17 mois dans un égout [Alexander and Fourie, 2011].

3.2.2. Évolution minéralogique lors de l'attaque à l'acide sulfurique du béton/mortier CAC

La bonne performance en milieu acide du béton ou mortier CAC tient dans la nature de ces hydrates, en particulier la gibbsite, qui est stable pour les valeurs de pH supérieures à 3,5 [Scrivener *et al.*, 1999]. De plus, la dissolution de tous les hydrates de la pâte de CAC conduit à la formation d'une quantité additionnelle de gibbsite qui remplit les pores du matériau tout en le protégeant des attaques futures.

Ainsi, lors de la biodétérioration du béton ou mortier CAC, les hydrates d'aluminate de calcium sont les premières phases à être attaquées par l'acide sulfurique pour former du gypse et l'hydroxyde d'aluminium préférentiellement sous forme de gibbsite (Équation 32, 33 et 34) [Scrivener *et al.*, 1999 ; Bayoux *et al.*, 1990].



La solubilité des hydroxydes d'aluminium augmente fortement lorsque le pH devient inférieur à 3,5 conduisant ainsi à une plus grande dissolution. Cette dernière nécessite une grande quantité d'acide (Équation 35) [Scrivener *et al.*, 1999 ; Bayoux *et al.*, 1990].



Cependant, même aux pH faibles, il existe toujours une zone de pH située entre le pH de surface et le pH au cœur de l'échantillon dans laquelle un important dépôt d'hydroxyde d'aluminium est observé ; cette dernière peut avoir une faible porosité et ainsi constituer une barrière à la pénétration future de l'acide sulfurique réduisant considérablement la vitesse de l'attaque [Scrivener *et al.*, 1999].

Ainsi, le produit final issu de la dissolution complète de la matrice cimentaire du béton CAC est le sulfate d'aluminium sachant que certains minéraux minoritaires du clinker qui n'avaient pas réagi sont également présents car non attaqués (Figure 10).

Contrairement aux tuyaux fabriqués à base de ciment OPC, dans les égouts, le pH de surface des tuyaux ne diminue pas de 9 à 1 après l'action des BSO, il est plutôt stabilisé aux alentours de 3 – 4 et le matériau cimentaire est très peu détérioré (Figure 9) [Alexander et Fourie, 2011].

Merwinite	Merwinite	Merwinite	Merwinite	Merwinite	Merwinite	Merwinite	
CT	CT	CT	CT	Merwinite	Merwinite	Merwinite	←
AH ₃	AH ₃	AH ₃	AH ₃	CT	CT	CT	← Acide sulfurique
C ₂ ASH ₈ /C ₃ AS _x H _{6-2x}	Ettringite	Ettringite	Gypse	AH ₃	Al ₂ (SO ₄) ₃ ·6H ₂ O		←
C ₃ AH ₆		Gypse					
Cœur				Couche superficielle			

Figure 10: Schématisation de la zonation d'une pâte de ciment CAC après attaque à l'acide sulfurique pH < 3,5.

4. Le processus de biodétérioration dans les tuyaux d'égout

La biodétérioration des tuyaux d'égout est un processus mettant en jeu des étapes abiotiques (carbonatation, lixiviation, adsorption de nutriments) et biotiques (succession de bactéries sulfo-oxydantes). Les tuyaux de béton ou en fonte recouverte de mortier ont un pH très basique de l'ordre de 12,4 – 13,5 à leur mise en service dans les réseaux d'égout [Macias *et al.*, 1996 ; Lea, 1970]. Ils sont donc non colonisables par les bactéries. Cependant, avec le temps, la surface du tuyau est lixiviée par l'eau usée qu'il contient et carbonatée par le dioxyde de carbone atmosphérique. Elle est également attaquée par le sulfure d'hydrogène produit dans les eaux usées par les BSR. Les effets mécaniques, tels que les turbulences, favorisent le transfert de ce dernier des eaux usées vers la surface des tuyaux sur laquelle le sulfure d'hydrogène est adsorbé et oxydé majoritairement en thiosulfate quand le pH de surface des tuyaux est basique ou neutre et en soufre élémentaire quand le pH de surface est acide [Islander *et al.*, 1991]. Ces trois actions sont complètement abiotiques et forment la première étape du processus de biodétérioration. Elles ont pour conséquence la diminution du pH de surface du tuyau de l'ordre de 12,4 – 13,5 à moins de 10 [Islander *et al.*, 1991].

La diminution du pH de surface à moins de 10 permet la colonisation de la surface du tuyau par les BSO neutrophiles. *T. thioparus* est la première à s'installer sur la surface du tuyau, il métabolise le thiosulfate disponible en acide sulfurique qui va attaquer le béton ou mortier et conduire à la diminution de son pH de surface à 9 [Islander *et al.*, 1991]. Les deuxièmes BSO à coloniser la surface du tuyau sont les *S. novella* et *T. intermedius* qui diminuent le pH de la surface aux environs de 6 – 7 permettant sa colonisation par *H. neapolitanus* [Islander *et al.*, 1991 ; Milde *et al.*, 1983]. Cette dernière, comme les précédentes, métabolise le thiosulfate en acide sulfurique qui attaque le béton ou mortier et diminue un peu plus le pH de surface du tuyau jusqu'à atteindre des valeurs proches de 5 [Milde *et al.*, 1983]. La colonisation de la surface du tuyau par les BSO neutrophiles (BSON) est la deuxième étape de la biodétérioration qui selon la communauté scientifique [Roberts *et al.*, 2002 ; Davis *et al.*, 1998] n'a pour but que de diminuer le pH de surface du tuyau, afin de permettre sa colonisation par la BSO acidophile (BSOA) *A. thiooxidans*. Ainsi, au cours de la phase neutrophile, l'intégrité du tuyau n'est pas remise en cause.

Le pH de surface du tuyau est acide ($\text{pH} < 5$) après le passage des BSON, permettant par conséquent la colonisation par la BSOA *A. thiooxidans*. Cette dernière métabolise le soufre élémentaire désormais présent à la surface du béton en acide sulfurique [Islander *et al.*, 1991]. *A. thiooxidans*, du fait de son caractère acidophile, peut diminuer le pH jusqu'à des valeurs pouvant atteindre 1 pour les matériaux cimentaires réalisés à base de ciment OPC. Pour les matériaux cimentaires réalisés à base de ciment CAC, le pH de surface est stabilisé autour de 3 – 4. De plus le tuyau est protégé par un gel d'alumine qui augmente le pouvoir neutralisant du matériau et limite les échanges avec l'environnement agressif, en l'occurrence l'acide sulfurique produit par les BSO.

La colonisation du béton par les BSOA est la troisième et dernière étape de la biodétérioration au cours de laquelle les BSOA grâce à leur fort pouvoir acidifiant attaquent sévèrement le béton conduisant à une importante détérioration du matériau se traduisant par une perte de masse importante (Figure 11) [Roberts *et al.*, 2002]. La biodétérioration du béton dans les égouts est donc un bon exemple de succession bactérienne.

La biodétérioration des matériaux cimentaires dans les égouts se traduit par la dissolution plus ou moins importante et rapide des phases contenues dans la pâte de ciment à cause de l'attaque de l'acide sulfurique produit par les BSO. Elle évolue de la surface vers le cœur de l'échantillon et s'accompagne d'une diminution de la résistance du matériau résultant d'une augmentation de la porosité totale du béton ou du mortier suite à la décomposition des composés hydratés du matériau et au relargage des produits de cette décomposition à l'extérieur de ce dernier [Zivica and Bajza, 2001]. Ainsi, la détérioration mène à la dégradation progressive des propriétés mécaniques du matériau cimentaire et des propriétés fonctionnelles des tuyaux.

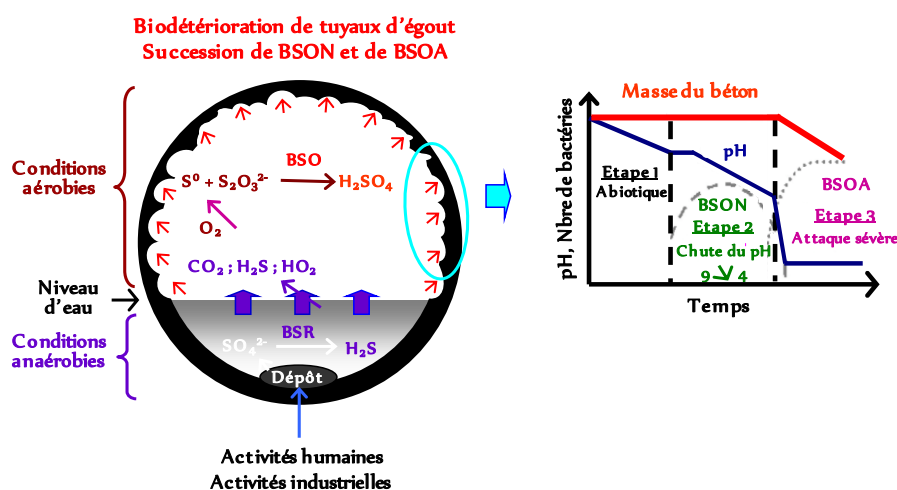


Figure 11 : Schématisation du processus de biodétérioration dans les égouts et des changements théoriques des propriétés biologiques et physiques du béton (modifié de Roberts *et al.*, 2002 et d'Islander *et al.*, 1991).

Toutefois, dans les tuyaux d'égout, la biodétérioration est fonction de la nature des matériaux cimentaires utilisés pour confectionner les tuyaux. En effet, il est reconnu que les matériaux conçus à base de ciment CAC sont plus performants que ceux conçus avec du ciment Portland [Alexander and Fourie, 2011 ; Saucier and Lamberet, 2009 ; Ehrich *et al.*, 1999]. Cette performance serait attribuée à la plus grande quantité d'aluminium contenue dans les matériaux à base de ciment CAC.

En effet, au cours de leur biodétérioration, ces matériaux relarguent de l'aluminium dans l'environnement. Or, l'aluminium a un effet nocif sur la majorité des organismes vivants, car ce dernier est un puissant inhibiteur de nombreux processus biologiques [Pina and Cervantes, 1996 ; Exley and Birchall, 1992 ; Karlik *et al.*, 1980]. En effet, l'Al induit une toxicité cellulaire, car il peut

s'accoler à l'ADN (Acide Désoxyribonucléique) ou s'insérer dans sa double hélice et induire une déstabilisation de sa structure [Exley and Birchall, 1992 ; Karlik *et al.*, 1980]. Or, l'ADN est une molécule présente dans toutes les cellules, car c'est l'unité fonctionnelle de cette dernière. De ce fait, il renferme l'ensemble des informations nécessaires au développement et au fonctionnement de l'organisme. Ainsi, déstabiliser la structure de l'ADN revient à inactiver une cellule. Les études menées par Lee *et al.* (1991) vont dans ce sens, car ces derniers ont révélé qu'une concentration de 1 ppm en Al était susceptible de ralentir la croissance bactérienne de *Anacystis nidulans*, tandis qu'une concentration de 20 ppm pouvait complètement l'inhiber. Pour ce qui est des BSO, Geoffroy *et al.* (2008) ont montré que la croissance de *A. thiooxidans* était complètement inhibée pour une concentration d'Al égale à 583 ppm. Ehrich (1998) a révélé qu'une concentration en Al supérieure à 250 ppm inhibait l'activité de *H. neapolitanus*, celle de *S. novella* l'était à 75 ppm, celle de *T. intermedia* à 50 ppm et enfin celle de *A. thiooxidans* à 750 ppm.

Dans le cas des bétons formulés avec des ciments alumineux, Ehrich *et al.* (1999) ont également montré une moindre production d'acide sulfurique des BSO au contact de ces derniers. Plus récemment, Herisson (2012) a indiqué qu'*in situ*, en présence de mortier CAC, l'activité bactérienne était inhibée à partir d'environ 350 ppm d'aluminium relargué.

5. L'étude de la biodétérioration des tuyaux d'égout dans la littérature scientifique

Dans la littérature scientifique, il existe plusieurs études sur l'évaluation de la performance de différentes formulations de béton ou mortier dans des solutions acides, mais très peu en conditions *in situ*, c'est-à-dire dans les égouts. Cette absence est très certainement liée au fait que l'attaque à l'acide sulfurique biogénique dans les égouts est un processus complexe et très lent. En effet, en conditions *in situ*, il faut attendre environ 6 ans avant de voir apparaître les premiers signes de biodétérioration en pays tempérés [Sand, 1987]. De plus, la vitesse de biodétérioration dans les égouts varie entre 1 – 5 mm/an, nécessitant plusieurs années d'étude avant de pouvoir comparer les performances de différentes formulations de béton ou mortier [Mori, 1991]. Ainsi, depuis quelques années, plusieurs équipes à travers le monde ont mené des recherches de laboratoire sur l'attaque de différentes formulations de béton ou mortier à l'acide sulfurique biogénique, à l'acide sulfurique chimique et aux ions sulfate.

Au départ, les chercheurs ont cru que la biodétérioration des tuyaux dans les égouts était uniquement provoquée par l'attaque des ions sulfate avant de comprendre plus tard qu'il s'agissait là plutôt d'une attaque par l'acide sulfurique. Or, il y a une grande différence entre les deux types d'attaque [Attigbo and Rizkalla, 1988]. Ainsi, l'attaque par les ions sulfate renferme uniquement un des aspects de l'attaque à l'acide sulfurique. Par ailleurs, la détérioration du béton ou mortier

provoquée par l'acide sulfurique s'est avérée plus intense que celle provoquée par les ions sulfate, due à la réaction supplémentaire de dissolution causée par les ions hydronium [Monteny *et al.*, 2000]. Aujourd'hui, les essais de détérioration de béton ou mortier avec les ions sulfate (comme Na_2SO_4 ou MgSO_4) ne sont utilisés que pour évaluer grossièrement les résistances de différentes formulations de béton ou mortier dans le cas d'une attaque de tuyau d'égout [Torii and Kawamura, 1994].

Dans la littérature scientifique, plusieurs auteurs ont affirmé que l'attaque à l'acide sulfurique biogénique dans les tuyaux d'égout est plus sévère que celle à l'acide sulfurique chimique réalisée en laboratoire [De Belie *et al.*, 2004 ; Monteny *et al.*, 2001 ; Thomson, 2000]. Certains ont affirmé que la résistance du béton ou mortier aux attaques chimiques et/ou biologiques était liée au rôle joué par le gypse. Pour certains auteurs, au cours d'une attaque chimique à l'acide sulfurique, le gypse forme une couche qui crée à la surface du béton une barrière physique qui gêne la diffusion des ions impliqués dans les réactions d'attaque (ions sulfate, ions hydronium) ralentissant ainsi la vitesse de détérioration [Monteny *et al.*, 2000]. Par contre, au cours d'une attaque à l'acide sulfurique biogénique, la couche de gypse crée un environnement favorable au développement des BSO. Ces dernières, uniquement les BSOA, pénètrent dans le matériau pour produire de l'acide au contact du front de détérioration [Davis *et al.*, 1998].

Par ailleurs, dans la littérature scientifique, des divergences existent sur les mécanismes impliqués pendant les deux types d'attaque car plusieurs auteurs ont montré qu'une résistance à l'attaque acide chimique ne signifiait pas forcément une résistance à l'attaque acide biogénique [De Belie *et al.*, 2004 ; Vincke *et al.*, 2002 ; Monteny *et al.*, 2000]. Par conséquent, les essais de détérioration de béton ou mortier par l'attaque à l'acide sulfurique chimique ne suffisent pas à représenter pleinement les effets provoqués par les BSO sur le béton des tuyaux d'égout. Toutefois, ils peuvent aider à évaluer les types de dommages pouvant survenir lors de la biodétérioration du béton.

Pour se rapprocher au mieux de la réalité, certains chercheurs ont construit des chambres expérimentales pour simuler, en laboratoire, les conditions *in situ*. Ces essais en chambres expérimentales ont permis d'accélérer par 8 ou même par 24 la vitesse de biodétérioration des échantillons par rapport à ceux placés en conditions *in situ* dans des réseaux d'assainissement [Ehrich *et al.*, 1999 ; Sand, 1987]. Toutefois, dans la majorité des cas, le dispositif expérimental nécessaire est compliqué, lourd (à cause des problèmes de sécurité liés à l'utilisation de l' H_2S) et/ou construit sur mesure [Herisson, 2012 ; Hormann *et al.*, 1997 ; Sand *et al.*, 1987]. De plus, le protocole expérimental ne permet pas d'étudier l'impact de la biodétérioration dans toute sa totalité. Il est présenté dans cette partie, les essais de laboratoire significatifs qui ont servi à la conception du dispositif et du protocole expérimental utilisés pour la présente étude.

5.1. Les études de laboratoire sur l'attaque à l'acide sulfurique biogénique

L'attaque des matériaux cimentaires à l'acide sulfurique biogénique a été étudiée par plusieurs équipes à travers le monde.

5.1.1. Etude de Sand (1987) (Figure 12 A)

Le but de cette étude était d'établir une relation entre la source de soufre, le degré de biodétérioration du béton et la présence d'une espèce de BSO.

5.1.1.1 Les conditions expérimentales de l'essai

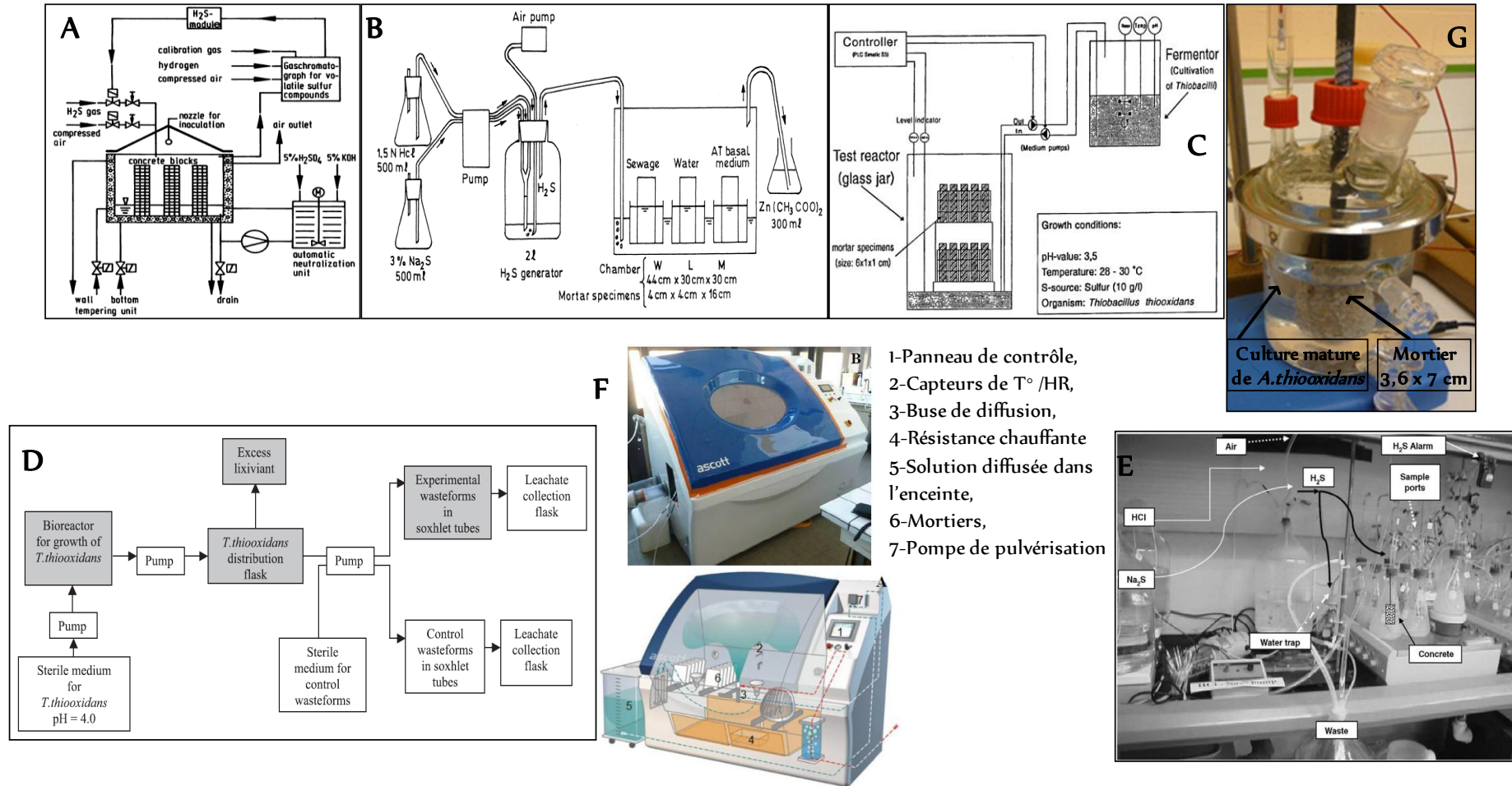
Les échantillons biodétériorés étaient des bétons OPC dont les dimensions étaient de 60 x 11 x 7 cm. Les microorganismes utilisés étaient un mélange de BSON (*T. intermedius*, *S. novella*, *H. neapolitanus*) et de BSOA (*A. thiooxidans*). Le réacteur était une chambre de simulation où les conditions environnementales avaient été optimisées. La chambre était à 30°C et à 95% d'humidité relative. Les échantillons ont été verticalement placés dans une cuve contenant 10 cm d'eau à pH = 7 et ont été périodiquement aspergés par des cultures concentrées de BSO pendant 9 mois. Les bactéries ont été concentrées par centrifugation de façon à obtenir 10^{+13} bactéries par aspersion. L'effet du sulfure d'hydrogène (H_2S) gazeux, du méthylmercaptopan (CH_3SH) gazeux ou du thiosulfate ($S_2O_3^{2-}$) a été individuellement testé. La source de soufre a été ajoutée par pulvérisation.

5.1.1.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées

L'évolution du pH de surface des bétons, de la masse, de la densité bactérienne à la surface des bétons a été évaluée par respectivement une électrode de pH de surface, une balance et un dénombrement bactérien indirect en milieu liquide (nombre le plus probable ou NPP).

5.1.1.3 Les résultats

Après 9 mois d'essai, le CH_3SH n'est pas utilisé par les BSO. En effet, aucune biodétérioration n'a été décelée en sa présence, le pH de surface étant resté à 8,5. Le $S_2O_3^{2-}$ est converti en H_2SO_4 et la surface des échantillons est majoritairement colonisée par *T. intermedius*, *S. novella*, *H. neapolitanus* à hauteur de 10^{+7} bactéries/cm². Une perte de masse de 1,8 % et une chute du pH de surface à 2,5 ont été observées. Le H_2S est converti en S^0 puis en H_2SO_4 et la surface des échantillons est majoritairement colonisée par *A. thiooxidans* à hauteur de 10^{+7} bactéries/cm². Une perte de masse de 3,3 % et une chute du pH de surface à 1,5 ont été observées. Des échantillons *in situ* (15,5°C, 90% d'humidité relative) ont montré des signes de biodétérioration après 6 ans. Ainsi, la chambre de simulation (essai de laboratoire) est 8 fois plus rapide que les essais *in situ*.



A : Chambre de simulation de Sand (1987) en Allemagne ; B : Chambre de simulation de Mori *et al.* (1992) au Japon ; C : Chambre de simulation de Hormann *et al.* (1997) en Suède ; D: Protocole expérimental de Rogers *et al.* (2003) au USA ; E : Dispositif expérimentale de Gutierrez-Padilla *et al.* (2009) aux USA ; F: Chambre de simulation de Herisson (2012) en France ; G: Dispositif expérimental de Hajj Chehade (2010) en France

Figure 12 : Dispositifs expérimentaux de différents essais de biodétérioration en laboratoire ou *in situ*.

5.1.2. Etude de Mori *et al.*, (1992) (Figure 12 B)

Le but de cette étude était de mettre en évidence l'effet des nutriments sur la biodétérioration du mortier.

5.1.2.1 Les conditions expérimentales de l'essai

Les échantillons biodétériorés étaient des mortiers OPC dont les dimensions étaient de 4 x 4 x 16 cm. Les microorganismes utilisés étaient des BSOA (*A. thiooxidans*). Le réacteur était une chambre de simulation où les conditions environnementales avaient été optimisées. Les échantillons ont été à moitié immergés dans trois solutions individuelles différentes : eau usée ; milieu de croissance spécifique de *A. thiooxidans* ; eau distillée. L'expérimentation a duré 6 mois et les 2 premiers mois, les échantillons ont été inoculés toutes les 2 semaines avec une culture mature de *A. thiooxidans*. Pendant toute la durée de l'expérience, du sulfure d'hydrogène à une concentration de 400 ppm a été constamment apporté dans la chambre de simulation.

5.1.2.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées

L'évolution de l'épaisseur dégradée des bétons, de la densité bactérienne à la surface des bétons a été évaluée par mesure directe et dénombrement sur boîte de Pétri. Les échantillons ont également été investigués par microscopie électronique à balayage.

5.1.2.3 Les résultats

La vitesse de détérioration de l'échantillon à moitié immergé dans l'eau usée était de 6,1 mm/an, donc supérieure à celle de l'échantillon à moitié immergé dans le milieu spécifique à la croissance de *A. thiooxidans* (3,8 mm/an). La zone la plus attaquée était située à 2 mm au-dessus du niveau d'eau (Figure 13). Aucun signe de biodétérioration n'a été détecté sur l'échantillon à moitié immergé dans l'eau distillée. Ainsi, la présence de nutriments est indispensable pour avoir une croissance bactérienne donc une mise en place de la biodétérioration.

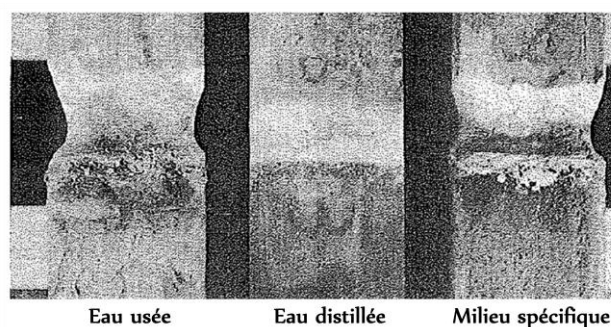


Figure 13 : Biodétérioration de mortiers OPC par *A. thiooxidans* [Mori *et al.*, 1992].

5.1.3. Etude de Hormann *et al.*, (1997) (Figure 12 C)

Le but de cette étude était d'évaluer la résistance de mortiers OPC et CAC à l'attaque par l'acide sulfurique produit par *A. thiooxidans*.

5.1.3.1 Les conditions expérimentales de l'essai

Les échantillons biodétériorés étaient des mortiers OPC et CAC contenant des agrégats siliceux, calcaires ou préparés à partir de clinker CAC dont les dimensions étaient de 6 x 1 x 1 cm. Les microorganismes utilisés étaient des BSOA (*A. thiooxidans*). Le réacteur était séparé en deux parties, un fermenteur où étaient cultivés les *A. thiooxidans* dans le S° en conditions optimales et un bioréacteur de verre renfermant un environnement chaud (28 – 30°C) et humide (assurée par la présence de la culture mature de *A. thiooxidans* dans le réacteur). Les échantillons étaient immergés 5 minutes toutes les heures dans la culture mature produite par le fermenteur pendant 5 mois.

5.1.3.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées

L'évolution de la masse des échantillons et de la densité bactérienne à la surface des mortiers a été évaluée par pesée et par dénombrement bactérien indirect en milieu liquide (nombre le plus probable ou NPP).

5.1.3.3 Les résultats

La perte de masse des bétons CAC était de 3 – 4 % ; donc inférieure à celle des bétons OPC (18 – 31 %) (Figure 14). La densité bactérienne à la surface des mortiers CAC et OPC était la même et égale à 10^{+8} bactéries/cm². Ainsi, la résistance des mortiers CAC était supérieure à celle des mortiers OPC.

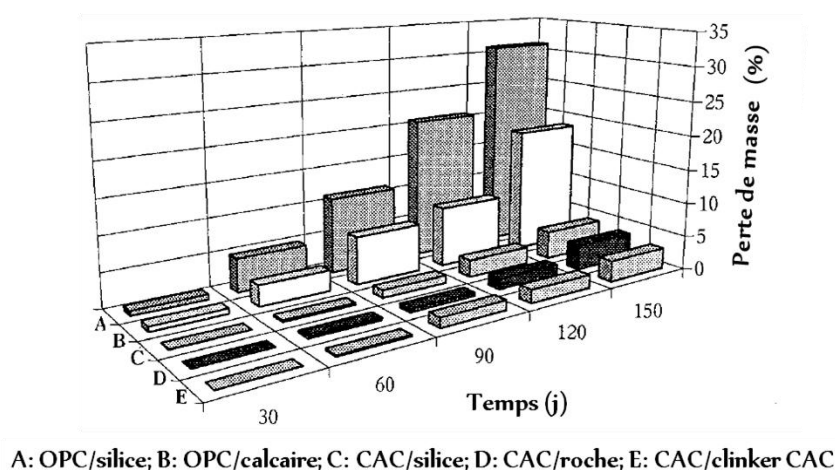


Figure 14 : Perte de la masse de différentes formulations de mortier au cours des essais de biodétérioration par *A. thiooxidans* [Hormann *et al.*, 1997].

5.1.4. Etude de Rogers *et al.*, (2003) (Figure 12 D)

Le but de cette étude était de développer un essai permettant d'évaluer l'impact des microorganismes sur la détérioration de pâtes de ciment formulées avec des déchets radioactifs et industriels.

5.1.4.1 Les conditions expérimentales de l'essai

Les échantillons biodétériorés étaient des pâtes de ciments OPC dont les dimensions étaient : 1,5 cm de diamètre et 2 cm d'hauteur. Les bactéries utilisées étaient des BSOA (*A. thiooxidans*). Le réacteur était séparé en deux parties, un fermenteur où étaient cultivés les *A. thiooxidans* dans un milieu de culture contenant du $S_4O_6^{2-}$ en conditions optimales et un extracteur de Soxhlet dans lequel était placé l'échantillon. Les échantillons étaient immergés une fois toutes les 7 heures pendant 1 mois et demi dans la culture mature à pH = 1,9 produite par le fermenteur avant que le milieu ne soit vidangé pour analyse.

5.1.4.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées

Différents paramètres ont été suivis : le pH des milieux a été mesuré par une électrode de pH, la concentration des sulfates par spectrophotométrie au baryum, la concentration du calcium par spectrométrie d'absorption atomique, l'épaisseur dégradée et la microstructure des échantillons par microscopie électronique à balayage couplée à des analyses EDS (MEB-EDS).

5.1.4.3 Les résultats

Après 40 jours, une section polie de pâte de ciment OPC montrait l'apparition d'une zone détériorée d'environ 1 mm à la surface. Cette zone était appauvrie en calcium et silicium. Ces éléments ont été partiellement lixiviés entraînant une modification de la microstructure de l'échantillon (Figure 15).

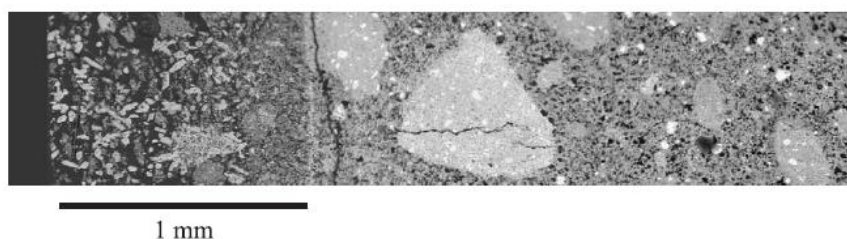


Figure 15 : Image MEB de la pâte de ciment OPC après un contact de 40 jours avec une culture de *A. thiooxidans*. Le bord exposé se situe à gauche [Rogers *et al.*, 2003].

La zone détériorée était par contre riche en soufre à cause de la formation de gypse liée à la réaction entre le sulfate produit par les bactéries et le calcium issu de la dissolution de la portlandite et de la décalcification des silicates de calcium hydratés. Un relargage plus important de calcium a été mesuré dans le milieu réactionnel stérile acide comparé au milieu contenant *A. thiooxidans* bien que les pH des deux milieux soient égaux (pH = 1,9) (Figure 16).

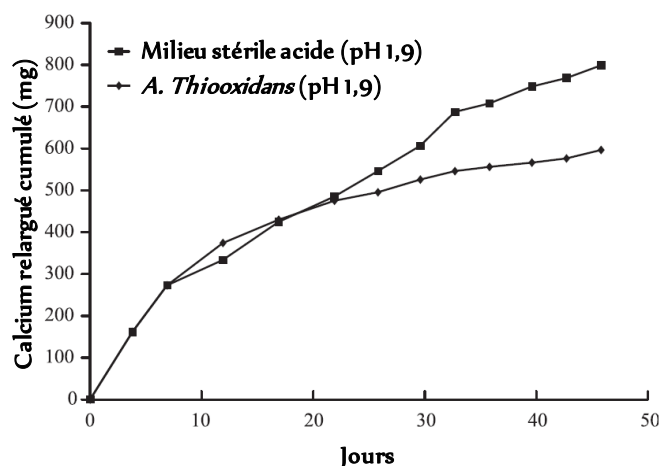


Figure 16 : Évolution comparative du relargage du calcium d'échantillons de pâte de ciment OPC/cobalt exposés à une culture mature de *A. thiooxidans* (pH = 1,9) ou à un milieu stérile d'acide sulfurique (pH = 1,9) [Rogers *et al.*, 2003].

L'attaque des échantillons par l'acide sulfurique chimique semble plus intense que celle réalisée par l'acide sulfurique biogénique. Cette différence peut avoir plusieurs explications : (i) la limitation en nutriments susceptible d'induire un ralentissement de la production d'acide sulfurique, (ii) le développement d'un biofilm de protection sur les échantillons pouvant conduire une limitation du relargage du calcium, (iii) la précipitation du calcium sous forme de gypse potentiellement responsable du moindre relargage du calcium bien que l'attaque soit plus intense. Ainsi, pour faire un bilan de matière après un essai de biodétérioration, il est plus judicieux de prendre en compte la quantité de constituants cimentaires relarguée en solution aussi bien que la quantité d'acide sulfurique produite par les BSO.

5.1.5. Etude De Belie *et al.* (2004)

Le but de cette étude était d'évaluer l'influence du type de ciment et de la nature des granulats sur la performance du béton au cours de l'attaque par l'acide sulfurique minéral et biogénique.

5.1.5.1 Les conditions expérimentales des essais

Les échantillons biodétériorés étaient des bétons OPC (CEM I ou CEM III) contenant des granulats siliceux ou calcaires. L'attaque à l'acide sulfurique a été réalisée en 10 cycles successifs sur des échantillons de bétons de 20 cm de diamètre et 8 cm de hauteur. A chaque cycle, les échantillons ont été immergés 5 jours dans une solution d'acide sulfurique à pH = 1, avant d'être séchés à l'air et brossés pour enlever les produits de l'attaque (Figure 17). L'attaque à l'acide sulfurique biogénique a été réalisée en 4 cycles successifs sur des échantillons de bétons de 8 cm de diamètre et 1,5 cm de hauteur. A chaque cycle, les échantillons ont été incubés 3 jours dans une chambre riche en H₂S avant d'être immergés 17 jours à 28° C dans un milieu enrichi en azote, en phosphate et en BSO. Les

échantillons ont ensuite été rincés 2 jours à l'eau, afin d'enlever les produits de la biodétérioration avant d'être séchés 2 jours à l'air.

5.1.5.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées

La perte d'épaisseur et la rugosité de surface ont été déterminées grâce à des senseurs laser. La perte de masse a été mesurée par pesée. Les surfaces des échantillons ont été analysées au MEB.

5.1.5.3 Les résultats

Ils ont montré que les tests biologiques étaient plus agressifs que les tests chimiques. Cette performance a uniquement été attribuée à la différence des procédures expérimentales et non à l'origine minérale ou biologique de l'acide. Pour les deux essais, chimique et biologique, la perte d'épaisseur (ou la diminution du rayon) des échantillons a été plus importante pour ceux contenant des agrégats siliceux comparés à ceux contenant des agrégats calcaires. En effet, les agrégats calcaires (contrairement aux agrégats siliceux inertes) réagissent avec l'acide sulfurique offrant une protection micro-environnementale à la pâte de ciment. L'analyse de la surface des échantillons semblait également indiquer une modification plus importante des échantillons contenant des agrégats siliceux, d'où leur plus grande rugosité de surface. Cette dernière explique la plus grande vitesse de dégradation observée pour les échantillons contenant des agrégats siliceux, car le relargage de ces derniers exposait la matrice cimentaire, la rendant plus accessible à l'acide (Figure 18).

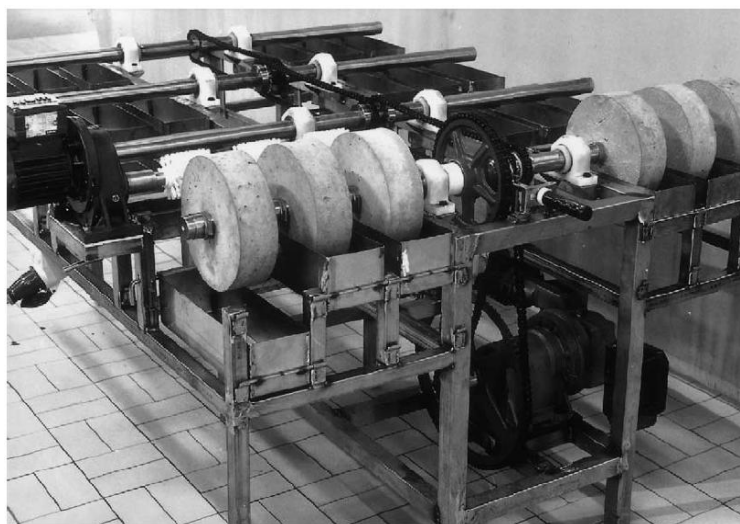


Figure 17 : Dispositif expérimental permettant d'accélérer la dégradation d'échantillons de béton [De Belie *et al.*, 2004].

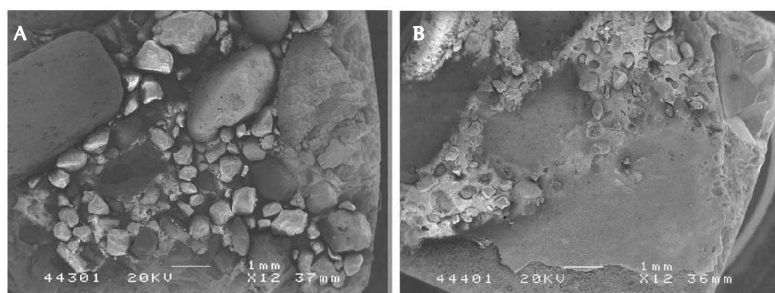


Figure 18 : A – Surface détériorée d'un échantillon de béton contenant des agrégats siliceux B- Surface détériorée d'un échantillon de béton contenant des agrégats calcaires. Les échantillons ont été soumis à un test biologique [De Belie *et al.*, 2004].

5.1.6. Etude de Okabe *et al.* (2007)

Le but de cette étude était d'acquérir une compréhension dynamique de la répartition dans le temps des populations bactériennes induisant la biodétérioration du béton en s'aidant de techniques moléculaires basées sur les gènes 16S rRNA.

5.1.6.1 Les conditions expérimentales des essais

Les échantillons biodétériorés étaient des bétons OPC contenant des granulats siliceux dont les dimensions étaient au final de : 4 cm x 1,8 cm x 0,8 cm. Les échantillons ont été placés en conditions *in situ* 30 centimètres au-dessus du niveau des eaux usées. Ces égouts renfermaient des conditions de biodétérioration sévères : concentration de sulfure d'hydrogène de 30 ± 20 ppm. Des prélèvements d'échantillons ont été réalisés périodiquement pour analyser d'une part la progression de la biodétérioration, et, d'autre part, la caractérisation des populations bactériennes à la surface.

5.1.5.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées

Différents paramètres ont été mesurés : la perte de masse par pesée ; le pH de surface par une électrode de surface ; l'identification des souches bactériennes par analyse du gène 16S rRNA et FISH ; le dénombrement bactérien par coloration au DAPI et hybridation cellulaire.

5.1.5.3 Les résultats

Au cours du temps, il a été observé des évolutions du pH de surface, de la perte de masse, des dimensions de l'échantillon, de la composition des échantillons et enfin de la nature des bactéries à la surface de l'échantillon. En effet, à 56 jours, le pH de surface a diminué de 12 à 8,2 et un grand nombre de bactéries hétérotrophes (halotolérantes et neutrophiles) ont été retrouvées à la surface des échantillons. A 102 jours, le pH de surface a diminué de 8,2 à 1,6. De plus, des bactéries hétérotrophes et surtout un grand nombre de BSON (dont *H. neapolitanus* et *T. intermedia*) ont été identifiées à la surface des échantillons. Ces échantillons étaient également recouverts de gypse (Figures 19 et 20).

Après 1 an, la seule BSO retrouvée à la surface des échantillons était *A. thiooxidans* (BSOA) accompagnée de différentes bactéries hétérotrophes pour la plupart acidophiles. Parallèlement, une couche de gypse de 1 cm était apparue dans l'échantillon. Par ailleurs, l'échantillon avait perdu 37% de sa masse (Figures 19 et 20).

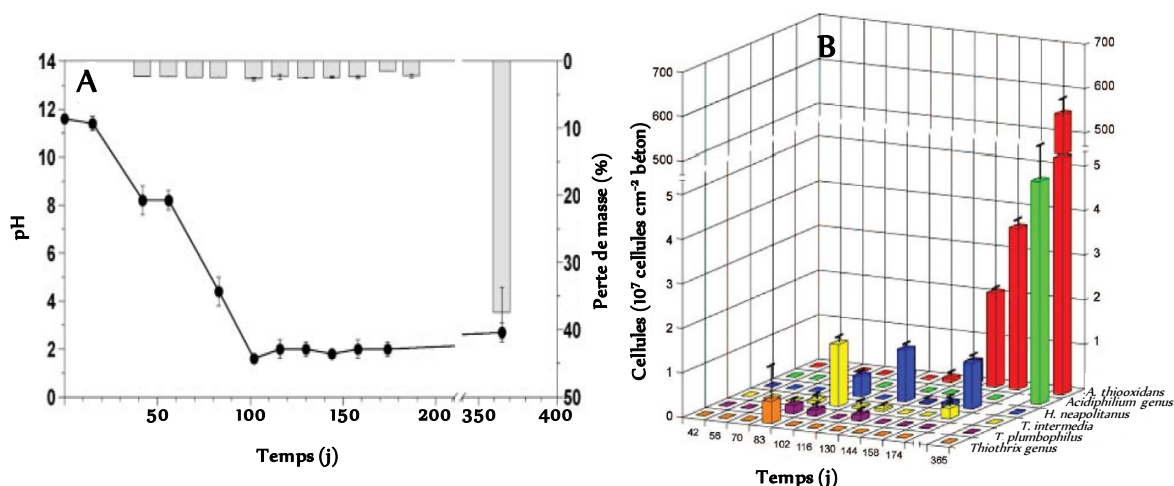


Figure 19 : Évolution dans le temps du pH de surface et de la masse des échantillons (A) ; des espèces bactériennes à la surface des échantillons (B) [Okabe *et al.*, 2007].

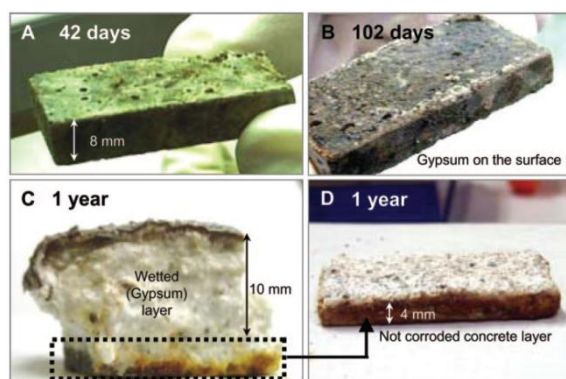


Figure 20 : Évolution dans le temps de l'aspect, des dimensions et de la structure des échantillons placés dans un tuyau d'égout [Okabe *et al.*, 2007].

5.1.7. Etude de Gutiérrez-Padilla *et al.* (2010) (Figure 12 E)

Le but de cette étude était de comparer les effets de la biodétérioration sur différents échantillons de béton dans des conditions expérimentales proches de celles retrouvées dans les systèmes d'égout.

5.1.7.1 Les conditions expérimentales de l'essai

Les échantillons biodétériorés étaient des bétons OPC à faible rapport E/C (0,33) et haut rapport E/C (0,42) dont les dimensions étaient de 5 x 2 x 2 cm. Les microorganismes utilisés étaient un mélange de bactéries hétérotrophes (BH) *Acidiphilium cryptum*, de BSO *H. neapolitanus* ainsi que *T.*

thioparus et de BSOA *A. thiooxidans*. Les réacteurs étaient des erlenmeyers en verre de 1000 mL contenant 600 mL d'eau usée artificielle dans lesquels étaient individuellement suspendus des échantillons de béton. La source de soufre est l' H_2S gazeux (entre 50 et 100 ppm) produit par titration d'une solution d'acide chlorhydrique par une solution de sulfure de sodium puis acheminée jusqu'aux erlenmeyers. Ces réacteurs ont été placés 8 mois dans une chambre à 25°C et ont subi 2 cycles de biodétérioration.

5.1.7.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées

Différents paramètres ont été mesurés : l'épaisseur dégradée après avoir scanner les échantillons de béton, la perte de masse par pesée, la densité bactérienne par le NPP, le pH du milieu réactionnel par une électrode de pH, la quantité de sulfates produite par chromatographie ionique, la quantité de calcium relarguée par l'échantillon de béton par spectrométrie d'émission atomique à source plasma (ICP-AES), la quantité de sulfure d'hydrogène consommée et enfin l'identification des phases présentes à la surface des échantillons de béton par diffraction des rayons X (DRX).

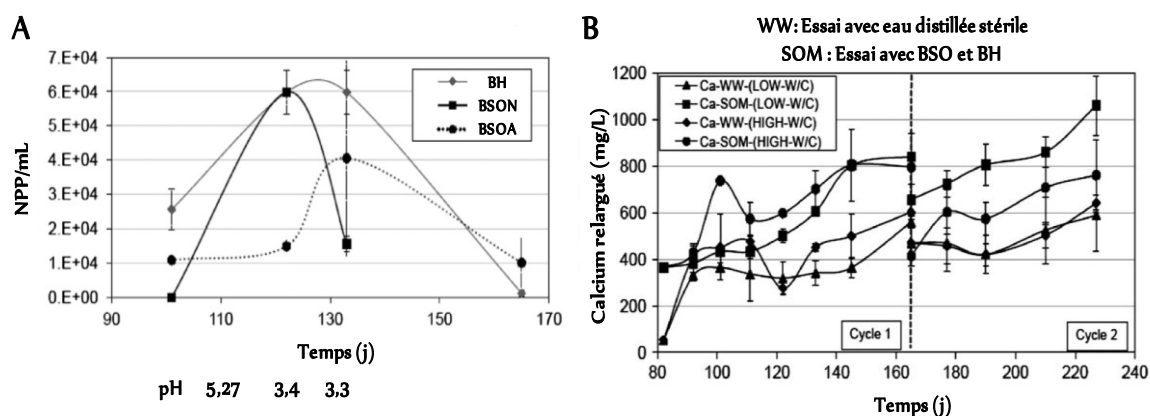


Figure 21 : A - Évolution des concentrations des BSON, des BSOA ainsi que des BH exprimées en NPP de bactéries/mL et du pH au cours du temps (Cycle 1). B - Évolution des concentrations d'ions calcium relargués dans le milieu au cours des deux cycles de biodétérioration d'échantillons de béton exposés aux BSO et BH (SOM) ou à l'eau distillée (WW) [Gutiérrez-Padilla *et al.*, 2010].

5.1.7.3 Les résultats

La vitesse de détérioration et la perte de masse des échantillons à haut rapport E/C sont supérieures à celles des échantillons à faible rapport E/C. Le pH du milieu a diminué de 6 à 4 à cause de la croissance des BSON et des BH, puis a diminué de 4 à 3,3 due à celle des BSOA. Ainsi au cours de l'expérimentation, il y a eu une succession bactérienne (Figure 21 A). La quantité d'ions sulfate a augmenté tandis que celle du sulfure d'hydrogène a diminué témoignant d'une activité bactérienne. La quantité de calcium dans le milieu a augmenté traduisant une dissolution des phases constituant la pâte de ciment (Figure 21 B). Du soufre et du gypse ont été retrouvés à la surface des échantillons.

5.1.8. Etude de Herisson (2012) (Figure 12 F)

Le but de cette étude était de mieux comprendre les mécanismes de biodétérioration des matériaux cimentaires dans les réseaux d'assainissement en s'intéressant plus particulièrement à la différence de comportement entre les ciments d'aluminat de calcium et les ciments Portland. Cette étude avait pour but ultime de mettre au point un essai accéléré normalisable en laboratoire qui recrée les conditions des réseaux d'assainissement pour pouvoir classer les matériaux selon leur durabilité.

5.1.8.1 Les conditions expérimentales de l'essai

Les échantillons biodétériorés étaient des mortiers de ciment CAC, OPC CEM I et CEM III contenant des granulats de sable normalisé AFNOR et des granulats de synthèse alumino-calciq (ALAG®). Les échantillons de bétons étaient des cubes de 2 cm de côté. Les rapports eau/ciment et ciment/sable utilisés étaient respectivement de 0,37 et 1,44. Les échantillons ont été placés dans une chambre d'essai (ASCOTT S1000XP) d'1 m³ équipée d'un système de contrôle de température (fixée à 30°C) et d'humidité relative (saturée à 100% grâce à un apport d'eau dans l'enceinte de la chambre) ainsi que d'un système de pulvérisation utilisé pour vaporiser la suspension bactérienne sur les échantillons (Figure 12 F). La suspension bactérienne est composée d'un mélange de *S. novella* (DSMZ 506), *T. intermedia* (DSMZ 18155), *H. neapolitanus* (DSMZ 15147) et *A. thiooxidans* (DSMZ 14887) cultivées dans des réacteurs de grand volume (7 L). La source de soufre est l'H₂S gazeux fourni par des bouteilles de gaz à hauteur de 5 ppm.

D'autre part, des échantillons cylindriques (de 6 cm de diamètre et de 14 cm de hauteur) ont été placés en conditions *in situ* dans un site d'épuration situé dans une zone industrielle en aval d'une station d'épuration. Ce site d'épuration fait transiter des eaux provenant d'une zone industrielle ainsi que des eaux d'origines domestiques. En effet, des conditions de biodétérioration y sont retrouvées : concentration de sulfure d'hydrogène moyenne de 96 ppm ; température moyenne de 20°C ; présence d'une forte dégradation au niveau des parois de béton.

5.1.8.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées

Différents paramètres ont été mesurés : la perte de masse par pesée ; le pH de surface par utilisation d'un papier pH, le dénombrement bactérien par microscopie à épifluorescence après marquage au DAPI, l'activité bactérienne par mesure d'ATP. Pour les essais *in situ*, les quantités d'Al relarguées par les mortiers ont également été mesurées par ICP-AES. Une analyse de la composition chimique de la surface des mortiers et du biofilm à la surface de ces derniers a également été réalisée par MEB.

5.1.8.3 Les résultats

Une augmentation de la masse des mortiers (d'environ 3 - 5%) due à la saturation en eau est observée. Après 1 an, bien que l'évolution des pH ait été différente, les pH de surface des différentes formulations de mortiers sont tout de même équivalents et de l'ordre de 6 - 7, correspondant à la

phase neutrophile du processus de biodétérioration. Les dénombrements bactériens indiquent que le nombre de microorganismes présents au cm^2 est similaire pour toutes les matrices cimentaires testées. Ainsi, la formulation des mortiers semble ne pas avoir d'effet sur l'intensité de la croissance bactérienne.

Par ailleurs, bien que les microorganismes soient présents en quantités importantes (10^{+6} - 10^{+8} bactéries/ cm^2) à la surface des mortiers, aucun signe probant de biodétérioration n'a pu être mis en évidence (Figure 22 A). Toutefois, le développement des microorganismes à la surface des mortiers est différent suivant la matrice cimentaire. Ils colonisent les mortiers de ciment CEM I sous forme d'un biofilm épais, les mortiers de ciment CEM III par un biofilm épars tandis que les mortiers de ciment d'aluminat de calcium de façon isolée (Figure 22 B). Ainsi, l'absence de signe de biodétérioration est à corrélérer avec le pH de surface ($6 < \text{pH} < 7$), donc l'action des BSO neutrophile (Figure 11), qui n'a pour rôle que de diminuer le pH de surface pour permettre la colonisation par la BSO acidophile.

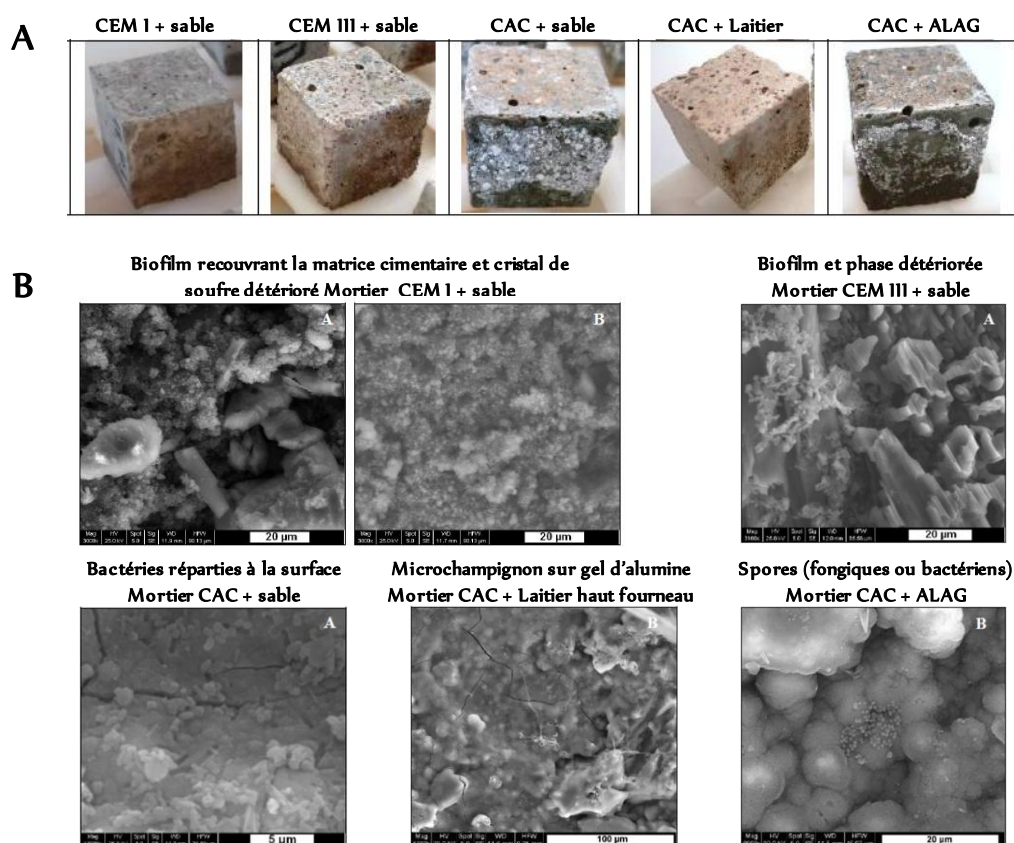


Figure 22 : A - Analyse visuelle des mortiers OPC CEM I + sable, OPC CEM III + sable, CAC + Sable, CAC + Laitier et CAC + Alag après 1 an d'expérimentation. B - Observation au MEB de la surface des mortiers exposés durant 281 j dans l'enceinte de biodétérioration [Herisson, 2012].

L'essai *in situ* a permis de distinguer l'influence de différents ciments et de différentes formulations sur la résistance des mortiers. En effet, il a été observé que les mortiers à base de ciment d'aluminate de calcium ont une meilleure tenue sur sites que ceux à base de ciment Portland (Figure 23 A).

En effet, ces mortiers ont été colonisés rapidement entraînant une chute progressive du pH à des valeurs ($2 < \text{pH} < 4$) correspondant au domaine de prédominance d'*A. thiooxidans* (0,5 à 4) d'où les pertes de masses importantes mesurées pour les mortiers OPC après un an d'exposition (Figure 11). L'analyse de l'activité bactérienne par mesure ATP révèle que seuls les mortiers OPC indiquent la présence de bactéries actives. Les échantillons à base de ciment CAC ont tous une quantité d'ATP nulle laissant penser que ce ciment inhibe la croissance microbienne. La comparaison entre la concentration en aluminium total dissous et le niveau d'ATP (Figure 23 B) semble montrer que cet élément a un rôle inhibiteur sur l'activité des microorganismes bactéries à partir d'environ 350 mg.L⁻¹ (350 ppm).

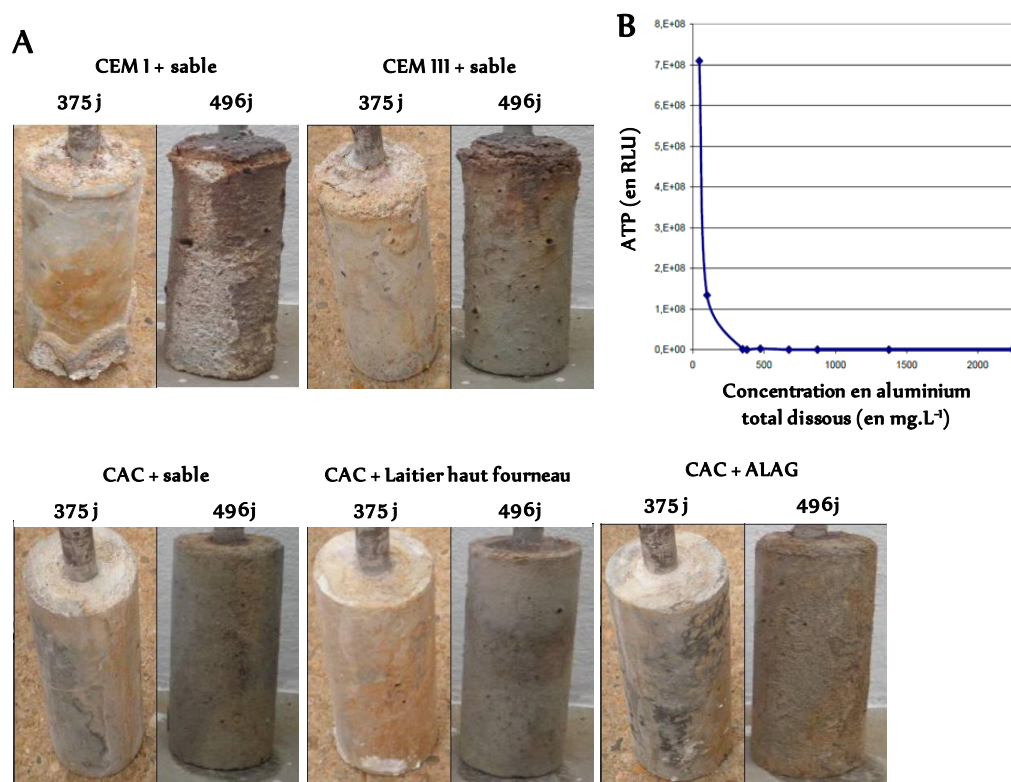


Figure 23 : A - Photographies de l'évolution des échantillons de mortier OPC et CAC sur le site d'exposition. B - Mesure d'ATP dans l'eau des manches des échantillons en fonction de la concentration en aluminium total [Herisson, 2012].

5.1.9. Etude de Hajj Chegade (2010) (Figure 12 G)

Le but de cette étude était d'évaluer la résistance de différents types de mortiers armés ou non à l'attaque par *A. thiooxidans*. Elle avait pour but de servir de base à l'élaboration d'un essai accéléré basé sur la biolixiviation permettant de discriminer différentes formulations de mortiers vis-à-vis de

leur résistance à l'attaque par l'acide sulfurique biogénique, notamment les formulations contenant du ciment CAC par rapport à celles contenant du ciment OPC.

5.1.9.1 Les conditions expérimentales de l'essai

Les échantillons biodétériorés étaient des mortiers OPC et CAC préalablement pré-lixiés dans des solutions d'acide chlorhydrique (pH=2) pour atteindre un pH de surface de l'ordre de 9. La dimension des échantillons était de 2,25 cm de diamètre et 7 cm de hauteur. Les micro-organismes utilisés étaient des BSOA *A. thiooxidans*. Les réacteurs étaient des fermenteurs en verre de 1000 mL contenant 600 mL d'une culture mature de *A. thiooxidans* à pH de 2 dans laquelle étaient individuellement immergés les mortiers. Ils ont été placés 5 mois à 30°C. Le milieu était renouvelé en fonction du pH de la suspension bactérienne et de la durée de chaque cycle.

5.1.9.2 Les paramètres mesurés et les techniques utilisées

Différents paramètres ont été mesurés : la densité bactérienne dans les milieux réactionnels par densité optique ; le pH du milieu réactionnel par une électrode de pH ; les quantités de calcium, de silicium et d'aluminium relarguées par les mortiers par ICP-AES, l'épaisseur dégradée et de la microstructure des mortiers par microscopie électronique à balayage (MEB). Le bilan de matière a été utilisé pour déterminer un indice d'attaque (*IA*) permettant de comparer la résistance des deux types de mortier. Cet indice représentait le total de tous les ratios entre la quantité cumulée de chaque élément (calcium, aluminium et silicium) relargué en solution par le mortier et la quantité totale d'acide sulfurique ajoutée et produite par les bactéries au contact du mortier. La quantité cumulée de chaque élément relargué dans le milieu réactionnel a été normalisée à sa valeur initiale dans le ciment correspondant et normalisée à 100 selon la formule :

$$IA = \sum_{(Ca + Al + Si)} \frac{\frac{\text{Elément relargué en solution}}{\text{Quantité initiale dans le mortier}} \times \frac{\text{Elément relargué en solution}}{\sum \text{Eléments relargués en solution}} \times 100}{\sum H^+ \text{ produit au contact du mortier}}$$

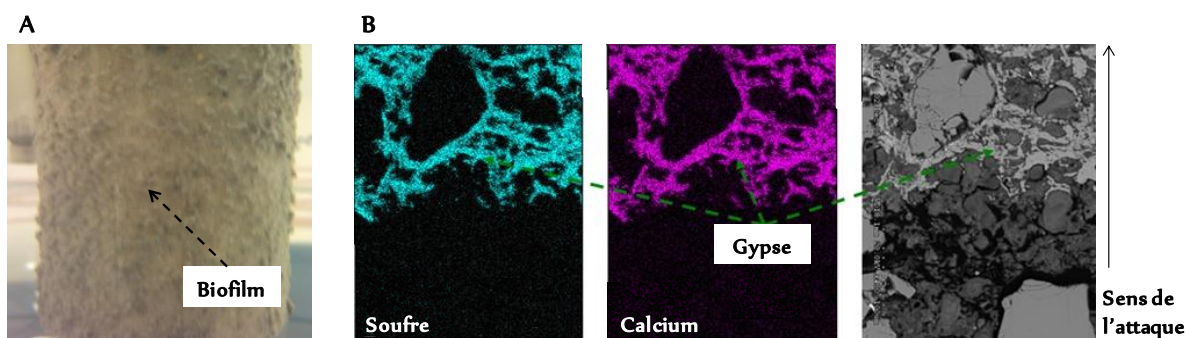


Figure 24 : A - Biofilm bactérien d'*A. thiooxidans* formé à la surface du mortier OPC. B - Cartographie d'une section polie de mortier OPC après 5 mois de biodétérioration par *A. thiooxidans* [Hajj Chehade, 2010].

5.1.9.3 Les résultats

Après quelques jours, les cellules de *A. thiooxidans* se sont accrochées aux mortiers et ont fabriqué un biofilm qui a recouvert la surface des bétons (Figure 24 A). La quantité cumulée de chaque élément (calcium, aluminium et silicium) relargué en solution par les mortiers semblait indiquer des mécanismes de relargage non Fickien pour certains d'entre eux. Ainsi, la diffusion semblait dans certains cas ne plus être le mécanisme de relargage limitant.

Pour palier à l'incertitude induite par le temps, du fait que le renouvellement des milieux réactionnels était variable, la quantité d'éléments relargués a été représentée en fonction de la quantité d'acide sulfurique ajouté ou produite par les bactéries au contact du mortier. Le calcul des indices d'attaque a révélé que le mortier CAC ($IA = 157$) était plus résistant que le mortier OPC ($IA = 218$). L'analyse des échantillons de mortiers au MEB/EDS révélait la présence de gypse dans la zone très dégradée située à la surface des échantillons (Figure 24 B).

5.2. Conclusions relatives aux différents essais

L'analyse des études de biodétérioration des matériaux cimentaires révèle que cette dernière doit prendre en compte l'évolution des bactéries impliquées dans le processus de biodétérioration, l'évolution chimique du milieu réactionnel dans lequel est réalisée la biodétérioration et enfin l'évolution macroscopique et microscopique des échantillons de béton. En effet, dans la nature, ces éléments sont indispensables à la mise en place du processus de biodétérioration. Ainsi, comprendre le processus de biodétérioration revient également à comprendre individuellement le comportement de chacun des acteurs impliqués.

Les dispositifs expérimentaux de Sand (1987), Hormann *et al.* (1997) et Herisson (2012) (Figure 12 A, C et F) ne permettent pas d'étudier la biodétérioration des échantillons individuellement. En effet, tous les échantillons sont attaqués dans un même réacteur excluant ainsi la possibilité de déterminer les concentrations d'éléments relargués par chacun des échantillons et l'activité des BSO au contact de ces derniers. Ces dispositifs ne permettent donc pas de réaliser à la fin de la biodétérioration un bilan de matière entre l'échantillon et les quantités d'éléments relargués dans le milieu réactionnel. Il en va de même pour les essais *in situ* de Okabe *et al.* (2007) et de Alexander et Fourie (2011).

L'étude de la biodétérioration en laboratoire nécessite également de travailler dans un environnement stérile pour éviter toutes contaminations par des microorganismes autres que les BSO. Par conséquent, les dispositifs de Herisson (2012), Hormann *et al.* (1997), Mori *et al.* (1992) et Sand (1987) (Figure 12 A, B, C et F) ne semblent pas remplir les conditions de stérilité requises, car tous les échantillons sont attaqués dans un même bioréacteur multipliant ainsi les risques de contamination et de propagation de cette dernière.

Les essais réalisés dans les dispositifs expérimentaux de Hormann *et al.* (1997), de Rogers *et al.* (2003) et de Hajj Chegade (2010) (Figure 12 C, D et G) ne permettent pas de mettre en évidence l'impact de la composition chimique des échantillons, via les éléments relargués, sur l'activité bactérienne étant donné que la croissance des BSO intervient principalement avant la mise en contact avec le matériau hors du réacteur. En effet, les bétons CAC sont connus pour inhiber la production d'acide sulfurique des BSO due au relargage d'ions Al^{3+} [Herisson, 2012 ; Ehrich *et al.*, 1999 ; Hormann *et al.*, 1997]. Ainsi, la réalisation de la croissance bactérienne hors du réacteur induit forcément un biais de mesure sur la quantité réelle d'acide sulfurique qui aurait pu être produite au contact des échantillons.

L'utilisation du sulfure d'hydrogène dans les essais de Herisson (2012), Gutiérrez-Padilla *et al.* (2010), De Belie *et al.* (2004), Mori *et al.* (1992) et Sand (1987) (Figure 12 A, B et E) conduit à des problèmes de sécurité, car ce dernier est un gaz toxique pour l'homme. De plus, il a été montré que dans les égouts ce dernier n'était certainement pas le substrat utilisé par les BSO du fait qu'il est chimiquement oxydé à la surface des tuyaux en S^0 , $S_2O_3^{2-}$ et $S_4O_6^{2-}$ [Nielsen *et al.*, 2008 ; Islander *et al.*, 1991 ; Chen et Morris, 1972 ; Parker, 1947].

Tous les essais de laboratoire à part ceux réalisés par Herisson (2012), Gutiérrez-Padilla *et al.* (2010), De Belie *et al.* (2004) et Sand (1987) utilisent *A. thiooxidans* comme BSO. Or, ce dernier n'est que le dernier chaînon de la biodétérioration [Okabe *et al.*, 2007 ; Roberts *et al.*, 2002 ; Davis *et al.*, 1998 ; Islander *et al.*, 1991 ; Midle *et al.*, 1983 ; Parker, 1945b]. Par ailleurs, les quelques essais développés en laboratoire utilisant un mélange de BSON et de BSOA sont très lents, certains allant jusqu'à 1 an d'expérimentation ou jusqu'à destruction complète de l'échantillon [Herisson, 2012 ; Gutiérrez-Padilla *et al.*, 2010 ; Satoh *et al.*, 2009 ; Ehrich *et al.*, 1999].

L'échantillon de matériau cimentaire devra être analysé à la fin de l'essai [Hajj Chegade, 2010 ; Rogers *et al.*, 2003], il est par conséquent nécessaire que l'échantillon ne soit pas complètement biodétérioré, afin d'étudier la zonation de la microstructure. Pour cela, l'essai de biodétérioration à mettre en place devra être court et impliquer un échantillon de taille moyenne. Ce dernier sera compris entre l'échantillon de Ehrich *et al.*, (1999) complètement détérioré, 2 x 2 x 2 cm et celui de Sand (1987) 60 x 11 x 7 cm à peine attaqué.

6. Conclusions de l'état de l'art sur la biodétérioration des tuyaux d'égout formulés avec des matériaux cimentaires

Cette étude bibliographique a révélé que le processus de biodétérioration du béton ou mortier dans les tuyaux d'égout est réalisé en deux phases séparées dans le temps et dans l'espace (Figure 11). La première phase, réalisée dans la partie immergée du tuyau d'égout (en anaérobiose), est marquée par

l'activité des BSR qui conduit à la production d'hydrogène sulfuré. La deuxième phase, réalisée dans la partie émergée du tuyau d'égout (en aérobiose), est marquée par l'activité des BSO qui conduit à la production d'acide sulfurique à la surface des matériaux cimentaires. Cette deuxième phase est réalisée en 3 étapes. La première étape est purement chimique et fait intervenir la lixiviation, la carbonatation et l'attaque par l'hydrogène sulfuré des surfaces émergées des tuyaux. Elle s'accompagne d'une légère diminution du pH de la surface du béton de 12 – 13 à 9. La deuxième étape est complètement biotique et est marquée par la colonisation et la succession des BSO neutrophiles (*T. thioparus*, *S. novella*, *T. intermedia* et *H. neapolitanus*) à la surface du béton. Elle conduit à une diminution plus prononcée du pH, de 9 à 4 – 5, sans toutefois affecter l'intégrité du matériau cimentaire. La troisième étape est marquée par la colonisation de la BSO acidophile (*A. thiooxidans*). En fonction des matériaux cimentaires utilisés, cette étape peut conduire une détérioration rapide et intense des propriétés mécaniques due à l'acidification plus ou moins importante de la surface du tuyau. En effet, les tuyaux conçus à base de ciment OPC peuvent voir leur pH de surface chuter à 1 tandis que ceux conçus à base de ciment CAC ont leur pH stabilisé autour de 3 – 4.

Ainsi, une étude complète du processus de biodétérioration par les BSO, de même que la mise en place d'un essai accéléré de biodétérioration en laboratoire, doit intégrer dans sa conception et sa réalisation ces trois étapes de succession bactérienne pour se rapprocher au plus près de ce qui se passe dans les conditions *in situ*, tout en restant en conditions contrôlées et maîtrisées.

Cependant, la grande majorité des essais de biodétérioration ne tient compte que de la troisième et dernière étape de la biodétérioration impliquant l'action de *A. thiooxidans* (Figure 11). Ces essais ne tiennent donc pas compte de la succession bactérienne impliquée *in situ* [Satoh *et al.*, 2009 ; Okabe *et al.*, 2007 ; Islander *et al.*, 1991 ; Milde *et al.*, 1983 ; Parker and Prisk, 1953 ; Parker, 1945] et excluent ainsi la diminution progressive du pH du béton se produisant en conditions *in situ*. Ainsi, les phases minérales qui auraient pu être formées dans les échantillons cimentaires au contact de BSO neutrophiles sont inexistantes à cause du caractère acidophile de *A. thiooxidans* qui se développe à des pH plus acides. De même, ces études n'ont pas permis de déterminer si l'impact exercé par les éléments relargués en solution, tels que les ions Al^{3+} , sur les BSOA était identique à celui exercé sur les BSON. Par conséquent, des questionnements subsistent quant à la représentativité de ces essais de biodétérioration et de l'extrapolation des résultats obtenus pour définir une durée de vie de ces matériaux en conditions *in situ*. Par ailleurs, les quelques essais développés en laboratoire utilisant un mélange de BSON et de BSOA ne sont pas allés assez loin dans l'analyse des résultats de cette attaque par la succession bactérienne. En effet, les évolutions du matériau cimentaire, du milieu réactionnel et de l'activité bactérienne n'ont pas été suffisamment évaluées [Herisson, 2012 ; Gutiérrez-Padilla *et al.*, 2010 ; Ehrich *et al.*, 1999 ; Sand, 1987]. Ainsi, les mécanismes mis en place

tant au niveau de la dissolution des phases que de la résistance des matériaux cimentaires sont-ils les mêmes que lors de la biodétérioration par *A. thiooxidans* ?

La présente étude vise à apporter une contribution à l'étude des matériaux cimentaires lors de la biodétérioration par les BSO notamment en améliorant l'essai développé par Hajj Chehade (2010) dont les limites ont été énoncées précédemment (paragraphe 5.2). Pour cela, l'accent a été mis sur quatre principaux objectifs scientifiques. Le premier est d'augmenter la complexité de l'essai en réalisant la biodétérioration avec la succession des deux types de BSO, la BSON puis la BSOA, dans le but de se rapprocher au mieux du processus de biodétérioration intervenant dans les tuyaux d'égout en conditions *in situ*. Le deuxième est de réaliser la biodétérioration avec de l'acide sulfurique biogénéré en présence de l'échantillon, afin d'intégrer et de mettre en lumière les interactions qu'il pourrait y avoir entre les matériaux cimentaires et les BSO. La troisième est d'améliorer la mesure de l'activité bactérienne, c'est-à-dire de déterminer encore plus précisément la quantité réelle d'acide sulfurique produite par les BSO au cours de l'essai de biodétérioration pour avoir une évaluation quantitative de la résistance des matériaux en utilisant l'indice d'attaque. Le quatrième est d'intégrer la cinétique de l'évolution des échantillons, notamment d'un point de vue de la microstructure et donc de sa zonation. La démarche expérimentale développée pour atteindre ces objectifs est exposée dans le chapitre suivant.

CHAPITRE 2 : LA DEMARCHE EXPERIMENTALE

La résistance des matériaux cimentaires face à l'agressivité de l'acide biogénique est sous l'influence de différents facteurs : la nature du matériau attaqué, les conditions physico-chimiques du milieu où se déroule l'attaque et les espèces microbiennes présentes. La biodétérioration est le résultat d'interactions complexes entre le matériau, le milieu et les microorganismes, qui doivent être prises en compte dans la mise en place d'un essai de biodétérioration (Figure 25).

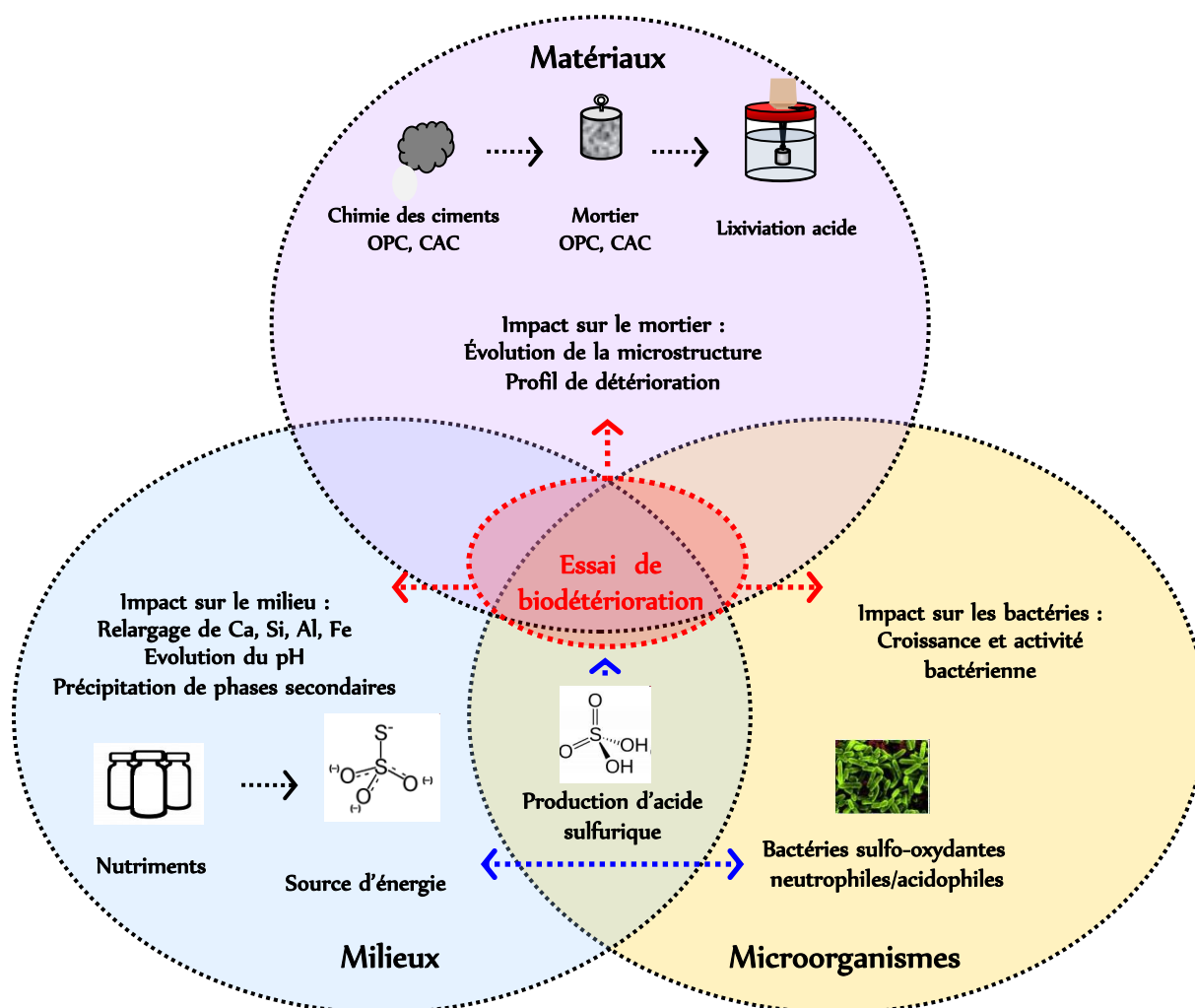


Figure 25 : Représentation schématique des interactions lors de l'essai de biodétérioration.

Le dispositif expérimental adapté à l'essai qui a été développé dans ce travail est basé sur l'essai de biolixiviation développé par Hajj Chehade (2010), car il permet notamment de réaliser un bilan de matière à la fin de l'essai, de travailler en conditions stériles et enfin d'utiliser une source de soufre non toxique. Cependant, contrairement à l'essai de Hajj Chehade (2010) où le milieu réactionnel était une culture mature de *A. thiooxidans*, l'objectif principal est de produire tout l'acide sulfurique dans le réacteur par une succession de BSON puis de BSOA en présence de l'échantillon ; le but étant de

se rapprocher des conditions *in situ* et d'accentuer l'impact potentiel de la composition chimique de l'échantillon sur l'activité des BSO.

De façon additionnelle aux aspects techniques spécifiques à l'essai de biodétérioration, sa mise en place doit être basée sur une approche pluridisciplinaire comprenant des analyses physiques, chimiques et microbiologiques sur les 3 M du système "Matériau – Micro-organismes – Milieu" tel que décrit par différentes études de biodétérioration dans la littérature scientifique [Leemann *et al.*, 2010 ; Vollertsen *et al.*, 2008 ; Monteny *et al.*, 2000 ; Vincke *et al.*, 2002 ; Rogers *et al.*, 2003 ; Davis *et al.*, 1998 ; Mori *et al.*, 1992].

Les différentes composantes du système ont d'abord été sélectionnées et étudiées séparément avant de les faire interagir pour induire la biodétérioration (Figure 26).

Ainsi, la réalisation de l'étude s'est faite en différentes phases allant du choix des 3 M "Matériaux – Microorganismes – Milieux" en début d'essai à l'analyse des matériaux et des milieux réactionnels à la fin de l'essai en passant par la mise au point de l'essai de biodétérioration.

Le choix des 3 M "Matériaux – Microorganismes – Milieux", des méthodes d'évaluation et la mise au point de l'essai de biodétérioration sont présentés dans le chapitre 3.

Le mortier a été sélectionné comme matériau cimentaire pour la réalisation de l'essai de biodétérioration. En effet, bien que l'étude de pâte de ciment soit plus facile à interpréter que celle du mortier, le mortier est plus proche de la réalité. Ce dernier est le matériau cimentaire qui protège les tuyaux en fonte dans les réseaux d'égout et il s'apparente au béton. Par ailleurs, la préférence du mortier au béton permettait de fabriquer des échantillons plus petits, favorisant la mise en place d'un essai moins long et d'un dispositif expérimental moins important. A la lumière de la littérature scientifique, deux ciments ont été sélectionnés, un ciment Portland ordinaire (OPC) et un ciment d'aluminate de calcium (CAC). Les échantillons ont été préalablement pré-lixiviés dans le but de diminuer leur pH de surface, initialement aux environs de 11 - 13, à des valeurs permettant la croissance des souches bactériennes sélectionnées pour l'étude. Cette pré-lixiviation simule de façon accélérée et contrôlée l'étape abiotique (étape 1) du processus de biodétérioration (voir chapitre 1, figure 11). Les échantillons de mortier ont par la suite été analysés, afin de connaître leurs compositions chimiques et leurs paramètres physiques avant l'essai de pré-lixiviation.

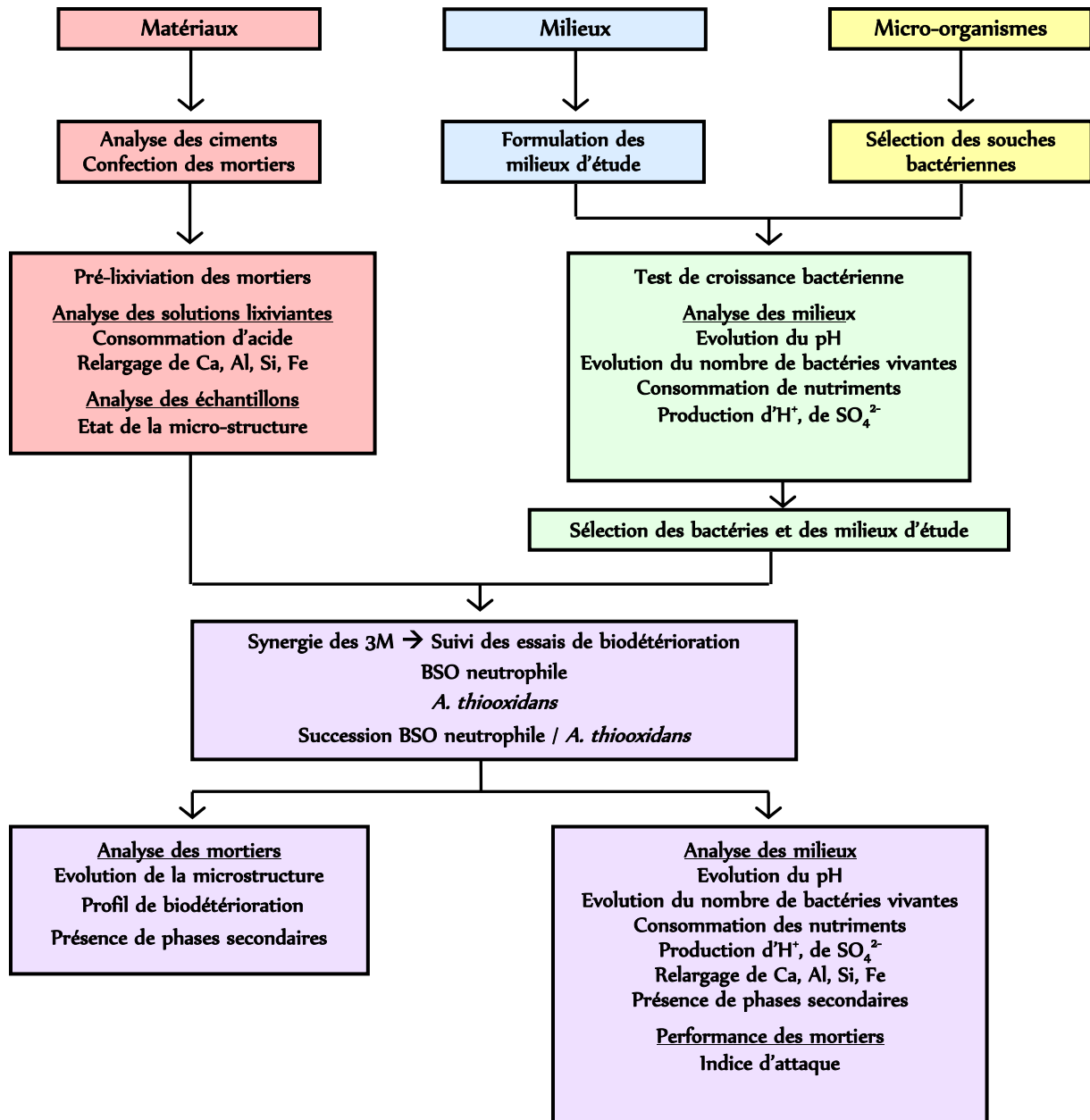


Figure 26 : Logigramme de la démarche expérimentale utilisée pour l'essai de biodétérioration.

Comme cette étude est axée sur la biodétérioration intervenant dans les réseaux d'égout par l'action de l'acide sulfurique biogénique, le choix des microorganismes de l'étude s'est porté sur les bactéries sulfo-oxydantes mise en évidence dans les différentes études de biodétérioration rapportées par la littérature scientifique : *H. neapolitanus* ; *T. thioparus* ; *S. novella* ; *T. intermedia*, comme souches neutrophiles et *A. thiooxidans*, comme souche acidophile. La croissance bactérienne a été évaluée par le biais du dénombrement bactérien et par le suivi de la quantité d'ions sulfate générés par les bactéries. Une approche qualitative de la croissance a pu être réalisée à travers le suivi de la diminution du pH induite par la production d'acide sulfurique par les bactéries.

La mise au point de l'essai de biodétérioration a commencé par le choix de la (des) bactérie (s) neutrophile (s). En effet, la (les) bactérie (s) neutrophile (s) à sélectionner devait (aient) être en mesure de suffisamment diminuer le pH de surface des mortiers. Cette diminution était primordiale afin de permettre la croissance de *A. thiooxidans*, en vue de réaliser la succession bactérienne intervenant naturellement dans les égouts. Ensuite, un milieu de culture optimal commun aux bactéries neutrophiles et acidophiles a été formulé en se basant sur la littérature et les milieux préconisés pour les croissances des bactéries sulfo-oxydantes tout en l'adaptant afin de minimiser son impact sur le mortier. Ce milieu devait permettre de maintenir les bactéries en conditions optimales de croissance pendant plusieurs jours au cours de l'essai de biodétérioration. Par ailleurs, une étude a été entreprise pour évaluer l'impact de la concentration et du pH initial du milieu sur les croissances et les activités bactériennes des BSO. Pour finir, le dispositif expérimental et la stratégie de mise en œuvre de l'essai ont été définis et validés.

La réalisation et les résultats de l'essai de biodétérioration sont exposés dans les chapitres 4, 5 et 6.

Dans le but de mieux comprendre la biodétérioration des échantillons de mortier par une succession de bactéries neutrophiles/acidophiles, l'essai de biodétérioration a été réalisé en trois volets : l'attaque par la bactérie acidophile (Chapitre 4), largement répandue dans la littérature scientifique ; l'attaque par la (les) bactérie (s) neutrophile (s) (Chapitre 5), jamais réalisée auparavant et enfin l'attaque par la succession de bactérie (s) neutrophile (s)/acidophile (Chapitre 6) très peu étudiée. Le but étant de mieux comprendre l'étape neutrophile et de voir si les essais de biodétérioration réalisés uniquement avec les bactéries acidophiles étaient vraiment représentatifs du processus de biodétérioration tel qu'il se produit dans les égouts où une succession bactérienne intervient.

Les analyses des échantillons de mortier et de la composition du milieu réactionnel avant et après l'essai de biodétérioration ont permis de déterminer l'effet de l'activité bactérienne sur la résistance des échantillons de mortier à travers l'observation des microstructures et de sa zonation. Le suivi de l'activité bactérienne et de la composition chimique du milieu réactionnel au cours de l'essai ont permis d'une part de mettre en évidence l'influence du type de ciment, donc du relargage des éléments (Ca, Al, Si, Fe), sur l'activité bactérienne. D'autre part, ils ont donné le moyen de déterminer l'indice d'attaque permettant de comparer la résistance des différents mortiers étudiés. Comparativement à travaux initiaux de Hajj Chehade [Hajj Chehade, 2010], le fer a été rajouté au niveau du suivi des éléments relargués tel que :

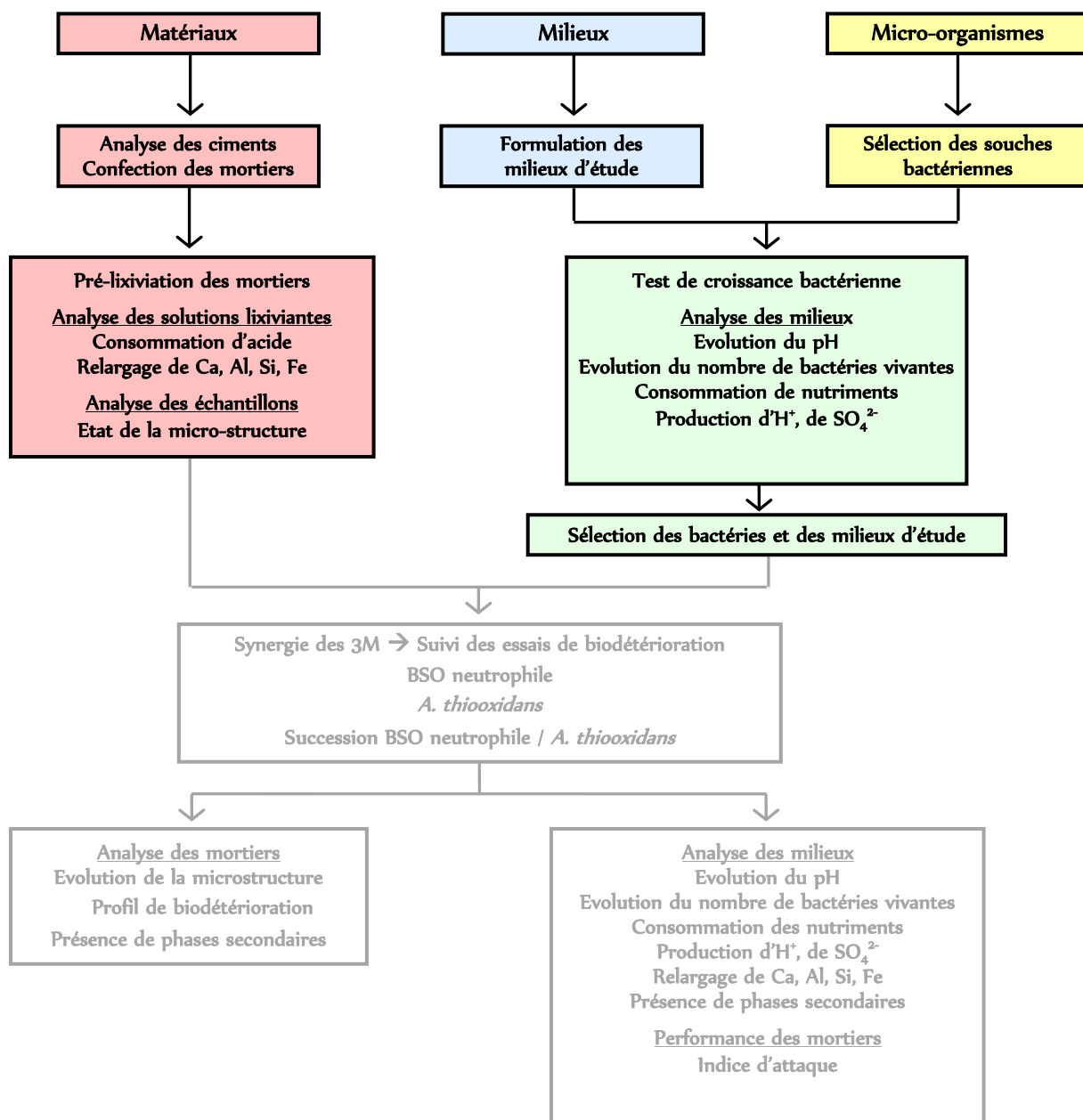
$$IA = \sum_{(Ca + Al + Si + Fe)} \frac{\frac{\text{Elément relargué en solution}}{\text{Quantité initiale dans le mortier}} \times \frac{\text{Elément relargué en solution}}{\sum \text{Eléments relargués en solution}} \times 100}{\sum H^+ \text{ produit au contact du mortier}}$$

Nous distinguerons un indice d'attaque global pour l'essai qui tient compte de toutes les étapes dont la pré-lixiviation et indice d'attaque pour chacune des étapes qui permet de mettre en évidence de possibles modifications de l'intensité de l'attaque au cours de l'essai. D'autre part, pour pouvoir comparer des expériences menées dans d'autres conditions que les nôtres, ou pour pouvoir comparer l'intensité de biodétérioration d'échantillons de taille et de composition différentes, nous avons défini un autre indice d'attaque, IA rapporté au ratio du volume attaqué sur le volume initial de l'échantillon :

$$IA_v = IA * (\text{volume attaqué} / \text{volume initial de l'échantillon})$$

Toutefois, la comparaison des intensités de biodétérioration à travers l' IA_v n'est possible que pour les échantillons ayant la même morphologie, par exemple deux échantillons cylindriques.

CHAPITRE 3 : MATERIAUX ET METHODES



1. Choix, fabrication, pré-lixiviation et analyse microscopique des mortiers

1.1. Choix et formulation des mortiers

La fabrication des mortiers a été réalisée selon la norme NF EN 196-1 (2006) conduisant à un rapport Eau/Ciment (E/C) de 0,5. Les ciments qui ont été utilisés sont : un ciment Portland ordinaire (OPC) de type CEM 1 52,5 produit par la société Holcim et un ciment d'aluminat de calcium (CAC) produit par la société Kerneos. Le granulats qui a été utilisé est le sable de nature siliceuse préconisé dans la norme, car il est stable vis-à-vis de la détérioration acide contrairement à des sables calcaires.

La minéralogie, donc la composition chimique de la pâte de ciment influe fortement sur sa résistance à la biodétérioration [Alexander and Fourie, 2011 ; Hormann *et al.*, 1997]. Il est donc important de quantifier les teneurs initiales des éléments chimiques contenus dans la pâte de ciment avant l'essai de biodétérioration. De plus, la connaissance de ces teneurs permet d'évaluer quantitativement l'importance de la biodétérioration (mais aussi de la pré-lixiviation) du mortier. Pour cela, un bilan de matière est réalisé entre la composition chimique initiale de la pâte de ciment et les concentrations des éléments relargués en solution par le mortier au cours de l'essai de biolixiviation. Ce bilan de matière permet de déterminer à la fin de l'essai l'indice d'attaque qui donne une estimation quantitative de la résistance propre de chaque type de ciment (OPC, CAC) vis-à-vis de chaque type d'attaque biologique (BSON, BSOA, BSON/BSOA). En outre, la connaissance préalable de la nature cristallographique des différents composants de la pâte de ciment des mortiers permet de comprendre le comportement de ces derniers au cours de l'essai de biodétérioration.

Les teneurs en éléments chimiques du ciment sont couramment mesurées par Fluorescence X (Annexe 1). Cependant, cette technique ne permet pas de déterminer la teneur en carbone. Ainsi, une analyse préalable de thermogravimétrie (ATG) a été réalisée, afin de déterminer la quantité de carbonate de calcium, généralement sous forme de calcite, contenue dans les ciments (Annexe 1). L'ATG consiste à suivre la perte en masse d'un composé en fonction de la température de chauffe. Les courbes obtenues mettent en évidence les pertes d'eau, les recristallisations, les recombinaisons et les phénomènes d'oxydation de la matière. Ainsi, au cours de l'analyse ATG, la calcite est décarbonatée entre 500 et 900° C et il en résulte une perte de masse permettant de déterminer indirectement la teneur en carbone du ciment selon la relation :

$$\text{Teneur en carbone} = \frac{M_{\text{Carbone}}}{M_{\text{Dioxyde de carbone}}} \times (\% \text{ Perte de masse entre 500 et 900}^{\circ}\text{C})$$

Avec : M_{carbone} = masse molaire moléculaire du carbone

$M_{\text{dioxyde de carbone}}$ = masse molaire moléculaire du dioxyde de carbone

1.1.1. La composition chimique et la minéralogie du ciment OPC

Les analyses thermogravimétriques ont été réalisées avec un analyseur thermique NETZSCH STA 409 C. Les analyses du ciment OPC ont révélé une perte de masse de 0,47 % entre 500 et 900° C correspondant à une teneur en carbone de 0,13 % (Figure 27).

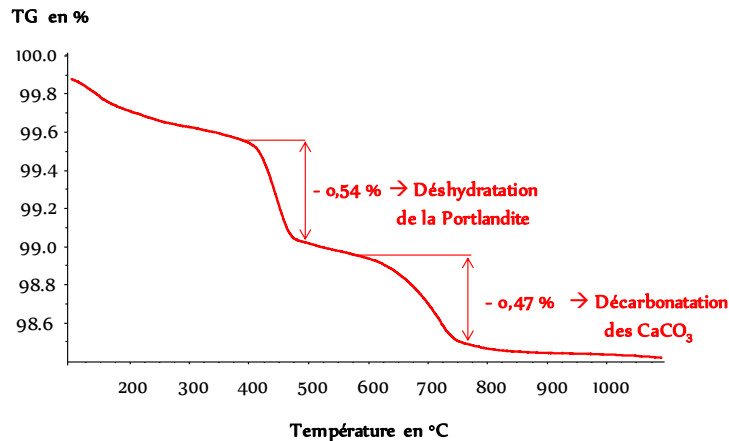


Figure 27 : Courbes thermogravimétriques du ciment OPC.

L'analyse chimique élémentaire du ciment Portland a été réalisée par fluorescence X (FRX). La FRX consiste à soumettre un échantillon à un rayonnement X. De ce fait, chaque élément chimique présent dans l'échantillon émet un rayonnement électromagnétique secondaire de longueur d'onde spécifique qui est détecté par un détecteur de rayon X. Les analyses ont été effectuées par un appareil de type BRUKER S4 PIONNER.

L'analyse de FRX du ciment OPC a permis de déterminer sa teneur en éléments chimiques (Tableau 3). A partir des teneurs massiques, les proportions molaires des éléments dans l'échantillon de mortier ont été déterminées selon la relation :

$$n_{\text{élément}} = \frac{\% \text{ élément} \times m_{\text{échantillon}} \times \frac{(m_{\text{ciment}})}{(m_{\text{ciment}} + m_{\text{eau}} + m_{\text{sable}})}}{M_{\text{élément}}}$$

Avec :

$n_{\text{élément}}$ = nombre de moles de l'élément chimique dans l'échantillon de mortier

$\% \text{ élément}$ = % massique de l'élément chimique déterminé par fluorescence X

$m_{\text{échantillon}}$ = masse de l'échantillon de mortier

$M_{\text{élément}}$ = masse molaire moléculaire de l'élément chimique

Les proportions molaires moyennes des éléments chimiques ont été déterminées pour 3 échantillons de mortier de différentes masses (93,1 g, 94,8 g et 95,9 g) (Tableau 4). Elles indiquent que le ciment Portland est majoritairement composé de calcium et de silicium dont le rapport molaire est de 3,92.

Éléments	Teneur massique %
O	41,1
Ca	41,9
Si	7,5
Fe	2,9
Al	2,6
S	1,8
K	0,6
Na	0,4
Mg	0,4
P	0,2
Ti	0,2
C	0,13
Sr	0,1

Tableau 3 : Composition en éléments chimiques du ciment OPC.

Éléments	Proportion molaire (mole)	Rapport Ca/Si
Ca	2,20E-01 ± 3,28E-03	3,92
Si	5,61E-02 ± 8,37E-04	
Al	2,03E-02 ± 3,02E-04	
Fe	1,09E-02 ± 1,63E-04	

Tableau 4 : Composition molaire moyenne des principaux éléments chimiques de la pâte de ciment contenue dans le mortier OPC. Écart-types calculés sur trois échantillons de mortiers de différentes masses.

L'analyse par Diffraction des rayons X (DRX) du ciment OPC a permis de déterminer les phases solides cristallisées. En effet, la DRX est une technique qui permet d'identifier, par comparaison avec des spectres de références, les phases cristallines d'une poudre ou d'un solide. Elle est effectuée dans cette étude à l'aide d'un diffractomètre Siemens de type BRUKER D8 muni d'une source au cobalt ($K_{\alpha} = 1,78\text{\AA}$) et d'un détecteur Lynxeye Super Speed. Une quantification des phases majoritaires peut être réalisée grâce à la méthode RIETVELD. L'intensité de travail de l'appareil est de 40 mA et la tension égale à 35 kV (Annexe 1).

Le ciment OPC est majoritairement constitué de silicates de calcium ($3\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$ ou C_3S et $2\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$ ou C_2S) et d'aluminoferrite tétracalcique ($4\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$ ou C_4AF). L'aluminate tricalcique ($3\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3$ ou C_3A) et l'anhydrite ($\text{CaO}\cdot\text{SO}_2$ ou $\text{C}\$$) sont les phases secondaires (Figure 28). Les résultats de la DRX du ciment OPC sont semblables aux analyses réalisées par Scrivener (2003) et Neville (2000) sur la même nature de ciment (Paragraphe 3.1.1.1).

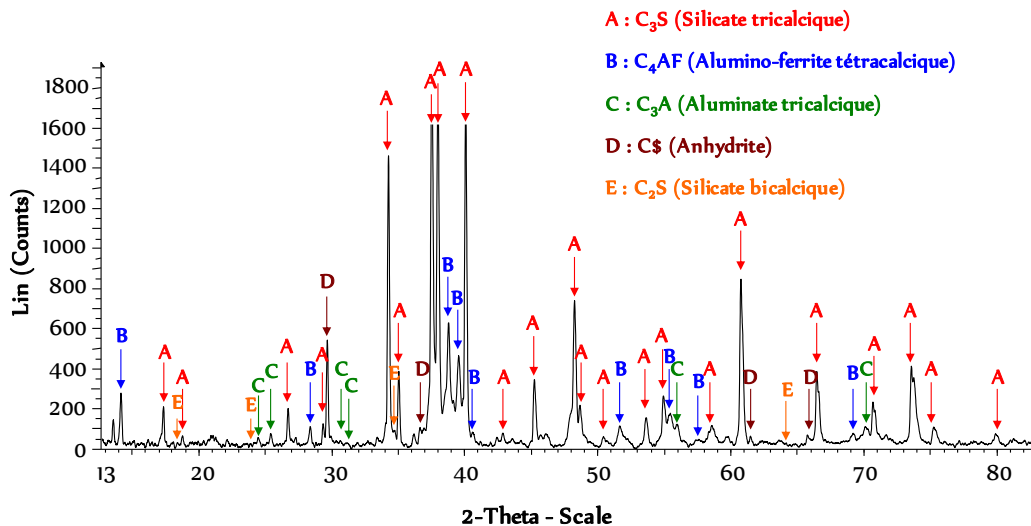


Figure 28 : Analyse DRX du ciment OPC et détermination des phases majeures présentes.

1.1.2. La composition chimique et minéralogie du ciment CAC

L'analyse ATG du ciment CAC a révélé une très faible perte de masse entre 500 et 900 °C signifiant que ce ciment ne contenait quasiment pas de carbonate de calcium (Figure 29).

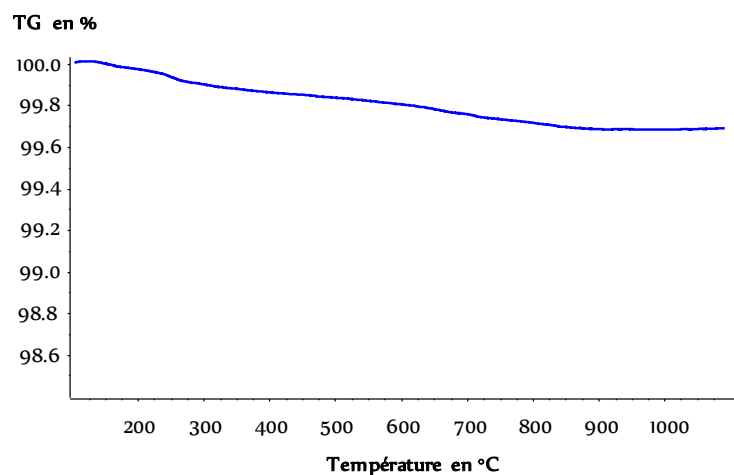


Figure 29 : Courbes thermogravimétriques du ciment CAC.

L'analyse chimique du ciment CAC par FRX a permis de déterminer les teneurs en éléments chimiques (Tableau 5). Les proportions molaires moyennes des éléments chimiques ont été déterminées pour trois échantillons de mortier de différentes masses (97,4 g, 98,8 g et 99,5 g) (Tableau 6). Le ciment CAC est majoritairement composé d'aluminium et de calcium dont le rapport molaire Ca/Al est de 0,68.

Éléments	Teneur massique %
O	42,7
Ca	26
Al	25,9
Si	2,1
Fe	1,2
Ti	1,1
K	0,3
Mg	0,3

Tableau 5 : Composition en éléments chimiques du ciment CAC.

Éléments	Proportion molaire (mole)	Rapport Ca/Al
Ca	1,42E-01 ± 1,54E-03	0,68
Si	1,64E-02 ± 1,78E-04	
Al	2,10E-01 ± 2,28E-03	
Fe	4,71E-03 ± 5,11E-05	

Tableau 6 : Composition molaire moyenne des principaux éléments chimiques de la pâte de ciment contenue dans le mortier CAC. Écart-types calculés sur trois échantillons de mortiers de différentes masses.

La DRX (Siemens, BRUKER D8) du ciment CAC a permis de constater qu'il est majoritairement constitué d'aluminat monocalcique ($\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$ ou CA) et de gehlénite ($\text{Ca}_2\text{Al}(\text{AlSi})\text{O}_7$ ou C_2AS). Le titanate monocalcique ($\text{CaO} \cdot \text{TiO}_2$ ou CT) et la mayenite ($12\text{CaO} \cdot 7\text{Al}_2\text{O}_3$ ou C_{12}A_7) sont les phases secondaires (Figure 30). Les résultats de la DRX du ciment CAC sont en partie en accord avec les analyses réalisées par Scrivener (2003) et Scrivener *et al.* (1999) sur la même nature de ciment (Paragraphe 3.1.1.2). Toutefois, la bélite (C_2S), l'alumino-ferrite tétracalcique (C_4AF) et la merwinite ($\text{Ca}_3\text{Mg}[\text{SiO}_4]_2$) n'ont pas été identifiés dans le ciment CAC certainement dû à leur faible proportion dans le ciment CAC. En effet, la DRX ne fournit qu'une vue globale et moyenne de la structure de l'échantillon analysé. Elle ne permet d'identifier que les minéraux cristallisés et les phases majoritaires. La limite de détection massique d'une phase cristallisée est d'environ 1 – 5 %.

Le ciment OPC contient une quantité importante de calcium et de silicium tandis que le ciment CAC est très riche en aluminium et en calcium. Ainsi, les compositions en éléments chimiques et en phases solides cristallisées des deux ciments sont différentes laissant présager une différence dans la formation des phases minéralogiques après l'hydratation des ciments. De plus, ces différences de composition vont certainement conduire à une minéralogie différente des pâtes de ciment induisant des mécanismes de relargage différents au cours de l'attaque à l'acide sulfurique produit par les bactéries pendant l'essai de biodétérioration.

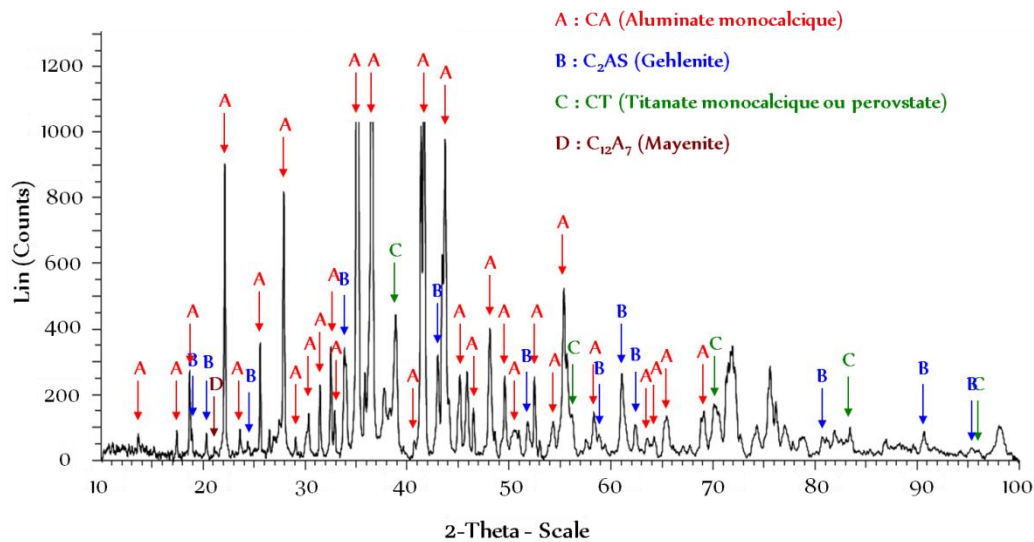


Figure 30 : Analyse DRX du ciment CAC et détermination des phases majeures présentes.

1.2. Fabrication et analyse minéralogiques des mortiers

1.2.1. La confection des mortiers

Les proportions (en poids) des différents composants du mortier sont les suivantes :

$$\text{Eau : Ciment : Sable} = 1 : 2 : 6$$

Les mortiers ont été confectionnés selon la norme NF EN 196-1 (2006) dans des moules cylindriques en PVC de 2,9 cm de diamètre et de 6,3 cm de hauteur (Figure 31). Les moules ont été à moitié remplis, placés sur la table de vibration pendant 4 minutes, complétés et placés à nouveau sur la table d'agitation pendant 4 minutes. Après l'arasement de la surface, les moules ont été hermétiquement fermés par un bouchon en plastique, afin d'éviter une perte d'eau par évaporation et des échanges de dioxyde de carbone avec l'air. Un crochet a ensuite été immédiatement placé dans l'éprouvette à travers le bouchon. Ce dernier permettra de suspendre le mortier dans le réacteur au cours de l'essai de biodétérioration. La prise des éprouvettes a été réalisée dans une chambre à 20 ± 1 °C et à humidité relative supérieure à 95 % pendant 3 jours.

Le diamètre de 2,9 cm permet d'avoir un échantillon représentatif vis-à-vis de la taille maximale des grains de sable. D'autre part, la taille de l'échantillon rend possible la réalisation de l'essai de biodétérioration dans un réacteur de faible volume, facilitant la mise en œuvre de plusieurs dispositifs fonctionnant simultanément. Enfin, la géométrie cylindrique permet d'avoir une épaisseur lixiviée constante (symétrie cylindrique) contrairement à une géométrie cubique ou prismatique.

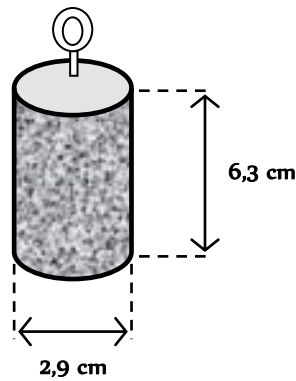


Figure 31 : Géométrie du mortier cylindrique.

1.2.2. La maturation des mortiers

Les mortiers ont été démoulés 3 jours après leur fabrication. Ils ont été ensuite immergés pendant 28 jours dans un flacon hermétiquement fermé contenant de l'eau déminéralisée. Le flacon a été placé dans une chambre à 20 ± 1 °C et à une humidité relative supérieure à 95 %.

1.2.3 La porosité des mortiers

L'évaluation de la porosité des mortiers a été réalisée par intrusion de mercure. Cette technique consiste à injecter sous pression un liquide non mouillant, le mercure, dans le réseau poreux de l'échantillon sous vide. La mesure consiste à relier le volume de mercure, qui pénètre dans l'échantillon à chaque palier de pression. L'interprétation de cette mesure permet de donner la fonction de distribution des tailles de pore et la porosité totale de l'échantillon (Annexe 1). Le porosimètre utilisé dans cette étude est de type MICROMERITICS – AUTO PORE VI – 0/200 MB. Les mesures de porosité totale indiquent que le mortier CAC a une porosité plus faible que celle du mortier OPC (Tableau 7).

	Mortier OPC (E/C 0,5)	Mortier CAC (E/C 0,5)
Porosité	11,90%	6,17%

Tableau 7 : Porosité totale des mortiers étudiés

Cependant, la distribution poreuse des mortiers a révélé que le mortier CAC a des pores de plus grande taille que le mortier OPC. Par ailleurs, le mortier CAC est composé d'une seule taille de pores de $0,23 \mu\text{m}$. Le mortier OPC par contre a une double distribution au niveau des pores de la mésoporosité ($0,03 \mu\text{m}$ et à $0,05 \mu\text{m}$). Cette dernière concerne la majorité des pores de ce mortier (Figure 32) sachant que les conditions de l'essai n'ont pas permis de mettre en évidence la microporosité due à C-S-H (environ $0,005 \mu\text{m}$).

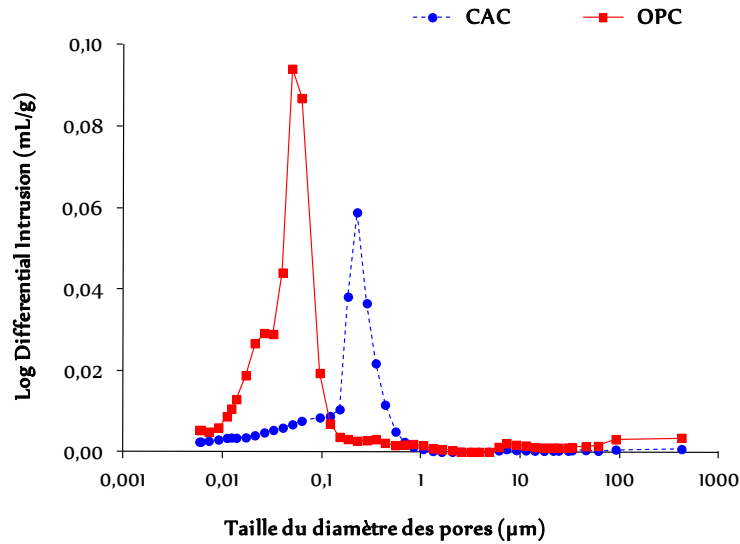


Figure 32 : Distribution poreuse des mortiers OPC et CAC de E/C = 0,5.

1.2.4. Les analyses minéralogiques initiales des mortiers

Après 28 j de cure, des morceaux de chaque type de mortier (OPC et CAC) ont été broyés et tamisés à 40 μm , afin d'obtenir une poudre fine facilement analysable par DRX (Siemens, BRUKER D8).

1.2.4.1 La minéralogie du mortier OPC

L'analyse DRX du mortier OPC a révélé une composition majoritaire en silice (SiO_2) provenant du sable siliceux utilisé pour la confection des mortiers (Figure 33).

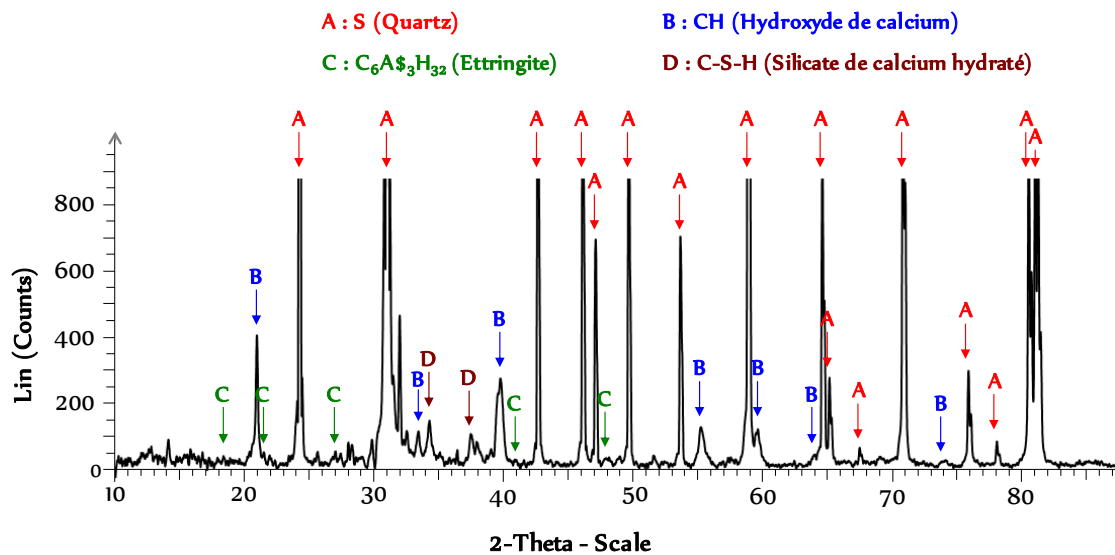


Figure 33 : Analyse DRX du mortier OPC et détermination des phases majeures présentes.

Les hydrates de la pâte de ciment sont la portlandite (Ca(OH)_2 ou CH), l'ettringite ($6\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3\cdot3\text{SO}_3\cdot32\text{H}_2\text{O}$ ou $\text{C}_6\text{A}\$_3\text{H}_{32}$) et le silicate de calcium hydraté ($1,75\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2\cdot5,52\text{H}_2\text{O}$ ou C-S-H) (Figure 34). Les résultats de la DRX de la pâte de ciment OPC sont en partie en accord avec les analyses réalisées par Scrivener (2003), Neville (2000) et Bayoux *et al.* (1990) après hydratation du ciment OPC (Paragraphe 3.1.1.1). Toutefois, dans l'étude présente, aucune trace de monosulfo-aluminate hydraté ($\text{C}_4\text{A}\$_\text{H}_{12}$) et d'alumino-ferrite tétracalcique (C_4AF) n'a été détectée dans la pâte de ciment certainement dû à leur faible proportion dans la pâte de ciment OPC.

1.2.4.2 La minéralogie du mortier CAC

L'analyse DRX (Siemens, BRUKER D8) du mortier CAC comme pour le mortier OPC a également révélé une prédominance de la silice (SiO_2). La pâte de ciment hydratée est constituée de différents hydrates, notamment d'aluminate de calcium hydraté ($2\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3\cdot8\text{H}_2\text{O}$ ou C_2AH_8) et de katoite ($3\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3\cdot6\text{H}_2\text{O}$ ou C_3AH_6). Ceci indique que la conversion a débuté après 28 jours de cure à 20°C . Par contre, AH_3 n'est pas observé par DRX certainement à cause d'un manque de cristallisation souvent observé à ces courtes échéances. Il reste encore un peu de ciment non hydraté ; l'aluminate monocalcique ($\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3$ ou CA) et la gehlénite ($\text{Ca}_2\text{Al(AlSi)O}_7$ ou C_2AS) qui n'ont pas été complètement hydratés après les 28 jours de cure. La présence de la gehlénite C_2AS dans la pâte de ciment justifie très certainement la formation de stratlingite (C_2ASH_8) en faible quantité et ici non identifiée par DRX (Bayoux, 1990). Par ailleurs, la pâte de ciment du mortier CAC renferme également, comme le ciment CAC, du titanate monocalcique ($\text{CaO}\cdot\text{TiO}_2$ ou CT) qui est une phase non réactive (Figure 34).

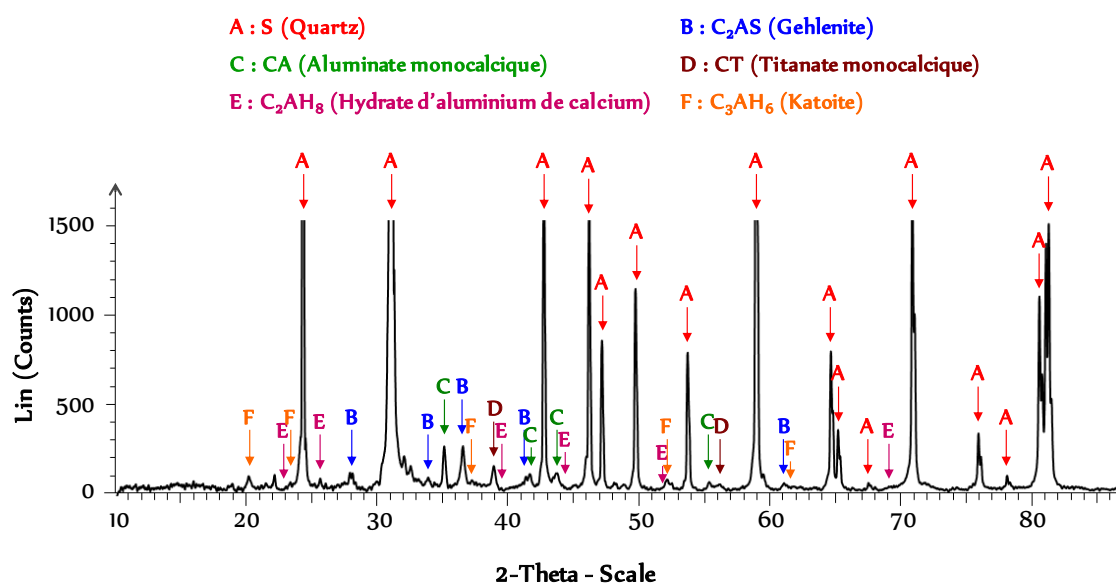


Figure 34 : Analyse DRX du mortier CAC et détermination des phases majeures présentes.

1.3. Pré-lixiviation des mortiers

Après maturation, le pH de surface des mortiers est fortement basique, de l'ordre de 12 - 13. Cette valeur élevée du pH de surface peut induire par lixiviation une remontée du pH du milieu réactionnel au début de l'essai de biodétérioration ; ce qui peut gêner ou même inhiber la croissance et/ou l'activité bactérienne. Ainsi, le but de la pré-lixiviation est de réduire le pH de la surface des éprouvettes, afin de simuler le lessivage qui se produit au cours de l'étape 1 du processus de biodétérioration des tuyaux d'égout (Figure 11) et aussi d'accélérer l'essai de biodétérioration en évitant une libération trop importante de l'alcalinité en début d'expérimentation. Cette étape doit être reproductible, contrôlée et suffisamment courte pour permettre uniquement la diminution du pH de surface sans altérer en profondeur la microstructure des mortiers.

La pré-lixiviation a été réalisée en immergeant les mortiers dans une solution d'acide chlorhydrique (HCl) selon deux protocoles suivant le pH de surface désiré : ~ 7 pour les BSON et ~ 5 pour les BSOA. La différence de capacité de neutralisation des deux types de mortiers conduit à des conditions expérimentales différentes (Figure 35) [Alexander and Fourie, 2011 ; Lamberet, 2005 ; Ehrich *et al.*, 1999].

Nous avons sélectionné le mortier OPC comme mortier de référence, car ce dernier a une capacité de neutralisation plus importante, il est donc susceptible d'induire une remontée de pH plus importante que celle du mortier CAC.

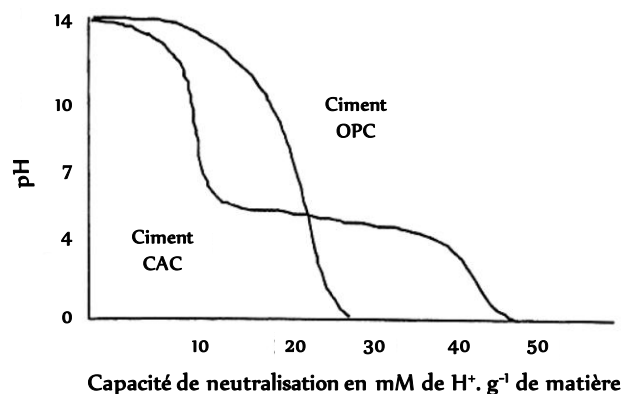


Figure 35 : Capacité de neutralisation des pâtes de ciment OPC et CAC [Letourneux and Scrivener, 1999].

Ainsi, pour diminuer le pH de surface du mortier OPC à 7, ce dernier a été attaqué 5 heures avec une solution d'HCl à 0,01 mole.L⁻¹ (pH=2). Durant cette période, le mortier OPC a neutralisé 0,01 mole d'ions hydronium. Nous avons veillé à ce que le mortier CAC neutralise la même quantité d'ions hydronium (0,01 mole), ainsi ce dernier a subi une attaque de 12 h dans la même solution d'HCl.

Pour diminuer le pH de surface du mortier OPC à 5, ce dernier a été attaqué 72 heures avec une solution d'HCl à 0,1 mole.L⁻¹ (pH=1). Durant cette période, le mortier OPC a neutralisé 0,1 mole d'ions hydronium. Pour neutraliser la même quantité d'ions hydronium (0,1 mole), le mortier CAC a été attaqué dans la même solution d'HCl pendant 5 h.

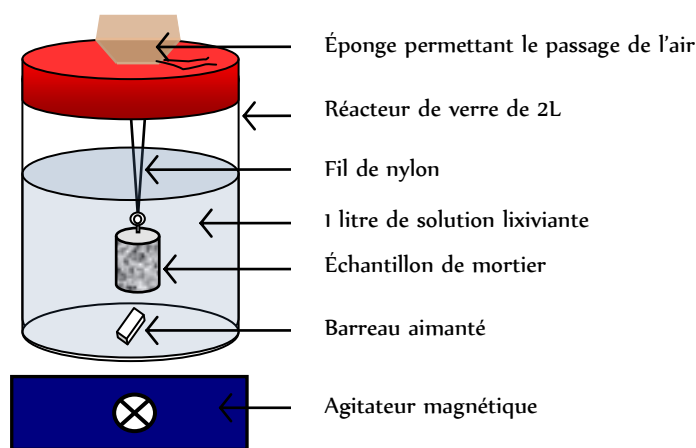


Figure 36 : Dispositif expérimental pour la pré-lixiviation des échantillons de mortiers.

Les mortiers ont été pré-lixiviés individuellement, afin de permettre la réalisation d'un bilan de matière lors de la pré-lixiviation. Celui-ci pourra ensuite être additionné au bilan de matière obtenu lors de l'essai de biodétérioration, afin de réaliser un bilan de matière total pour chaque échantillon. Le dispositif expérimental de la pré-lixiviation est composé : d'un flacon fermé en verre borosilicaté de 2 litres contenant 1 litre d'une solution d'acide chlorhydrique ; d'un échantillon de mortier suspendu par un fil de nylon et d'un barreau magnétique. Le flacon de verre, la solution d'acide chlorhydrique, le fil de nylon et le barreau magnétique ont été préalablement stérilisés dans un autoclave pendant 15 min à 120 °C. L'ensemble du dispositif a été placé sur un agitateur magnétique agitant en continu la solution lixivante (Figure 36).

Le dispositif a été placé dans une chambre à 30 ± 1 °C, température à laquelle les essais de biodétérioration ont été réalisés. L'éprouvette a été périodiquement retirée du réacteur afin de mesurer le pH de surface grâce à une électrode de contact SenTix Sur (WTW, Allemagne). Parallèlement, 3 mL de la solution lixivante ont été prélevés pour mesurer la valeur du pH à l'aide d'une électrode de pH SenTix 41 (WTW, Allemagne).

A la fin de la pré-lixiviation, les éléments Ca, Si, Al et Fe relargués en solution par les mortiers, suite à l'attaque acide, ont été quantifiés par spectrométrie d'émission atomique par plasma (ICP-AES). L'ICP-AES est une technique d'analyse des métaux après minéralisation préalable à l'acide. Il quantifie la concentration des métaux en mesurant l'intensité de la lumière émise par chaque élément, chaque élément émettant sur une longueur d'onde qui lui est propre (Annexe 1). Le spectromètre utilisé est de type VARIAN 720 ES. Les quantités d'éléments Ca, Si, Al et Fe relargués en solution par les

mortiers ont été prises en compte dans l'évaluation du bilan de matières qui a été utilisé pour déterminer les indices d'attaque globaux des essais de biodétérioration (Tableaux 8 et 9). Parallèlement, des indices d'attaque de pré-lixiviation ont été calculés à partir des quantités d'éléments chimiques initialement contenues dans les mortiers (Tableaux 4 et 6), des quantités d'éléments chimiques relarguées en solution par les mortiers et des quantités d'acide neutralisées par les échantillons de mortier (Tableaux 8 et 9).

	Eléments relargués (mole)	H ⁺ ajouté par HCl (mole)	Eléments dans mortier (mole)	% d'éléments relargués	% d'éléments relargués normalisé à 100	% d'éléments relargués normalisé à 100 / H ⁺	Indice d'attaque
Echantillon de mortier OPC							
Ca	5,54E-03	1,00E-02	2,20E-01	2,52	2,43	242,93	244
Si	2,04E-04	1,00E-02	5,61E-02	0,36	0,01	1,29	
Al	7,41E-06	1,00E-02	2,03E-02	0,04	0,00	0,00	
Fe	9,39E-07	1,00E-02	1,09E-02	0,01	0,00	0,00	
Echantillon de mortier CAC							
Ca	2,35E-03	1,00E-02	1,42E-01	1,66	0,97	96,61	129
Si	9,49E-06	1,00E-02	1,64E-02	0,06	0,00	0,01	
Al	1,67E-03	1,00E-02	2,10E-01	0,79	0,33	32,72	
Fe	3,76E-06	1,00E-02	4,71E-03	0,08	0,00	0,01	

Tableau 8 : Quantités des principaux éléments chimiques relargués par le mortier au cours de la pré-lixiviation à pH=2 des mortiers OPC et CAC destinés à la biodétérioration pour les BSON permettant de calculer l'indice d'attaque pour l'étape de pré-lixiviation.

	Eléments relargués (mole)	H ⁺ ajouté par HCl (mole)	Eléments dans mortier (mole)	% d'éléments relargués	% d'éléments relargués normalisé à 100	% d'éléments relargués normalisé à 100 / H ⁺	Indice d'attaque
Echantillon de mortier OPC							
Ca	6,95E-02	1,05E-01	2,20E-01	31,63	27,92	266	300
Si	6,13E-05	1,05E-01	5,61E-02	0,11	0,00	0	
Al	6,72E-03	1,05E-01	2,03E-02	33,18	2,83	27	
Fe	2,46E-03	1,05E-01	1,09E-02	22,51	0,70	7	
Echantillon de mortier CAC							
Ca	2,40E-02	1,02E-01	1,42E-01	16,86	7,08	69,45	157
Si	1,75E-05	1,02E-01	1,64E-02	0,11	0,00	0,00	
Al	3,25E-02	1,02E-01	2,10E-01	15,45	8,79	86,22	
Fe	5,85E-04	1,02E-01	4,71E-03	12,43	0,13	1,25	

Tableau 9 : Quantités des principaux éléments chimiques relargués par le mortier au cours de la pré-lixiviation à pH=1 des mortiers OPC et CAC destinés à la biodétérioration pour les BSOA permettant de calculer l'indice d'attaque pour l'étape de pré-lixiviation.

L'analyse des résultats de la pré-lixiviation révèle que, quelle que soit la concentration de la solution lixivante ($C = 0,01 \text{ M}$ ou $C = 0,1 \text{ M}$), les indices d'attaque des mortiers CAC sont en moyenne, deux fois plus faibles que ceux des mortiers OPC. Par ailleurs, de façon cohérente, l'indice d'attaque correspondant à la pré-lixiviation pour obtenir un pH de surface à 5 est supérieur à celui calculé pour la pré-lixiviation visant à avoir un pH de surface à 7. Cependant, les valeurs des indices d'attaque sont fortes ; ce qui signifie que la pré-lixiviation correspond bien à une attaque intense, qui

était voulu afin de réduire la durée de cette étape. En effet, il convient d'éviter de contaminer les échantillons, mais aussi de pouvoir réaliser une pré-lixiviation aussi reproductible que possible.

1.4. Analyse microscopique des mortiers après pré-lixiviation

Afin de mieux comprendre et de mesurer l'évolution de la biodétérioration sur des échantillons de mortier, il est primordial de connaître la microstructure initiale du mortier. Des analyses de microscopie électronique à balayage (MEB) ont par conséquent été réalisées sur les mortiers.

Le MEB est une technique dont le principe est de bombarder l'échantillon à observer par un fin faisceau d'électrons. L'interaction entre les électrons et l'échantillon provoque la formation d'électrons secondaires de plus faible énergie. Ces derniers sont amplifiés puis détectés et convertis en un signal électrique. Ce processus est réalisé en chaque point de l'échantillon par un balayage du microscope. L'ensemble des signaux permet de reconstruire la typographie de l'échantillon et de fournir une image en relief. Il permet de réaliser des images de la surface d'objets en trois dimensions avec une très haute résolution de l'ordre du nanomètre.

Lorsqu'il est couplé à un détecteur spectrométrique de photons X à dispersion d'énergie (EDS), il permet de réaliser des analyses locales semi-quantitatives et des cartes de répartition des éléments chimiques des zones analysées. Le MEB couplé à l'EDS permet donc de définir la microstructure et la composition chimique des zones analysées ainsi que d'obtenir le profil d'évolution et de répartition des éléments chimiques de la surface au cœur de l'échantillon (Annexe 1).

Les analyses MEB ont été réalisées grâce à un appareil de type FEG-HITACHI S-4300SE/N et le détecteur de type THERMO SCIENTIFIC ULTRADRY EDS.

Les échantillons de mortier ont été séchés 24 h à 40°C, imprégnés sous vide dans de la résine époxy de type ARALDITE 2020 A/B avant d'être sectionnés. Les sections ont été polies successivement au papier abrasif de grade 180, 320, 560, 1200 puis polies à l'aide de pâtes diamantées contenant des particules de 9, 6, 3, 1 et 0,5 µm. Pour finir, un dépôt d'un film de carbone a été réalisé à la surface des sections polies afin de les rendre conductrices.

1.4.1. Les analyses MEB/EDS du mortier OPC pré-lixivié avec HCl à pH de 2

Les observations au MEB couplées aux analyses EDS pour le mortier OPC après la pré-lixiviation avec HCl à pH de 2 sont rassemblées sur la figure 37.

Les analyses EDS du mortier montrent une augmentation de la concentration en calcium en passant de la surface au cœur du mortier. Cette évolution est très certainement due à la dissolution rapide et majoritaire de la portlandite. Cependant, l'observation du mortier au MEB indique tout de même que la pré-lixiviation a un impact limité sur la microstructure du mortier. Si on se réfère au rapport Ca/Si pour le mortier OPC, il apparaît qu'à 200 µm de la surface ce dernier (2,9) est encore bien

inférieur à celui mesuré au cœur du mortier (3,7) qui est semblable à celui de la pâte de ciment non pré-lixiviée (Tableau 4 ; Figure 37 A). Nous n'avons pu mesurer le rapport Ca/Si au-delà de 200 μm , nous avons donc extrapolé les résultats obtenus et défini l'épaisseur impactée par la pré-lixiviation à environ 500 μm de la surface (Figure 37 B).

Pour les mortiers OPC attaqués à $\text{pH} = 1$, l'épaisseur impactée est évidemment plus importante et voisine de 1,8 mm.

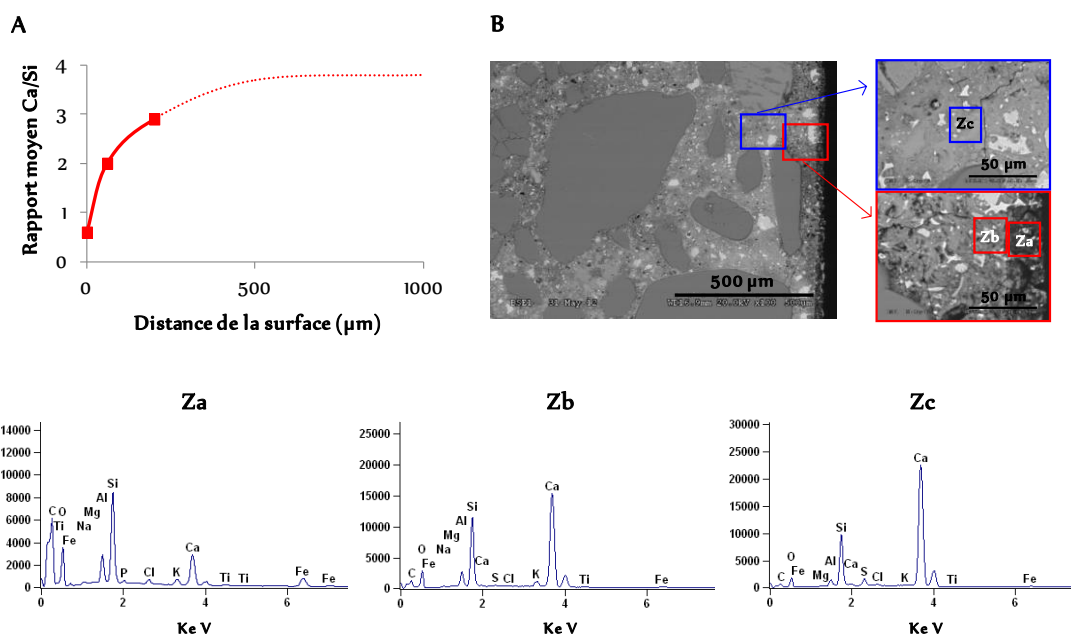


Figure 37 : Évolution du rapport Ca/Si dans le mortier OPC (A), observations MEB (B) et analyses EDS (Za, Zb et Zc) du mortier OPC pré-lixivié 5 h dans une solution d'HCl à $\text{pH} = 2$.

1.4.2. Les analyses MEB/EDS du mortier CAC pré-lixivié avec HCl à pH de 2

Les analyses EDS du mortier CAC montrent également une augmentation de la concentration en calcium en s'éloignant de la surface du mortier certainement en relation avec la dissolution des aluminates de calcium (Figure 38 Za, Zb et Zc). Cependant, l'observation du mortier au MEB indique que la pré-lixiviation a un impact plus limité sur la microstructure du mortier CAC comparé au mortier OPC. Si on se réfère au rapport Ca/Al pour le mortier CAC, il apparaît que seuls les 250 premiers μm sont affectés par la pré-lixiviation. Cette épaisseur est deux fois plus faible que pour le mortier OPC (Figure 38 B). Le rapport moyen Ca/Al au cœur du mortier (à 1,4 cm de la surface) est de 0,8 quasi semblable à celui du ciment CAC qui est de 0,7 (Tableau 6 ; Figure 38 A). Par conséquent, comme pour le mortier OPC, la pré-lixiviation est également superficielle comme escompté.

Pour les mortiers CAC attaqués à $\text{pH} = 1$, l'épaisseur impactée est quasiment semblable à celle des mortiers attaqués à $\text{pH} = 2$. Elle est voisine de 250 μm .

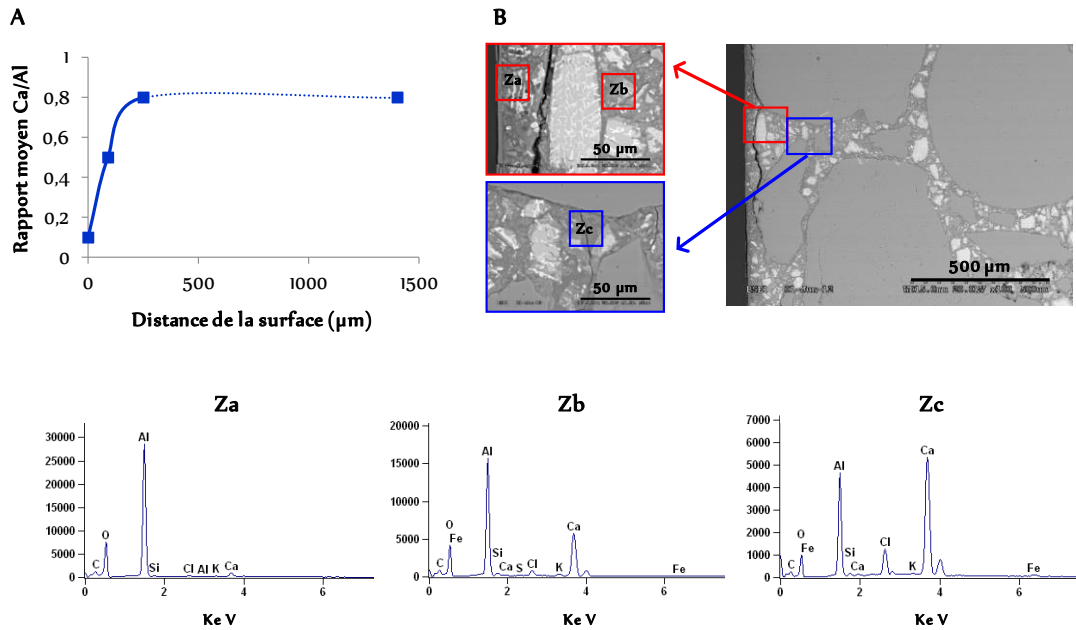


Figure 38 : Évolution du rapport Ca/Si dans le mortier CAC (A), observations MEB (B) et analyses EDS (Za, Zb et Zc) du mortier CAC pré-lixivié 12 h dans une solution d'HCl à pH = 2.

2. Choix, formulation des milieux d'étude et tests de croissance des BSO

Dans un premier temps, les croissances des souches bactériennes neutrophiles (répertoriées dans la partie bibliographique) et de *A. thiooxidans* ont été testées dans différents milieux, mais identiques pour les souches neutrophiles et acidophile. Dans un deuxième temps, les pH maxima et minima de croissance des bactéries neutrophiles et de *A. thiooxidans* ont été déterminés dans le but de définir la zone de jonction de pH des deux types de bactéries. Cette zone de jonction permettra par la suite de définir la procédure expérimentale pour la réalisation de la succession bactérienne neutrophile/acidophile dans le but de se rapprocher des conditions *in situ*. Pour finir, le dispositif expérimental et la stratégie de mise en œuvre de l'essai de biodétérioration de mortier ont été définis.

2.1. Choix des BSO testées pour l'étude

Les souches de *Halothiobacillus neapolitanus* (Souche n° 581), *Starkeya novella* (Souche n° 506), *Thiobacillus thioparus* (Souche n° 505), *Acidithiobacillus thiooxidans* (Souche n° 504) utilisées pour l'étude proviennent de la collection allemande de microorganismes DSMZ. La croissance des espèces de BSO est influencée par différents facteurs environnementaux, tels que la température, l'humidité relative, le pH et surtout la nature des nutriments présents dans le milieu.

2.2. Choix du milieu d'étude

Le milieu d'étude pour la réalisation de l'essai de biodétérioration doit être un milieu optimal commun aux bactéries neutrophiles et acidophile. Nous sommes partis du milieu développé par Hajj Chehade (2010) pour son essai de biodétérioration de mortier armé par *A. thiooxidans*.

Pour concevoir ce nouveau milieu, Hajj Chehade s'est basé sur le milieu préconisé par DMSZ, fournisseur des souches bactériennes utilisées pour l'essai de biodétérioration (Tableau 10). Cependant, le milieu d'étude devait remplir certains critères, principalement permettre une croissance optimale des bactéries et avoir le moins d'interactions possible avec l'échantillon de mortier afin de ne pas biaiser l'évaluation de l'impact de l'activité bactérienne sur ce dernier. Ce milieu devait par conséquent contenir les éléments chimiques nécessaires à la croissance bactérienne sous une forme utilisable par les bactéries. Pour finir, il devait accessoirement être simple à préparer et peu coûteux.

Pour satisfaire ces différentes exigences, des modifications ont été apportées au milieu préconisé pour la croissance de *A. thiooxidans*, de façon à le rendre également utilisable par les BSO neutrophiles.

<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> N° DMSZ : 14887 Origine : Argile Kimmeridge	
Composés chimiques	Concentration en g/L
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3
KH_2PO_4	3
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5

<i>Thiobacillus thioparus</i> N° DMSZ : 505 Origine : Beijerinck, 1904	
Composés chimiques	Concentration en g/L
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,1
K_2HPO_4	4
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,1
CaCl_2	0,1
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	10

<i>Halothiobacillus neapolitanus</i> N° DMSZ : 15147 Origine : béton biodégradé d'un égout	
Composés chimiques	Concentration en g/L
NH_4Cl	0,4
KH_2PO_4	4
K_2HPO_4	4
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,8
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	10
Pourpre de bromocrésol	0,5 mL
Solution d'éléments traces	5 mL

<i>Starkeya novella</i> N° DMSZ : 506 Origine : Sol	
Composés chimiques	Concentration en g/L
NH_4Cl	0,3
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	10,6
KH_2PO_4	1,5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,1
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5
Rouge Phénol	0,002
Solution d'éléments traces	5 mL

Tableau 10 : Composition chimique des milieux préconisés par DMSZ.

Le calcium est un des constituants des ciments OPC et CAC (Tableau 4 et 6), qui sera par conséquent relargué dans le milieu réactionnel pendant l'essai de biodétérioration [Gutiérrez-Padilla

et al., 2009 ; Rogers *et al.*, 2003]. Ainsi, sa présence dans le milieu de culture pourrait induire un biais de mesure dans l'évaluation de la quantité réellement relarguée par les échantillons de mortier. En effet, il est impossible de différencier les ions calcium apportés par le milieu de culture de ceux potentiellement relargués en solution par les échantillons de mortier. Ainsi, le calcium a été supprimé des milieux.

Les sources d'azote et de magnésium ont respectivement été apportées par les éléments NH_4Cl et $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, car il est indispensable d'exclure les ions sulfate de la composition du milieu d'étude. En effet, les ions sulfate constituent avec les ions hydronium le principe actif de l'acide sulfurique produit par les BSO, puisqu'au cours de l'attaque des mortiers par l'acide sulfurique, les ions hydronium provoquent la dissolution des phases tandis que les ions sulfate peuvent réagir avec les hydrates de la pâte de ciment. Ces réactions aboutissent à la formation, en fonction du pH, du gypse, de l'ettringite et du sulfate d'aluminium, composés pouvant également induire une détérioration des mortiers [Monteny *et al.*, 2000 ; Scrivener *et al.*, 1999 ; Bayoux *et al.*, 1990 ; Lea, 1970]. D'où, la nécessité que ces derniers ne soient apportés que par l'activité bactérienne afin de pleinement apprécier l'impact des bactéries sur les mortiers et d'évaluer avec exactitude l'activité bactérienne des BSO.

L'hydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) a été sélectionné comme source de potassium et de phosphore, car en plus d'enrichir le milieu, il permet de le tamponner. Cette propriété s'est révélée utile au cours de l'essai de biodétérioration, car il a permis de mieux maîtriser la remontée du pH du milieu liée à la nature basique de l'échantillon de mortier.

Quatre sources de soufre sont susceptibles d'être utilisées dans le milieu d'étude : le thiocyanate, le soufre élémentaire, le sulfure d'hydrogène et le thiosulfate. Cependant, la source de soufre doit satisfaire quatre contraintes : (i) être utilisable par les deux types de bactéries, BSON et BSOA; (ii) être apportée de façon homogène dans le milieu afin de permettre une attaque homogène ; (iii) être dosable pour assurer le suivi de l'activité bactérienne au cours de l'essai ; (iiii) ne pas réagir chimiquement avec le mortier. Les critères de chaque composé soufré sont indiqués dans le tableau II.

	Utilisation par toutes les bactéries	Apport Homogène dans le milieu	Dosable	Réaction chimique avec le mortier
SCN^-	-	+	+	-
S^0	-	-	-	-
H_2S	-	+	+	+
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	+	+	+	-

Tableau II : Critères de sélection de la source de soufre. (+) Action possible, (-) action impossible.

Ainsi, seul le thiosulfate remplissait les quatre critères exigés. En effet, (i) le thiosulfate est utilisable par toutes les bactéries de l'étude ; (ii) il peut être apporté dans le milieu de façon homogène ; (iii) il est facilement dosable par chromatographie ionique et (iiii) il ne réagit pas avec le mortier [Roberts *et al.*, 2002 ; Parker et Prisk, 1953]. Il a donc été sélectionné comme source de soufre pour le milieu d'étude.

A la lumière de ces données et des études qui ont préalablement été menées au laboratoire, un milieu d'étude appelé milieu II commun aux BSO et à la BSOA a été formulé (Tableau 12) [Hajj Chehade, 2010].

Le pH du milieu II est de 4,4 à sa préparation, il a par conséquent été ajusté à 4,5 pour la croissance des BSOA et à 6,5 pour celle des BSO grâce à une solution concentrée d'hydroxyde de sodium (C = 3 N). Les milieux ont ensuite été stérilisés à l'autoclave pendant 15 min à 120 ° C.

Milieu II	
Composés chimiques	Concentration en g/L
NH ₄ Cl	2,43
KH ₂ PO ₄	3
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,41
Na ₂ S ₂ O ₃ .5H ₂ O	5

Tableau 12 : Composition chimique du milieu II.

2.3. Sélection de la (des) bactérie (s) neutrophile (s)

La (les) bactérie (s) neutrophile (s) à sélectionner pour l'étude devait (ent) permettre de diminuer suffisamment le pH du milieu réactionnel et le pH de surface des échantillons de mortier, afin de permettre par la suite la croissance de *A. thiooxidans* [Islander *et al.*, 1991]. Les croissances des BSO ont été réalisées dans le milieu II à pH optimum pour chaque type de souche bactérienne. La sélection des bactéries a été entreprise en se basant sur les paramètres de croissance des différentes souches bactériennes (pH, nombre de bactéries, taux de croissance).

2.3.1. Les conditions de culture des BSO

Dans la nature, les BSO se développent dans une gamme de température allant de 10°C à 50°C avec un optimum de croissance entre 25 °C et 35 °C pour une humidité relative aux environs de 90% [Kelly and Wood, 2000 ; Kelly *et al.*, 2000 ; London and Rittenberg, 1966 ; Vishniac and Santer, 1957 ; Waksman and Joffe, 1922]. Une température de 30 ± 1°C a donc été sélectionnée pour la réalisation des croissances bactériennes. Les cultures bactériennes ont été réalisées en batch. Des erlenmeyers de 250 mL contenant 100 mL de milieu stérile ont été inoculés avec 100 µL d'une pré-culture en fin de phase exponentielle de croissance (nombre de bactéries vivantes supérieur à 10⁺⁹ bactéries/mL). Ils

ont ensuite été incubés à 30 ± 1 °C sous agitation orbitale à une vitesse de 150 tours/minute (150 rpm) pendant deux à trois semaines. Trois ml de chaque culture ont été échantillonnés toutes les 24 heures afin de mesurer le pH, le nombre de cellules bactériennes et la quantité d'ions sulfate produite (Figure 39). Les prélèvements ont été réalisés en environnement stérile, sous hotte à flux laminaire (JOUAN MSC 12).

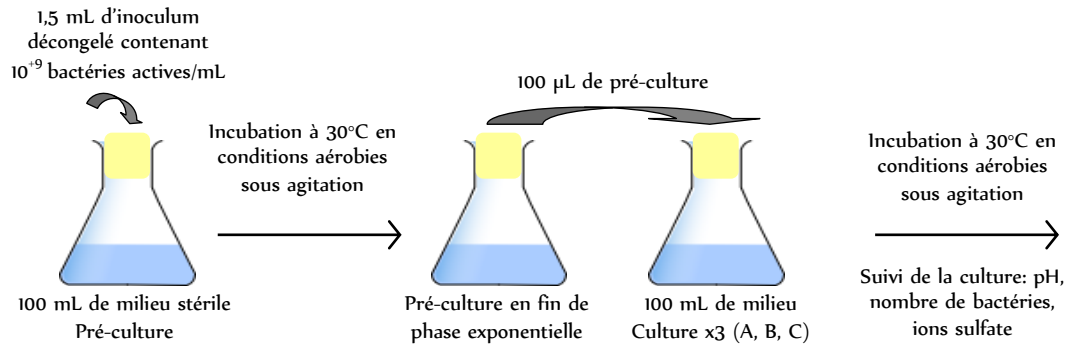


Figure 39 : Schéma résumant procédure expérimentale pour le suivi des cultures bactériennes.

2.3.2. Les méthodes d'évaluation des paramètres de croissance : pH ; nombre de BSO ; μ

La croissance bactérienne a été évaluée par un suivi périodique du pH à l'aide d'une électrode de pH SenTix 41 (WTW, Allemagne) et par un dénombrement bactérien effectué par microscopie à épifluorescence. L'appareil utilisé est de type LEICA DMLP comprenant un objectif x 1000. Il est équipé d'une caméra numérique SONY DC300.

Pour réaliser le dénombrement bactérien, des prélèvements de culture ont été filtrés sur des filtres en polycarbonate noir (25 mm de diamètre, 0,2 μ m taille des pores), avant d'être colorés avec une solution d'acridine orange de 0,01% de concentration finale et rincés avec de l'isopropanol [Hobbie *et al.*, 1977]. Les bactéries devenues fluorescentes sous la lumière ultraviolette (OSRAM HBO, Allemagne) ont été comptées par microscopie à épifluorescence (LEICA DMLP, Allemagne) (Annexe 1). Le dénombrement bactérien au cours du temps permet de tracer une courbe de croissance. L'exploitation de cette dernière permet de déterminer plus précisément les paramètres de la croissance bactérienne, tels que le taux de croissance maximum encore appelé vitesse de croissance. Ce paramètre correspond à la pente de la phase exponentielle de croissance de la courbe $\ln N = f(t)$ (Figure 40) et permet de comparer entre elles les vitesses de croissance de différentes cultures bactériennes. Le taux de croissance est déterminé par la relation suivante :

$$\mu = \ln (N_2 - N_1) / (T_2 - T_1)$$

Avec :

μ = taux de croissance,

N_1, N_2 = nombre de bactéries au temps T_1 et T_2

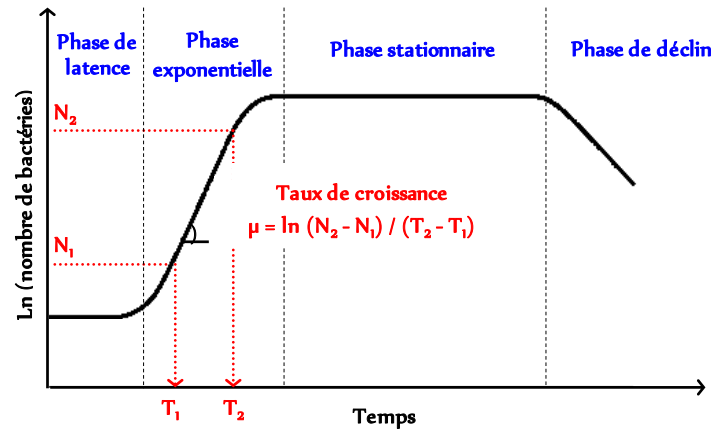


Figure 40 : Évolution théorique d'une culture bactérienne [modifié de l'Encyclopédie Universalis, 1977].

2.3.3. La croissance des BSO dans le milieu II

Pour déterminer les paramètres de croissance des BSO, des cultures de *S. novella*, *T. thioparus*, *H. neapolitanus* mais également de *A. thiooxidans* ont été réalisées en triplicata dans le milieu II (à pH = 6,5 pour les BSON et à pH = 4,5 pour les BSOA). Les cultures ont été incubées 16 jours dans une chambre à $30 \pm 1^\circ \text{C}$. Toutes les souches testées sont capables de croître dans le milieu II (Figure 41).

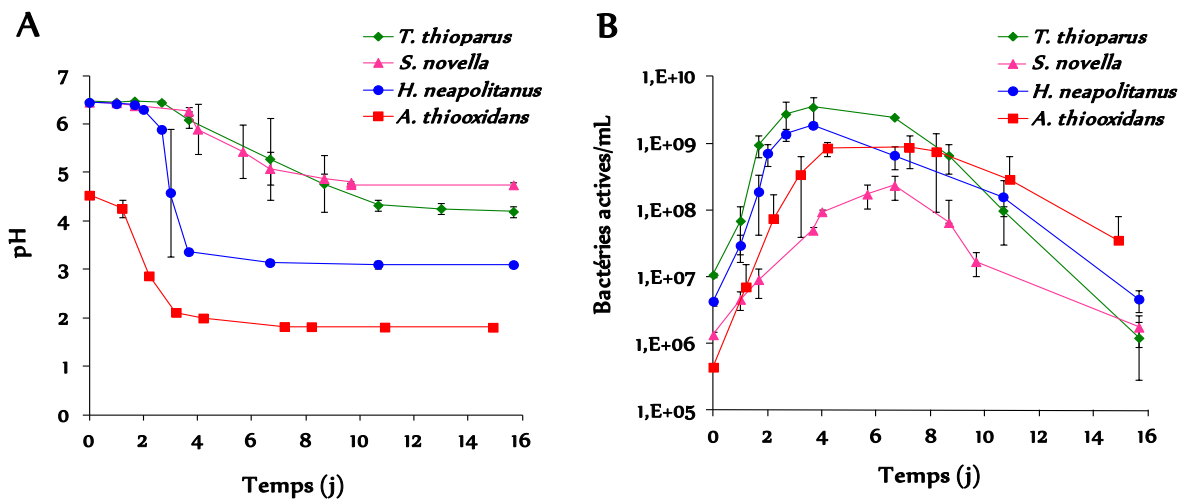


Figure 41 : A - Évolution du pH des cultures de BSO réalisées dans le milieu II. B - Évolution du nombre de bactéries actives des cultures de BSO réalisées dans le milieu II. Les barres d'erreur représentent la limite de confiance à 95% des triplicatas.

Le pH des cultures de *S. novella* a diminué d'une valeur initiale de 6,5 à environ 4,8 en 9 jours, celui de *T. thioparus* de 6,5 à environ 4,3 en 11 jours, celui de *H. neapolitanus* de 6,5 à environ 3,4 en 4 jours et enfin celui de *A. thiooxidans* de 4,5 à environ 2,1 en 3 jours (Figure 41 A). Une croissance bactérienne relativement importante a été obtenue pour les souches *A. thiooxidans* $8,5 \cdot 10^{-8} \pm 2,1 \cdot 10^{-8}$

bactéries actives/mL, *H. neapolitanus* $1,9 \cdot 10^{+9} \pm 1,7 \cdot 10^{+8}$ bactéries actives/mL, *T. thioparus* $3,5 \cdot 10^{+9} \pm 1,4 \cdot 10^{+9}$ bactéries actives/mL. La souche *S. novella* a une croissance relativement moindre de seulement $2,3 \cdot 10^{+8} \pm 9,1 \cdot 10^{+7}$ bactéries actives/mL. Ainsi, les taux de croissance de ces cultures sont également similaires sauf pour *S. novella* qui est inférieur. Cette dernière a un taux de croissance de $0,7 \pm 0,1 \text{ j}^{-1}$ tandis que ceux des autres souches étaient au-dessus de 2 j^{-1} ($2,1 \pm 0,3 \text{ j}^{-1}$ pour *A. thiooxidans*, $2,2 \pm 0,1 \text{ j}^{-1}$ pour *T. thioparus* et $2,3 \pm 0,4 \text{ j}^{-1}$ pour *H. neapolitanus*) (Figure 41 B, tableau 13).

	Phase exponentielle				Phase stationnaire	Etat de la culture après 15 jours de croissance		
	Durée (j)	pH final	Bactéries actives/mL	$\mu(\text{j}^{-1})$	Durée (j)	pH final	Bactéries actives/mL	
<i>S. novella</i>	6,7	5,1	$2,3 \cdot 10^{+8} \pm 9,1 \cdot 10^{+7}$	$0,7 \pm 0,1$	0	4,7	$1,8 \cdot 10^{+6} \pm 8,6 \cdot 10^{+5}$	
<i>T. thioparus</i>	3,7	6,3	$3,5 \cdot 10^{+9} \pm 1,4 \cdot 10^{+9}$	$2,2 \pm 0,1$	3	4,2	$1,2 \cdot 10^{+6} \pm 9,3 \cdot 10^{+5}$	
<i>H. neapolitanus</i>	3,7	3,4	$1,9 \cdot 10^{+9} \pm 1,7 \cdot 10^{+8}$	$2,3 \pm 0,4$	0	3,1	$4,6 \cdot 10^{+6} \pm 1,6 \cdot 10^{+6}$	
<i>A. thiooxidans</i>	4	2,1	$8,5 \cdot 10^{+8} \pm 2,1 \cdot 10^{+8}$	$2,1 \pm 0,3$	3	1,8	$3,5 \cdot 10^{+7} \pm 4,6 \cdot 10^{+7}$	

Tableau 13 : Paramètres de croissance des espèces BSO dans le milieu II.

H. neapolitanus a été sélectionnée comme bactérie neutrophile, car elle a une croissance significative dans le milieu d'étude ($1,9 \cdot 10^{+9} \pm 1,7 \cdot 10^{+8}$ bactéries actives/mL) et diminue très rapidement le pH (6,5 à 3,4 en seulement 4 jours) à des valeurs permettant la croissance de *A. thiooxidans*.

Cependant, une entrée rapide en phase de déclin est observée pour toutes les souches bactériennes testées avec le milieu II (Figure 41 B, Tableau 13). Or, il est primordial que les bactéries demeurent dans un état optimal le plus longtemps possible lors de l'essai de biodétérioration, afin d'éviter de renouveler trop souvent la suspension bactérienne.

2.4. Formulation d'un milieu optimal de croissance des BSO

Plusieurs auteurs ont montré que la biodétérioration pouvait être accélérée par la présence d'un plus grand nombre de BSO [Okabe *et al.*, 2007, Milde *et al.*, 1983]. En effet, plus le nombre de bactéries est important, plus la production d'acide sulfurique est importante. Ainsi, lors de l'essai de biodétérioration, il est important de produire puis de maintenir un grand nombre de bactéries actives, de l'ordre de 10^{+9} bactéries/mL, tout au long de l'essai de biodétérioration. Or, le milieu II ne permet pas de satisfaire à cette exigence. Diverses raisons peuvent expliquer l'entrée rapide des bactéries en phase de déclin dans le milieu II, la plus probable étant très certainement l'épuisement de certains nutriments dans le milieu de croissance. C'est la raison pour laquelle, les croissances bactériennes ont été réalisées dans le milieu III, dans lequel les quantités des différents constituants du milieu II ont été doublées (Tableau 14).

Milieu III	
Composés chimiques	Concentration en g/L
NH ₄ Cl	4,86
KH ₂ PO ₄	6
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,82
Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	10

Tableau 14 : Composition chimique du milieu III.

2.4.1. La croissance des BSO dans le milieu III

Les deux souches sélectionnées, *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans*, ont été également capables de se développer dans le milieu III (Figure 42).

Dans le milieu III, le pH des cultures de *H. neapolitanus* a chuté de sa valeur initiale de 6,5 à environ 3,4 en 3 jours au lieu de 4 jours dans le milieu II (Figure 41, tableau 13). Le taux de croissance des cultures a également augmenté dans ce nouveau milieu. Il est passé de $2,3 \pm 0,4 \text{ j}^{-1}$ dans le milieu II à $3,9 \pm 0,1 \text{ j}^{-1}$ dans le milieu III (Figure 42, tableau 15).

Dans le cas de *A. thiooxidans*, le pH des cultures a pris plus de temps à diminuer : il a diminué de sa valeur initiale de 4,5 à environ 2 en 8 jours au lieu de 3 jours dans le milieu II (Figure 41, tableau 13). Les taux de croissance des cultures ont également diminué dans ce nouveau milieu. Ils sont passés de $2,1 \pm 0,3 \text{ j}^{-1}$ dans le milieu II à $1,3 \pm 0,1 \text{ j}^{-1}$ dans le milieu III et une phase de latence de 2 jours, inexistante dans le milieu II est apparue dans le milieu III (Figure 42, tableau 15).

Néanmoins, quelle que soit la souche bactérienne considérée, le nombre de bactéries actives dans le milieu III est resté supérieur à 10^{+9} bactéries actives/mL, même après 21 jours de croissance (Figure 42, tableau 15).

	Phase de latence		Phase exponentielle			Phase stationnaire	Etat de la culture après 21 jours de croissance	
	Durée (j)	Durée (j)	pH final	Bactéries actives/mL	$\mu(\text{j}^{-1})$	Durée (j)	pH final	Bactéries actives/mL
<i>H. neapolitanus</i>	0	2	5,6	$1,3 \cdot 10^{+9} \pm 2,1 \cdot 10^{+8}$	$3,9 \pm 0,1$	> 15	2,9	$1,0 \cdot 10^{+9} \pm 2,6 \cdot 10^{+8}$
<i>A. thiooxidans</i>	2	6	2,0	$1,2 \cdot 10^{+9} \pm 9,2 \cdot 10^{+7}$	$1,3 \pm 0,1$	>15	1,5	$1,3 \cdot 10^{+9} \pm 1,3 \cdot 10^{+8}$

Tableau 15 : Paramètres de croissance de *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* dans le milieu III.

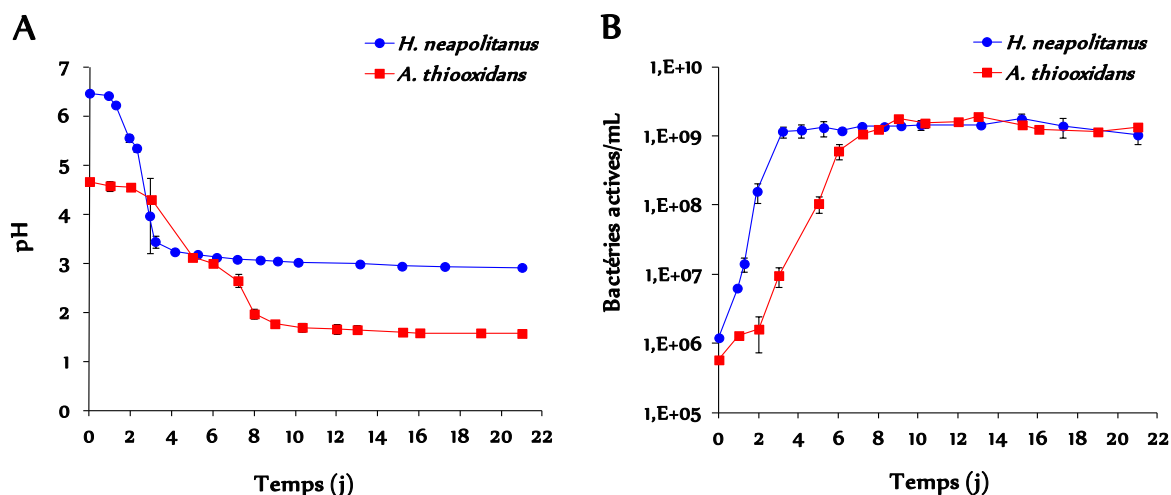


Figure 42 : A - Évolution du pH des cultures de *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* réalisées dans le milieu III. B - Évolution du nombre de bactéries actives des cultures de *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* réalisées dans le milieu III. Les barres d'erreur représentent la limite de confiance à 95% des triplicatas.

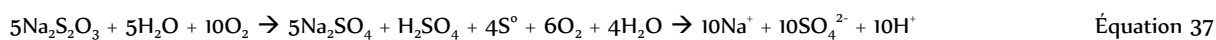
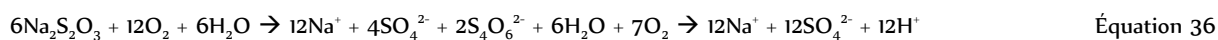
2.4.2. L'évaluation de la quantité d'acide sulfurique produite par l'activité bactérienne des BSO dans le milieu III

Au cours de la croissance bactérienne, les BSO produisent de l'acide sulfurique qui diminue le pH du milieu réactionnel. Ainsi, certains auteurs évaluent l'importance de l'activité bactérienne, donc de la production d'acide sulfurique, en se basant uniquement sur la diminution du pH du milieu réactionnel. Cependant, nous nous sommes aperçus que quelle que soit la souche bactérienne considérée, *H. neapolitanus* ou *A. thiooxidans*, la détermination des concentrations d'acide sulfurique produite (en se basant sur le pH) est 3 à 40 fois inférieures à celles attendues en considérant une consommation totale des thiosulfates par les bactéries (Tableau 16).

	Quantité de H^+ attendue à partir du thiosulfate (mol)	Quantité de H^+ calculée à partir du pH (mol)	ΔH^+ (H^+ attendue - H^+ calculé)
<i>H. neapolitanus</i>	8,06E-02	1,24E-03	7,94E-02
<i>A. thiooxidans</i>	8,06E-02	2,10E-02	5,96E-02

Tableau 16 : Quantités d'acide sulfurique calculées à partir du pH et variation par rapport à la quantité d'acide sulfurique attendue au cours des croissances de *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* dans le milieu III.

En effet, d'après Parker et Prisk (1953), la croissance des BSO dans le milieu III, qui contient $10,0 \text{ g.L}^{-1}$ de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ($0,04 \text{ mole.L}^{-1}$), devrait permettre une production de $7,8 \text{ g.L}^{-1}$ de SO_4^{2-} donc ; $0,08 \text{ mole.L}^{-1}$ d'ions sulfates et d'ions hydronium H^+ selon les équations 36 (pour *H. neapolitanus*) et 37 (pour *A. thiooxidans*) :



La variation entre la concentration d'acide sulfurique attendue et celle mesurée peut être expliquée par plusieurs raisons, les plus probables étant : la neutralisation d'une certaine quantité d'ions hydronium par le milieu de culture ; la non-consommation de la totalité du thiosulfate initial contenue dans le milieu ou l'accumulation d'intermédiaires métaboliques. En effet, d'après Parker et Prisk (1953), au cours de la croissance des BSO dans un milieu enrichi en thiosulfate, certaines souches telle que *H. neapolitanus* accumule le tétrathionate ($\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$) comme intermédiaire de croissance (Équation 36) alors que d'autres telle que *A. thiooxidans* forme brièvement le soufre élémentaire (S^0) avant que ce dernier disparaisse complètement en fin de croissance (Équation 37). Ces différentes hypothèses peuvent être facilement vérifiées en déterminant les quantités de thiosulfates consommés, des sulfates produits et des intermédiaires métaboliques formés. Les quantités de thiosulfates consommés de même que celles de sulfates produits au cours du temps ont été mesurées par chromatographie ionique (DIONEX ICS-3000, USA) (Figure 43). Le tétrathionate et le soufre élémentaire sont calculés à partir de la mesure des ions sulfate et thiosulfate ainsi que la connaissance de la quantité totale d'ions sulfate pouvant être produits à partir des thiosulfates initiaux.

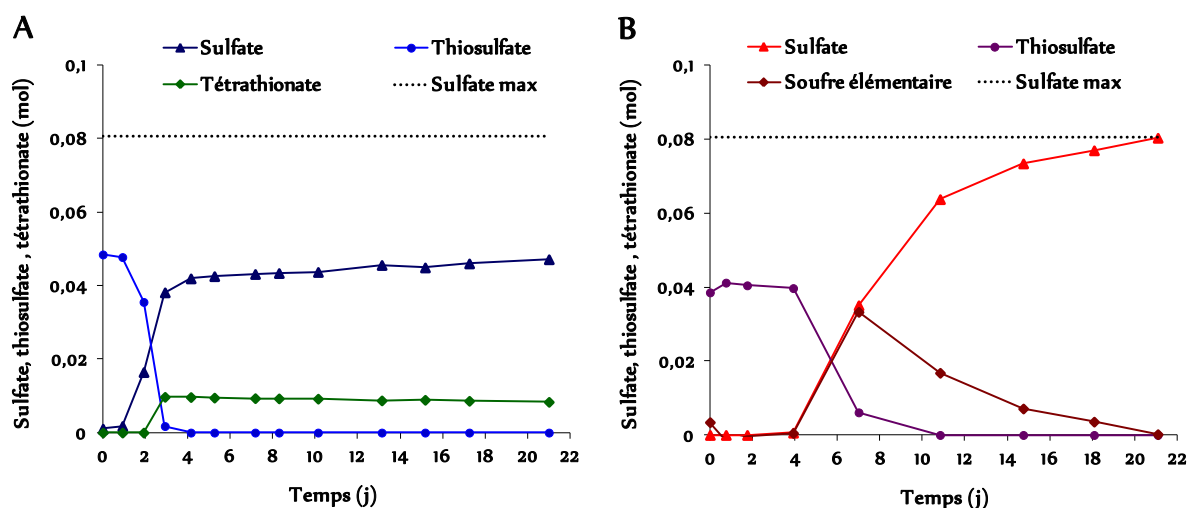


Figure 43 : A - Évolution de la quantité d'ions sulfate produits, d'ions thiosulfate consommés et d'ions tétrathionate accumulés par les cultures de *H. neapolitanus* réalisées dans le milieu III. B - Évolution de la quantité d'ions sulfate produits, d'ions thiosulfate consommés et de soufre élémentaire accumulés par les cultures de *A. thiooxidans* réalisées dans le milieu III.

Quelle que soit la souche bactérienne considérée, tout le thiosulfate initial a été totalement consommé au bout de 4 jours pour les cultures de *H. neapolitanus* et de 11 jours pour les cultures de *A. thiooxidans* (Figures 43 A et B, Tableau 17). Ainsi, la non-consommation de la totalité du thiosulfate initial contenue dans le milieu à la fin de la croissance (21 jours) n'est pas responsable de la

variation observée entre la concentration d'acide sulfurique attendue (0,08 mole) et celle déterminée par le biais du pH (Tableaux 16 et 17).

	<i>H. neapolitanus</i>	<i>A. thiooxidans</i>
Sulfate/H ⁺ attendu (mole)	8,06E-02	8,06E-02
Thiosulfate non consommé (mole)	0	0
Tétrathionate accumulé (mole)	8,36E-03	0
Soufre élémentaire accumulé (mole)	0	0
Sulfate/H ⁺ généré (mole)	4,71E-02	8,04E-02
Production de sulfate/H ⁺ %	58	100
H ⁺ calculé à partir du pH (mole)	1,24E-03	2,10E-02
ΔH^+ [H ⁺ générée - H ⁺ calculée] ou H ⁺ utilisé pour neutraliser le milieu (mole)	4,59E-02	5,94E-02

Tableau 17 : Quantités de composés soufrés initiales, produites et accumulées au cours des croissances de *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* dans le milieu III. Quantité d'ions hydronium utilisés pour neutraliser le milieu III.

Après 21 jours de croissance, l'analyse chromatographique des cultures de *H. neapolitanus* indique une production de 4,6 g.L⁻¹ de SO₄²⁻ (0,05 mole.L⁻¹) dans le milieu III (Figure 43 A). Cela représente une production d'ions sulfate de seulement 58% alors que tout le thiosulfate initial a été consommé (Figure 43 A, tableau 17). Ces résultats sont cohérents avec la formation et l'accumulation d'intermédiaires soufrés, tel que le tétrathionate, pendant la croissance de *H. neapolitanus* avec le thiosulfate comme source de soufre [Hempfling and Vishniac, 1967 ; Parker and Prisk, 1953]. Par conséquent, la quantité de tétrathionate formée et accumulée au cours de la croissance de *H. neapolitanus* dans le milieu III a été estimée (Figure 43 A, tableau 17) à partir du bilan de matière suivant ;

$$[\text{Composés soufrés}_{\text{totaux}}] = 2x[\text{Thiosulfates}_{\text{initial}}] = [\text{Composés soufrés}_{\text{en solution}}] + [\text{Composés soufrés}_{\text{solides}}]$$

Or, d'après l'équation 36 :

$$[\text{Composés soufrés}_{\text{en solution}}] = 2x[\text{Thiosulfate}_{\text{en solution}}] + [\text{Sulfate}_{\text{en solution}}] + 4x[\text{Tétrathionate}_{\text{en solution}}]$$

Et, $[\text{Composés soufrés}_{\text{solides}}] = 0$, car *H. neapolitanus* ne forme pas le S⁰ au cours de sa croissance

$$\text{Donc, } [\text{Tétrathionate}_{\text{en solution}}] = 1/4(2x[\text{Thiosulfates}_{\text{initiaux}}] - 2x[\text{Thiosulfate}_{\text{en solution}}] - [\text{Sulfate}_{\text{en solution}}])$$

Ainsi, le suivi de l'évolution des tétrathionates au cours de la croissance de *H. neapolitanus* dans le milieu III a montré que ce dernier est très rapidement accumulé dans le milieu réactionnel dès la fin de la consommation du thiosulfate (Figure 43 A). De plus, la quantité de tétrathionate ne semble pas

évaluée au cours du temps, elle varie de $9,73\text{E-}03$ mole à 3 jours à $8,36\text{E-}03$ mole à 21 jours (Figure 43 A) ; ce qui est cohérent avec les résultats de la littérature indiquant que le tétrathionate est difficilement utilisé par *H. neapolitanus*.

Toutefois, bien qu'il y ait accumulation de tétrathionate, ce dernier n'est qu'en partie responsable de la variation observée entre la concentration d'acide sulfurique attendue ($0,08$ mole) et celle déterminée par le biais du pH (Tableau 16). En effet, la formation de sulfates induit une production de $0,05$ mole d'ions hydronium qui devrait conduire à un pH de 1,3 pour la suspension bactérienne. Or, après 21 jours de culture, une valeur de pH de 2,9 est mesurée.

Ainsi, à la fin de la croissance de *H. neapolitanus* dans le milieu III, $4,59\text{E-}02$ mole d'ions hydronium a été utilisé pour neutraliser le milieu réactionnel. D'où la variation observée entre la concentration d'acide sulfurique attendue et celle mesurée en utilisant le pH.

L'analyse chromatographique des cultures de *A. thiooxidans* après 21 jours de croissance indique une production de $7,8 \text{ g.L}^{-1}$ de SO_4^{2-} ($0,08 \text{ mole.L}^{-1}$) dans le milieu III (Figure 43 B) ; ce qui correspond à une production d'ions sulfate de 100%. Ainsi, dans le cas de *A. thiooxidans*, la production bactérienne d'ions sulfate est maximale. Cette différence est liée au métabolisme du thiosulfate de *A. thiooxidans*, qui dans ce cas est réalisé sans accumulation d'intermédiaires soufrés [Hempfling and Vishniac, 1967 ; Parker and Prisk, 1953]. En effet, bien qu'il y ait précipitation de soufre élémentaire (S^0) au cours des premiers jours de croissance de *A. thiooxidans* en présence du thiosulfate, ce dernier disparaît totalement en fin de croissance [Hempfling and Vishniac, 1967 ; Parker and Prisk, 1953]. Ainsi, la quantité de soufre élémentaire formé au cours de la croissance de *A. thiooxidans* dans le milieu III a pu être calculée en considérant le bilan de matière suivant (Figure 43 B, tableau 17) ;

$$[\text{Composés soufrés}_{\text{totaux}}] = 2x[\text{Thiosulfates}_{\text{initial}}] = [\text{Composés soufrés}_{\text{en solution}}] + [\text{Composés soufrés}_{\text{solides}}]$$

Or, d'après l'équation 37 :

$$[\text{Composés soufrés}_{\text{en solution}}] = 2x[\text{Thiosulfate}_{\text{en solution}}] + [\text{Sulfate}_{\text{en solution}}]$$

Et, $[\text{Composés soufrés}_{\text{solides}}] = [\text{Soufre}_{\text{élémentaire}}]$, car *A. thiooxidans* forme le S^0

$$\text{Donc, } [\text{Soufre}_{\text{élémentaire}}] = 2x[\text{Thiosulfates}_{\text{initial}}] - 2x[\text{Thiosulfate}_{\text{en solution}}] - [\text{Sulfate}_{\text{en solution}}]$$

Ainsi, le suivi de l'évolution du soufre élémentaire au cours de la croissance de *A. thiooxidans* dans le milieu III a montré que ce dernier est très brièvement accumulé dans le milieu réactionnel vers la fin de la consommation du thiosulfate (7 jours) avant d'être rapidement transformé en acide sulfurique. A la fin de la croissance de *A. thiooxidans* dans le milieu III, $5,94\text{E-}02$ mole d'ions hydronium a été utilisée pour neutraliser le milieu réactionnel. D'où la variation observée entre la concentration d'acide sulfurique attendue et celle mesurée par le biais du pH (Tableau 17).

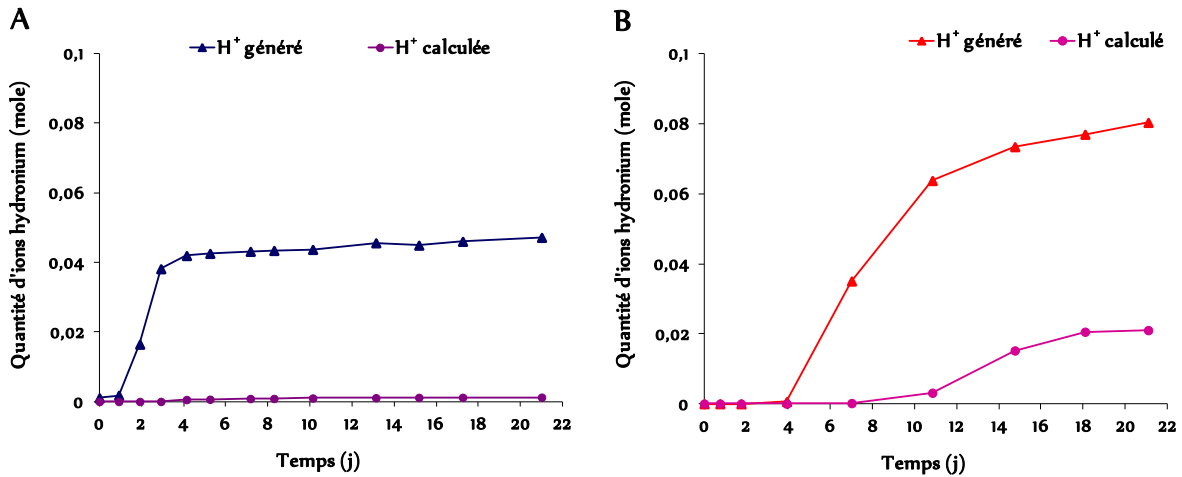


Figure 44 : Évolution des quantités d'ions hydronium générés par les bactéries ou calculés à partir du pH pour des cultures de *H. neapolitanus* (A) ou de *A. thiooxidans* (B) réalisées dans le milieu III.

En conclusion, quelle que soit la souche bactérienne considérée, *H. neapolitanus* ou *A. thiooxidans*, il est indispensable de déterminer la quantité d'acide sulfurique produite par les bactéries en se basant sur la quantité de sulfates en solution au lieu de la calculer à partir de la valeur de pH. En effet, cette dernière induit un biais d'évaluation plus ou moins important en fonction de la souche bactérienne étudiée (Figures 44 A et B).

Cependant, il est important à ce niveau de rappeler qu'au cours de l'essai de biodétérioration, les ions sulfate produits par les bactéries peuvent réagir avec les hydrates de la pâte de ciment du mortier et précipiter sous forme de gypse et/ou d'ettringite. Cette quantité de sulfates a été appelée « sulfate précipité ». Ainsi, au cours de l'essai de biodétérioration, la quantité d'ions sulfate mesurée en solution peut être différente de la quantité générée par les bactéries ; les ions sulfate correspondent à ceux n'ayant pas réagi avec le mortier. Il est toutefois possible de déterminer la proportion d'éléments soufrés précipités par la différence entre la quantité d'éléments soufrés en solution mesurée par ICP et la quantité totale initiale d'éléments soufrés (connue).

$$[\text{Composés soufrés}_{\text{totaux}}] = 2x[\text{Thiosulfate}_{\text{initial}}] = [\text{Composés soufrés}_{\text{en solution}}] + [\text{Composés soufrés}_{\text{solides}}]$$

Cependant en fonction de la souche de BSO :

H. neapolitanus

$$[\text{Composés soufrés}_{\text{solides}}] = [\text{Sulfate}_{\text{précipité dans mortier}}]$$

$$[\text{Composés soufrés}_{\text{en solution}}] = 2x[\text{Thiosulfate}_{\text{en solution}}] + [\text{Sulfate}_{\text{en solution}}] + 4x[\text{Tétrathionate}_{\text{en solution}}] \\ = [\text{Soufre}_{\text{mesuré/ICP}}]$$

$$\text{Ainsi, } [\text{Tétrathionate}_{\text{en solution}}] = 1/4([\text{Soufre}_{\text{mesuré/ICP}}] - 2x[\text{Thiosulfate}_{\text{en solution}}] - [\text{Sulfate}_{\text{en solution}}])$$

$$\text{Et, } [\text{Sulfate}_{\text{précipité dans mortier}}] = 2x[\text{Thiosulfate}_{\text{initial}}] - [\text{Soufre}_{\text{mesuré/ICP}}]$$

$$\text{Par ailleurs, } [\text{H}^+_{\text{généré}}] = [\text{Sulfate}_{\text{en solution}}] + [\text{Sulfate}_{\text{précipité dans mortier}}]$$

Donc, $[H^+_{\text{généré}}] = 2x[\text{Thiosulfate}_{\text{initial}}] - [\text{Soufre}_{\text{mesuré/ICP}}] + [\text{Sulfate}_{\text{en solution}}]$

A. thiooxidans

$[\text{Composés soufrés}_{\text{solides}}] = [\text{Soufre}_{\text{élémentaire}}] + [\text{Sulfate}_{\text{précipité dans mortier}}]$

$[\text{Composés soufrés}_{\text{en solution}}] = 2x[\text{Thiosulfate}_{\text{en solution}}] + [\text{Sulfate}_{\text{en solution}}] = [\text{Soufre}_{\text{mesuré/ICP}}]$

Ainsi, $[\text{Sulfate}_{\text{précipité dans mortier}}] = 2x[\text{Thiosulfate}_{\text{initial}}] - [\text{Soufre}_{\text{mesuré/ICP}}] - [\text{Soufre}_{\text{élémentaire}}]$

La quantité de soufre élémentaire, précipitée au cours de l'essai peut être déterminée par pesée. Ainsi, à la fin de l'essai de biodétérioration, le milieu réactionnel est filtré, séché et pesé.

Par ailleurs, $[H^+_{\text{généré}}] = [\text{Sulfate}_{\text{en solution}}] + [\text{Sulfate}_{\text{précipité dans mortier}}]$

Donc, $[H^+_{\text{généré}}] = 2x[\text{Thiosulfate}_{\text{initial}}] - [\text{Soufre}_{\text{mesuré/ICP}}] - [\text{Soufre}_{\text{élémentaire}}] + [\text{Sulfate}_{\text{en solution}}]$

D'autre part, au cours de l'essai de biodétérioration, les ions phosphate contenus dans le milieu réactionnel peuvent réagir avec certains éléments relargués en solution par les mortiers, tels que l'aluminium, le potassium ainsi que le calcium et former de la taranakite de potassium, de la variscite et/ou de l'hydroxyapatite. D'où l'importance de mesurer également l'évolution de la concentration en ions phosphate au cours de l'essai de biodétérioration.

2.5. Détermination des pH maxima de croissance et de la zone de jonction entre *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans*

L'activité bactérienne, donc la production d'acide sulfurique, des BSO est fonction du pH initial du milieu de culture (Lee *et al.*, 2000). Ainsi, il s'est révélé important de définir la gamme de pH dans laquelle *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* présentent une activité bactérienne plus importante, afin de maximiser l'attaque à l'acide sulfurique en produisant de plus grandes quantités d'acide sulfurique. Par ailleurs, les croissances des bactéries à différents pH permettent de déterminer la zone optimale de jonction de pH des deux types de BSO. La connaissance de cette zone est à la base de la mise en place de la succession entre des BSON et les BSOA au cours de l'essai de biodétérioration. Les milieux appropriés ont été préparés à différents pH initiaux (six différents pH initiaux : 5 ; 5,5 ; 6,5 ; 7,5 ; 8 ; 8,5 pour les BSON et quatre différents pH initiaux 3,5 ; 4,5 ; 5 ; 5,5 pour la BSOA). Les pH initiaux des milieux ont été ajustés grâce à une solution concentrée d'hydroxyde de sodium (C = 3N) ou d'acide chlorhydrique (C = 3 N). Ces derniers ont ensuite été stérilisés à l'autoclave pendant 15 min à 120°C.

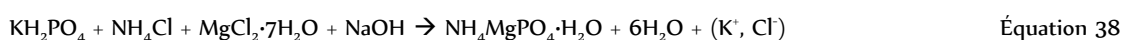
2.5.1. Croissance de *H. neapolitanus* à différents pH initiaux

Au cours de la préparation des milieux, un précipité blanc est apparu pour les valeurs de pH supérieures à 6,5. Ce dernier est de plus en plus important avec l'augmentation du pH (Tableau 18).

	pH 5	pH 6	pH 6,5	pH 7	pH 7,5	pH 8	pH 8,5	pH 9
État du milieu III après 10 min	-	-	-	+	+	+	+	+
État du milieu III après 24 h	-	-	-	+	+	+	+	+

Tableau 18 : Évolution du milieu III en fonction du pH, (-) absence de précipité blanc, (+) présence de précipité blanc.

Pour déterminer l'origine de la précipitation, les différents composés du milieu III ont été préparés individuellement et en combinaison à différents pH. Aucun composé pris individuellement ne précipite aux pH basiques, par contre, la combinaison entre le dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4), le chlorure d'ammonium (NH_4Cl) et le chlorure de magnésium ($\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) précipite dès que le pH est supérieur à 6,5. L'analyse de ce précipité par DRX a permis d'identifier du dittmarite ($\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (Figure 45) qui se forme selon l'équation suivante :



Cette précipitation peut uniquement réduire de façon temporaire la disponibilité de ces éléments en début de croissance bactérienne. En effet durant la croissance, quand le milieu s'acidifie, le dittmarite, du fait de sa rapide dissolution en milieu acide ($\text{pH} < 7$), est de nouveau disponible en solution [Massey *et al.*, 2009 ; Soudee *et al.*, 2002]. De plus, la consommation par les bactéries d'éléments disponibles non précipités dans le milieu favorise la dissolution du dittmarite à sa valeur d'équilibre. Ainsi, malgré la présence de ce précipité blanc, la croissance de *H. neapolitanus* a tout de même été suivie dans le milieu III à $\text{pH} > 6,5$. Les paramètres de croissance de *H. neapolitanus* ont été déterminés dans le milieu III à huit différents pH initiaux: 4,5 ; 5 ; 5,5 ; 6,5 ; 7,5 ; 8 ; 8,5 ; 9.

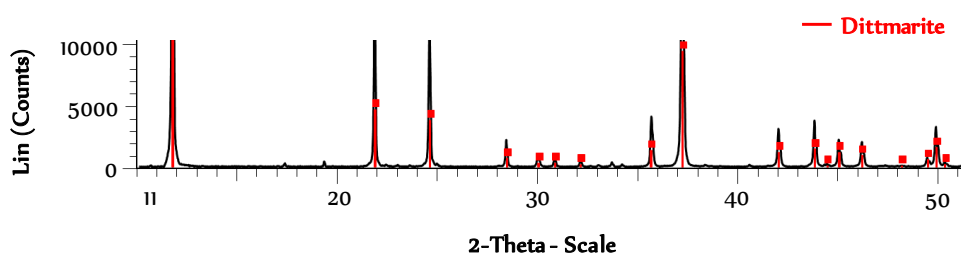


Figure 45 : Analyse DRX du précipité formé dans le milieu III à $\text{pH} > 6,5$.

Les résultats montrent que la croissance bactérienne de *H. neapolitanus* est inhibée dans les milieux ayant des pH initiaux inférieurs à 5,5 et supérieurs à 8 (Figure 46). Le pH des cultures de *H. neapolitanus* diminue de 5,5 à environ 3,4 en 6 jours ; de 6,5 à environ 3,4 en 3 jours; de 7,5 à environ 3,1 en 6 jours et de 8 à environ 3,2 en 13 jours (Figure 46 A). L'évolution du pH indique que l'augmentation (pH 7,5 ; pH 8) ou la diminution (pH 5,5) du pH initial conduit à un ralentissement de la croissance bactérienne. L'analyse des taux de croissance indique la même tendance (Figure 47, tableau 19). En effet, le taux de croissance qui est de $3,9 \text{ j}^{-1}$ à pH 6,5 baisse à $1,7 \text{ j}^{-1}$ à pH 5,5 ; à $1,5 \text{ j}^{-1}$ à pH 7,5 et à $1,3 \text{ j}^{-1}$ à pH 8 (Figure 47 A, tableau 19). Toutefois, quel que soit le pH initial (sauf pour les valeurs de pH pour lesquelles la croissance est inhibée) le nombre de bactéries actives reste supérieur ou proche de 10^9 bactéries/mL même après 21 jours de croissance (Figure 46 B, tableau 19).

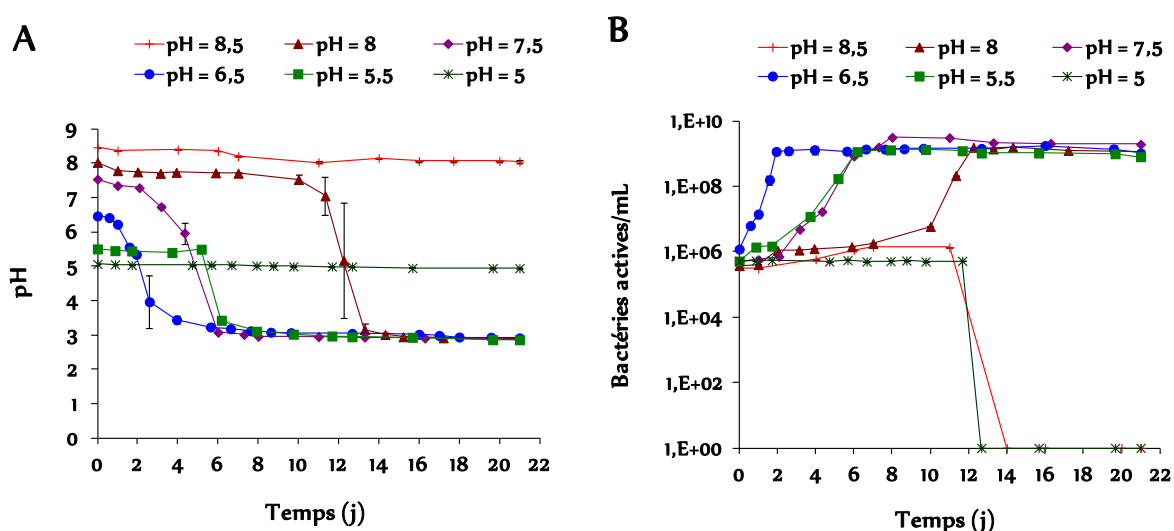


Figure 46 : A - Évolution du pH des cultures de *H. neapolitanus* et B - Évolution du nombre de bactéries actives des cultures de *H. neapolitanus* réalisées dans le milieu III à différents pH initiaux. Les barres d'erreur représentent la limite de confiance à 95% des triplicatas.

Après 21 jours de croissance, l'analyse chromatographique des cultures de *H. neapolitanus* révèle une augmentation proportionnelle de la production d'acide sulfurique en fonction du pH initial. En effet, les cultures de *H. neapolitanus* aux pH initiaux de 5,5 ; 6,5 ; 7,5 et 8 indiquent une production de SO_4^{2-} de respectivement 0,030 mole (correspondant à une productivité de 36%) ; 0,047 mole (correspondant à une productivité de 58 %) ; 0,053 mole (correspondant à une productivité de 65 %) et 0,061 mole (correspondant à une productivité de 76 %), (Figures 47 A et B, tableaux 19 et 20). Ainsi, l'augmentation du pH du milieu réactionnel semble avoir un effet activateur sur l'activité bactérienne de *H. neapolitanus*, donc sur la production d'acide sulfurique.

Par ailleurs, la quantité d'ions hydronium utilisée pour neutraliser le milieu est également proportionnelle à l'augmentation du pH initial (Tableau 20). L'accumulation du tétrathionate, par contre, diminue quand le pH initial augmente (Figure 47 B, tableau 20).

	Phase de latence		Phase exponentielle			Phase stationnaire	Etat de la culture après 21 jours de croissance		
	Durée (j)	Durée (j)	pH final	Bactéries actives/mL	Taux de croissance(j^{-1})	Durée (j)	pH final	Production de H ⁺ (%)	Bactéries actives/mL
<i>H. neapolitanus</i>									
pH = 4,5 ou 5	Absence de croissance après 12 jours								
pH = 5,5	2	5	3,3	1,1 10 ⁺⁹	1,7	> 15	2,9	36	1,0 10 ⁺⁹
pH opt = 6,5	0	2	5,6	1,3 10 ⁺⁹	3,9	> 15	2,9	58	1,8 10 ⁺⁹
pH = 7,5	2	5	3,1	1,6 10 ⁺⁹	1,5	> 15	2,9	65	2,5 10 ⁺⁹
pH = 8	7	5	5,2	1,6 10 ⁺⁹	1,3	> 10	2,9	76	1,3 10 ⁺⁹
pH = 8,5 ou 9	Absence de croissance après 12 jours								
<i>A. thiooxidans</i>									
pH = 3,5	1	6	2,6	1,1 10 ⁺⁹	1,6	> 10	1,6	98	1,3 10 ⁺⁹
pH opt = 4,5	2	6	2,0	1,0 10 ⁺⁹	1,3	> 10	1,5	100	1,4 10 ⁺⁹
pH = 5	4	8	2,7	1,1 10 ⁺⁹	1	> 10	1,7	95	1,5 10 ⁺⁹
pH = 5,5	Absence de croissance après 14 jours								

Tableau 19 : Paramètres de croissance des cultures de *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* dans le milieu III à différents pH initiaux.

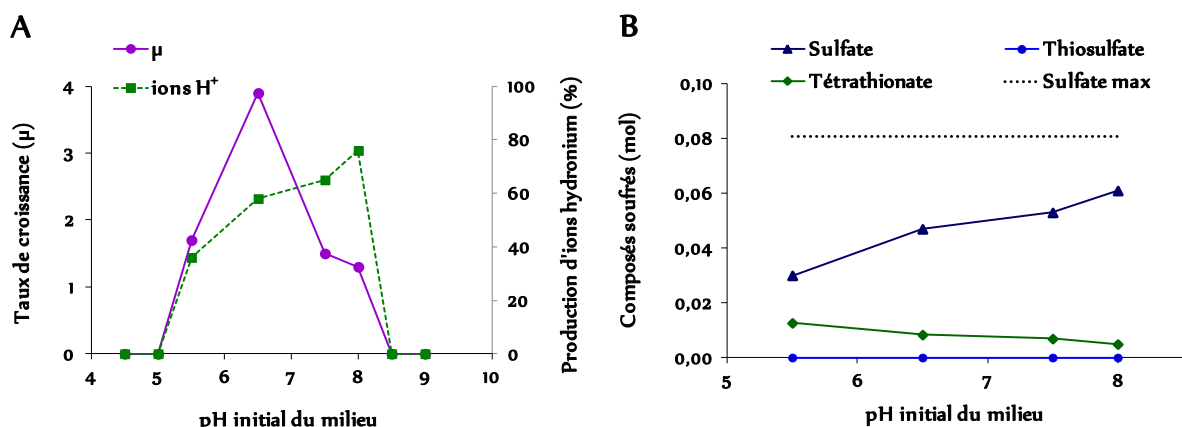


Figure 47 : A - Évolution du taux de croissance et de la production d'ions hydronium et B - Évolution de la quantité d'ions sulfate produits, d'ions thiosulfate consommés et d'ions tétrathionate accumulés par les cultures de *H. neapolitanus* en fonction du pH initial du milieu de culture.

	5,5	6,5	7,5	8
Thiosulfate non consommé (mol)	0	0	0	0
Tétrathionate accumulé (mol)	1,27E-02	8,36E-03	6,90E-03	4,90E-03
Soufre élémentaire accumulé (mol)	0	0	0	0
Sulfate/H ⁺ généré (mol)	3,00E-02	4,70E-02	5,30E-02	6,10E-02
Production de sulfate/H ⁺ %	36	58	65	76
H ⁺ calculé à partir du pH (mol)	1,26E-03	1,26E-03	1,26E-03	1,26E-03
ΔH^+ [H ⁺ générée - H ⁺ calculée] ou H ⁺ utilisé pour neutraliser le milieu (mol)	2,87E-02	4,57E-02	5,17E-02	5,97E-02

Tableau 20 : Quantités de composés soufrés produits, accumulés et quantité d'ions hydronium utilisés pour neutraliser le milieu au cours des croissances de *H. neapolitanus* dans le milieu III à différents pH initiaux.

Bien que la production de sulfates soit plus grande à des pH initiaux de 7,5 ou 8, le choix du pH initial de croissance de *H. neapolitanus* s'est porté sur un pH de 6,5 qui permet d'obtenir la croissance la plus rapide. D'autre part, il y aura un effet tampon en présence de mortier qui peut conduire à une production différente de sulfates des essais de croissance.

2.5.2. Croissance de *A. thiooxidans* à différents pH initiaux

La croissance bactérienne de *A. thiooxidans* est inhibée dans les milieux ayant des pH initiaux supérieurs à 5 (Figure 48). Le pH des cultures de *A. thiooxidans* a diminué de 3,5 à environ 2,6 en 7 jours ; de 4,5 à environ 2,0 en 8 jours et de 5 à environ 2,7 en 12 (Figure 48 A). Les taux de croissance les plus élevés ont été observés pour les valeurs de pH initiaux de 3,5 et 4,5 (Figure 48 B,

tableau 19). En effet, le taux de croissance est de $1,6 \text{ j}^{-1}$ à pH 3,5 ; de $1,3 \text{ j}^{-1}$ à pH 4,5 et de $0,9 \text{ j}^{-1}$ à pH 5 (Figure 49 B, tableau 19). Toutefois, quelque soit le pH initial (sauf pour la valeur de pH > 5 pour laquelle la croissance est inhibée), le nombre de bactéries actives demeure supérieur ou proche de 10^{+9} bactéries actives/mL même après 21 jours de croissance (Tableau 19).

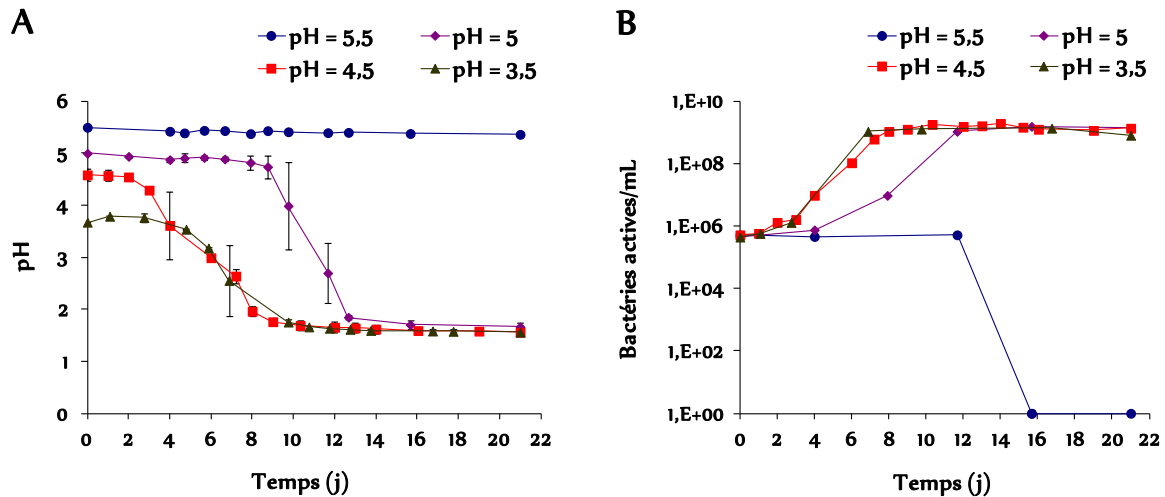


Figure 48 : A - Évolution du pH des cultures de *A. thiooxidans* et B - Évolution du nombre de bactéries actives des cultures de *A. thiooxidans* réalisées dans le milieu III à différents pH initiaux. Les barres d'erreur représentent la limite de confiance à 95% des triplicatas.

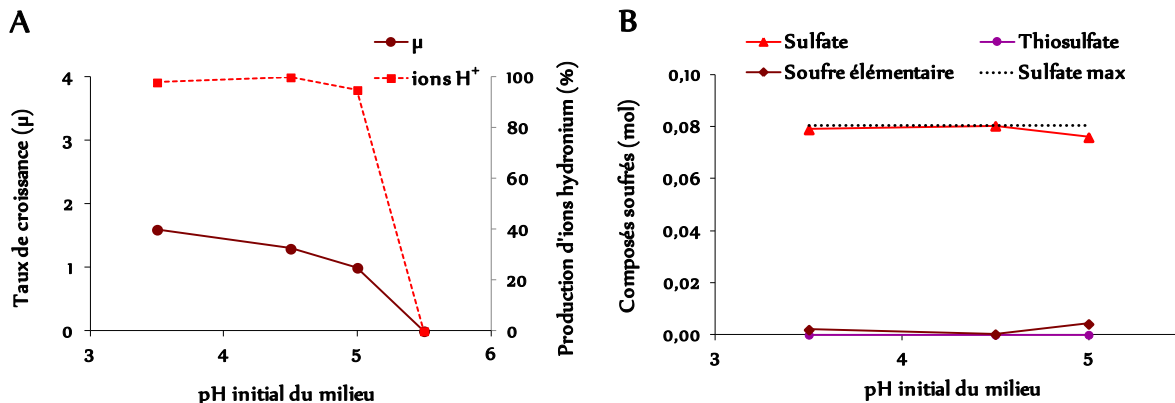


Figure 49 : A - Évolution du taux de croissance et de la production d'ions hydronium et B - Évolution de la quantité d'ions sulfate produite, d'ions thiosulfate consommée et de soufre élémentaire accumulé par les cultures de *A. thiooxidans* en fonction du pH initial du milieu de culture.

Après 21 jours de croissance, l'analyse chromatographique des cultures de *A. thiooxidans* montre que la production de sulfates est maximale pour un pH initial de 4,5 (0,080 mole correspondant à une production de 100%). Pour les valeurs de pH de 3,5 et 5, une production de sulfates légèrement inférieure est mesurée, respectivement 0,079 mole (Productivité de 98%) et 0,076 mole (Productivité de 95%) (Figures 49 A et B, tableaux 19 et 21).

Ainsi, contrairement à la BSO neutrophile *H. neapolitanus*, l'augmentation du pH initial du milieu de culture n'a pas d'effet marqué sur l'activité de *A. thiooxidans* et donc sur la production d'acide sulfurique jusqu'à un pH de 5.

Par ailleurs, la quantité d'ions hydronium utilisée pour neutraliser le milieu est moins importante à pH initial de 4,5 (Tableau 21). On peut déduire par le calcul qu'une faible quantité de soufre élémentaire est présente dans les cultures ayant des pH initiaux de 3,5 et de 5 (Figure 49 B, tableau 21).

	3,5	4,5	5
Thiosulfate non-consommé (mol)	0	0	0
Tétrathionate accumulé (mol)	0	0	0
Soufre élémentaire accumulé (mol)	1,93E-03	0	4,14E-03
Sulfate/H ⁺ généré (mol)	7,90E-02	8,04E-02	7,60E-02
Production de sulfate/H ⁺ %	98	100	95
H ⁺ calculé à partir du pH (mol)	2,51E-02	3,16E-02	2,00E-02
$\Delta H^+ [H^+ \text{générée} - H^+ \text{calculée}]$ ou H ⁺ utilisé	5,39E-02	4,88E-02	5,60E-02

Tableau 21 : Quantités de composés soufrés produits, accumulés et quantité d'ions hydronium utilisés pour neutraliser le milieu au cours des croissances de *A. thiooxidans* dans le milieu III à différents pH initiaux.

Ces résultats semblent indiquer que le pH optimal de croissance de *A. thiooxidans* est compris entre 3,5 et 4,5. Cependant, bien que le taux de croissance ait été plus important à un pH de 3,5, le choix du pH initial de croissance de *A. thiooxidans* s'est porté sur un pH de 4,5. En effet, ce dernier permet une production maximale d'acide sulfurique (Tableau 21).

2.6. Conclusions de l'étude sur les souches bactériennes et le milieu d'étude

La réalisation d'un essai de biodétérioration mettant en jeu une succession de bactéries neutrophiles/acidophile nécessite la prise en compte de plusieurs conditions. La souche neutrophile doit avoir une croissance importante et diminuer suffisamment rapidement le pH en dessous de 5, afin d'avoir une zone de recouvrement avec *A. thiooxidans*. Le milieu d'étude doit permettre de conserver un nombre maximum de bactéries actives et favoriser la production d'une grande quantité d'acide sulfurique.

Les croissances des souches neutrophiles dans le milieu II, utilisé par Hajj Chehade (2010), ont montré que *H. neapolitanus* a un taux de croissance significatif égal à $2,3 \text{ j}^{-1}$ et surtout, il diminue très rapidement le pH en dessous de 4. En effet, *H. neapolitanus* au cours de sa croissance diminue le

pH initial de 6,5 à 3,4 en à peine 4 jours (Figure 41 A), offrant l'existence d'une zone de recouvrement avec *A. thiooxidans*.

Ces résultats sont en partie conformes à ceux de Smith *et al.* (1980) et Parker et Prisk (1953), qui ont également réalisé des croissances des BSO dans des conditions similaires. Smith *et al.* (1980) avaient obtenu un taux de croissance de $1,9 \text{ j}^{-1}$ pour des cultures de BSO en milieu liquide contenant du thiosulfate comme source de soufre. Parker et Prisk (1953) avaient obtenu une diminution de pH de 6,6 à 3,3 en 4 jours pour une culture de *H. neapolitanus* en milieu liquide contenant du thiosulfate. Par contre, le nombre de bactéries actives avait très rapidement diminué dans le milieu jusqu'à ne plus être détectable après 10 jours de croissance. Parker et Prisk (1953) avaient suggéré que cette entrée rapide en phase de déclin était due à l'intolérance de *H. neapolitanus* à des valeurs de pH inférieur à 3,0. Des résultats similaires à ceux de Parker et Prisk (1953) ont été obtenus dans cette étude, au cours de la croissance des BSO dans le milieu II (Figure 41). En effet, les bactéries étaient déjà en phase de déclin après 10 jours de croissance dans le milieu II.

Dans notre étude, des croissances bactériennes ont également été réalisées dans un milieu plus riche en nutriments, appelé milieu III, dans lequel, les quantités des composants du milieu II ont été doublées. Les résultats obtenus ont démontré que quelle que soit la souche considérée *H. neapolitanus* ou *A. thiooxidans*, le nombre de bactéries actives dans le milieu III demeurait supérieur à 10^{+9} bactéries actives/mL, même après 21 jours de croissance. Ainsi, contrairement aux affirmations de Parker et Prisk (1953), l'entrée rapide des cultures bactériennes en phase de déclin dans le milieu II n'est pas liée à l'intolérance de *H. neapolitanus* à des valeurs de pH inférieures à 3,0 mais plutôt à l'épuisement de certains nutriments du milieu.

Les résultats de l'analyse chromatographique sont en accord avec ceux de Lee *et al.*, (2000) et Parker et Prisk (1953). Ces auteurs ont montré qu'au cours de la croissance de *A. thiooxidans* dans un milieu contenant du thiosulfate concentré à 1% (poids/volume) (milieu III), ce dernier est complètement oxydé et converti en acide sulfurique. Parker et Prisk (1953) ont également montré qu'au cours de la croissance de *H. neapolitanus* dans un milieu contenant du thiosulfate, ce dernier est converti en acide sulfurique et en tétrathionate, qui est un composé soufré intermédiaire. Le tétrathionate est accumulé dans le milieu de culture et n'est pas utilisé par les bactéries par la suite si le pH reste voisin de 3. Ces résultats sont conformes à ceux retrouvés au cours de notre étude. En effet, au cours de la croissance de *A. thiooxidans* à pH optimal de croissance (4,5), tout le thiosulfate est transformé en acide sulfurique (Figure 49, tableaux 19 et 21). Par contre, une accumulation de tétrathionate est mesurée dans les cultures de *H. neapolitanus* ; d'où la faible production d'acide sulfurique, 59% (Figure 47, tableaux 19 et 20).

Par ailleurs, les croissances des deux souches bactériennes à différents pH initiaux a permis de déterminer les pH initiaux optimaux de croissance de *H. neapolitanus* et de *A. thiooxidans*,

respectivement de 6,5 et 4,5. Elle a également permis de situer la zone de pH initial de croissance de *H. neapolitanus* entre 8 et 5,5 et de celle de *A. thiooxidans* entre 5 et 3,5. La zone de jonction de pH entre *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* est par conséquent comprise entre 5,5 et 5.

Au cours de l'essai de biodétérioration, il y aura donc une compétition entre la diminution du pH induite par les BSO et la dissolution du mortier qui va tendre à faire remonter le pH. Ainsi, le pH de la solution lors de l'essai variera en fonction de l'activité bactérienne et de l'avancement de l'attaque du mortier. Au début de l'essai, le mortier moins altéré sera certainement susceptible de plus s'opposer à la diminution du pH.

3. Description du protocole de l'essai de biodétérioration et nomenclature des essais réalisés

3.1. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental de l'essai de biodétérioration est relativement simple et sensiblement semblable à celui utilisé pour la pré-lixiviation des échantillons de mortier. Ceci permet d'avoir plusieurs dispositifs en même temps puisque chaque échantillon nécessite son propre dispositif. Ce dernier est composé (Figure 50) :

- d'un bocal en verre borosilicaté de 2 litres stérilisé (15 minutes à 120 °C) recouvert d'un couvercle constitué d'une ouverture obstruée par une éponge permettant les échanges d'air entre le milieu réactionnel et l'air ambiant,
- du milieu de culture III stérilisé dont le pH initial est ajusté à 6,5 ou 4,5 en fonction de la souche à faire croître. Un litre de milieu est mis dans le bocal et ce dernier estensemencé par une aliquote de *H. neapolitanus* ou *A. thiooxidans* provenant d'une croissance en fin de phase exponentielle : 10 mL d'une culture bactérienne contenant plus de 10^{+9} bactéries actives/mL, soit un nombre initial de 10^{-7} bactéries actives/mL. Ce milieu initial est appelé milieu immature,
- d'un échantillon de mortier OPC ou CAC pré-lixivié (voir 1^{er} paragraphe de ce chapitre) suspendu dans le réacteur à l'aide d'un fil de nylon stérilisé passant par l'anneau inséré dans le mortier,
- d'un barreau magnétique stérilisé,
- d'un agitateur magnétique agitant en continu le milieu réactionnel.

Pour la suite, ce dispositif a été appelé réacteur. Le réacteur a été placé dans une chambre à 30 ± 1 °C.

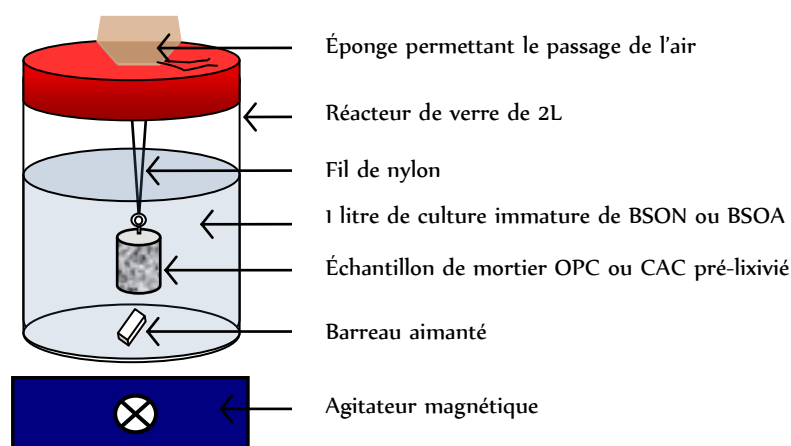


Figure 50: Dispositif expérimental de l'essai de biodétérioration des mortiers OPC ou CAC.

3.2. Protocole expérimental

La figure 51 schématise la procédure de la mise en œuvre de l'essai de biodétérioration et des opérations initiales avant le lancement du réacteur. Seule la partie relative à l'essai de biodétérioration est décrite ci-après.

La mesure du pH du milieu est un paramètre déterminant afin de suivre l'évolution de l'essai. Ainsi toutes les 24 heures, trois mL de milieu réactionnel ont été prélevés, afin de déterminer l'évolution du pH à l'aide d'une électrode de pH SenTix 41 (WTW, Allemagne). Chaque semaine, l'activité bactérienne est évaluée ; un prélèvement de 20 mL permet de doser les concentrations en ions sulfate, phosphate et thiosulfate par chromatographie ionique (DIONEX ICS-3000, USA). Ce prélèvement permet également de réaliser un dénombrement bactérien par microscopie à épifluorescence après coloration à l'acridine orange. A la fin de chaque cycle de biodétérioration, 40 mL du milieu réactionnel ont été prélevés afin de réaliser en plus des dosages précédents, le dosage par ICP-AES (VARIAN 720 ES) des éléments Ca, Si, Al et Fe relargués en solution par les mortiers. Pour chaque cycle de biodétérioration, la masse du réacteur a été déterminée avant et après chaque prélèvement afin d'évaluer la quantité d'eau qui s'évapore au cours de temps. Cette quantité a été intégrée dans le calcul des concentrations des ions et des métaux en solution. Pour certains essais, des précipités ont été observés dans les milieux réactionnels et ceux-ci ont été filtrés afin de récupérer les précipités. Ces derniers une fois séchés ont été analysés par DRX (Siemens de type BRUKER D8) et/ou par MEB/EDS (FEG-HITACHI S-4300SE/N ; THERMO SCIENTIFIC ULTRADRY EDS).

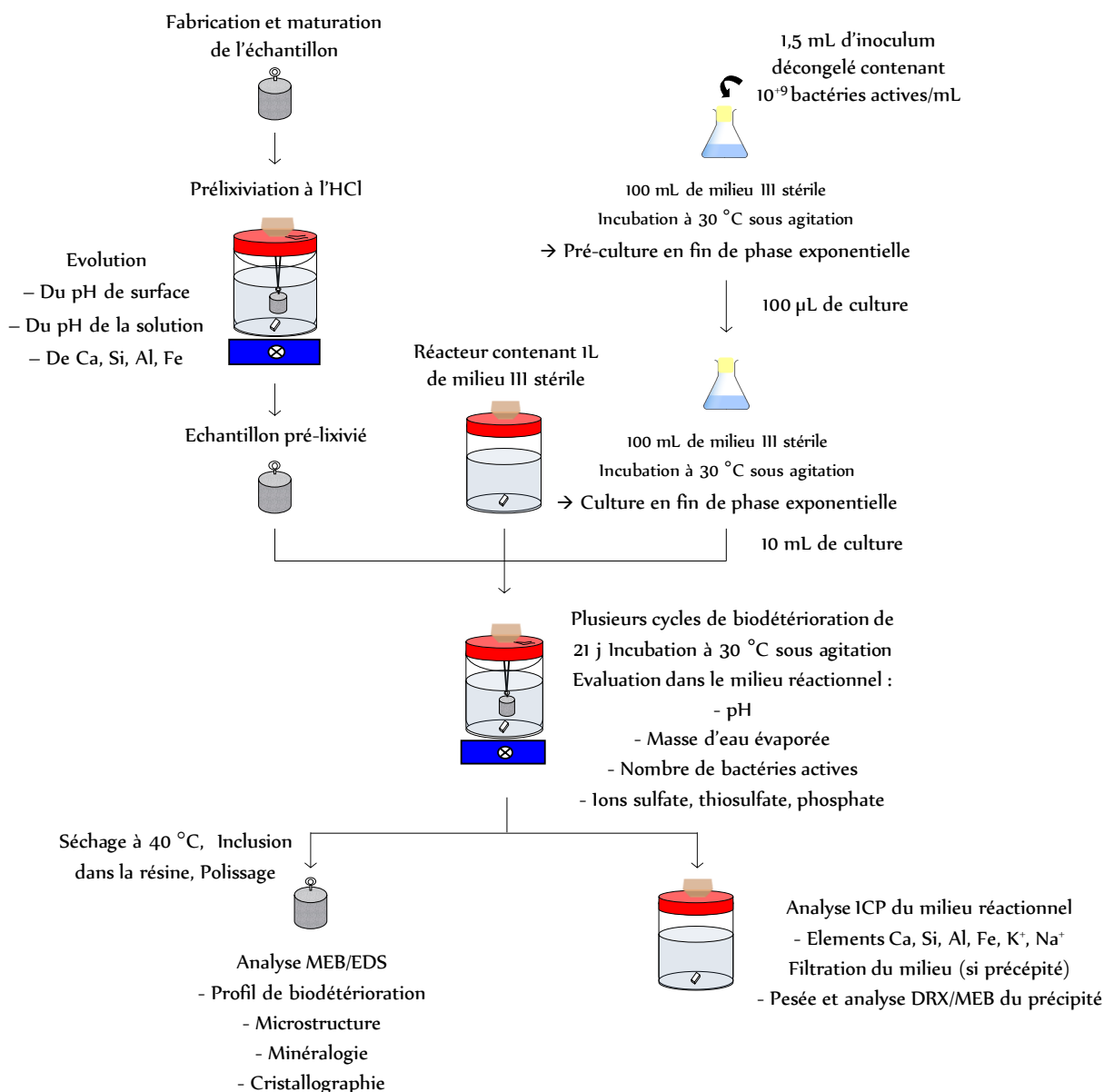


Figure 51 : Schématisation du protocole expérimental utilisé pour l'essai de biodétérioration

La durée d'un cycle de biodétérioration, correspondant à la durée entre deux renouvellements du milieu immature, est de 3 semaines et un essai contient en général 4 cycles. A la fin de l'essai, les mortiers ont été séchés 24 h à 40°C, puis inclus sous vide dans de la résine époxy pour être sectionnés et polis, afin d'obtenir des sections polies. Ces dernières sont observées par MEB après métallisation par un film de carbone en mode électrons rétrodiffusés, afin d'évaluer l'évolution de la microstructure mais également de déterminer l'épaisseur dégradée et la zonation à partir du profil des éléments chimiques obtenu par EDS.

La quantité totale d'éléments lixiviés correspond à l'addition de la quantité d'éléments relargués à chaque cycle sachant que l'étape de pré-lixiviation peut également être ajoutée, afin d'avoir un bilan

de matière complet. L'activité bactérienne est estimée comme explicitée dans le second paragraphe de ce chapitre pour chaque cycle permettant ainsi de connaître la quantité d'ions hydronium relarguée dans le milieu. Cette quantité totale est obtenue en additionnant les quantités de chaque cycle. Le bilan de matière vis-à-vis des éléments relargués et la connaissance de la quantité d'ions hydronium apportés au système par l'activité bactérienne permettent de calculer l'indice d'attaque défini dans le premier chapitre (Chapitre 1-5.1.9). Deux remarques importantes doivent être faites pour l'indice d'attaque. Premièrement, tous les ions hydronium ne servent pas à attaquer le mortier puisqu'une partie de ces derniers sont consommés par des réactions acide-base avec les éléments du milieu de croissance comme démontré lors des essais de croissance. Toutefois, il n'est pas possible de connaître exactement cette quantité lors de l'essai de biodétérioration en présence du mortier. Ainsi, l'indice d'attaque est calculé en considérant que 100% des ions hydronium attaquent le mortier. Les précipités dans le milieu conduisent à réduire artificiellement la quantité d'éléments relargués. Ceci a été corrigé en pesant les précipités et en les analysant. Par contre, il a été considéré que les précipités formés dans et à la surface de l'échantillon font encore partie de ce dernier même s'ils sont issus de précipitation secondaire due à la dégradation du mortier.

3.3. La stratégie de mise en œuvre de l'essai de biodétérioration et nomenclature des échantillons

La biodétérioration des matériaux cimentaires par les BSO dans les égouts inclut une étape abiotique mimée dans cette étude par une pré-lixiviation et une étape biotique, comprenant une succession de bactéries sulfo-oxydantes neutrophiles et acidophiles. L'étude bibliographique (Chapitre 1) ainsi que les résultats obtenus au cours des croissances bactériennes des BSO (Chapitre 3) ont montré que les bactéries neutrophiles et les bactéries acidophiles ont des métabolismes différents. Ainsi, pour une meilleure compréhension de l'impact de la succession bactérienne sur les mortiers et pour pouvoir mettre en évidence la différence avec un essai réalisé avec la BSO *A. thiooxidans* seule, l'essai de biodétérioration a été décliné en trois variantes.

La première est l'essai avec la souche acidophile *A. thiooxidans* (étapes 1 et 3). Cet essai ne prend en compte que la première et la dernière étape du processus de biodétérioration réalisé *in situ*. Les effets de cet essai sont connus et décrits dans la littérature scientifique. Toutefois, cette étude permet d'évaluer plus précisément l'activité bactérienne au cours de la biodétérioration. De plus, contrairement à l'essai type réalisé par Hajj Chehade (2010), dans notre étude, la quasi-totalité de l'acide sulfurique est biogénérée durant l'essai de biodétérioration en présence des mortiers. Ces essais sont rapportés dans le chapitre 4.

La deuxième est l'essai avec la souche neutrophile *H. neapolitanus* (étapes 1 et 2). Cet essai ne prend en compte que les premières étapes du processus de biodétérioration réalisé *in situ*. Les effets de cet

essai n'ont pas encore été décrits dans la littérature scientifique. Ces essais sont présentés dans le chapitre 5.

La troisième est l'essai avec la succession bactérienne de *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* (étapes 1, 2 et 3). Cet essai prend en compte toutes les étapes du processus de biodétérioration *in situ*. Les effets de cet essai sont très peu décrits dans la littérature scientifique. Ces essais sont discutés dans le chapitre 6.

Chaque type d'attaque a été réalisé en plusieurs cycles de 21 jours (temps maximum au bout duquel les BSO demeurent dans un état optimal de croissance - Figure 42, Tableau 15). Les attaques par *H. neapolitanus* ont été réalisées pour chaque cycle avec des cultures de milieu III à pH = 6,5 ; pH optimal de la souche bactérienne. Les attaques par *A. thiooxidans* ont été réalisées pour chaque cycle avec des cultures de milieu III à pH = 4,5 ; pH optimal de la souche bactérienne.

Les essais de biodétérioration ont été réalisés en triplicata. Deux mortiers ont subi 4 cycles de biodétérioration tandis qu'un mortier a été stoppé au cours de l'essai après 2 ou 3 cycles selon l'attaque bactérienne envisagée, afin d'avoir une estimation de la cinétique de biodétérioration (Figure 52, tableau 22). La nomenclature des différents essais et des différents échantillons de mortiers est donnée dans le tableau 22.

	Nomenclature des mortiers	Nombre de cycle par souche bactérienne
<i>A. thiooxidans</i>	CA2 ; OA2	2 cycles <i>A. thiooxidans</i>
	CA4x ; CA4y ; OA4x ; OA4y	4 cycles <i>A. thiooxidans</i>
<i>H. neapolitanus</i>	CN2 ; ON2	2 cycles <i>H. neapolitanus</i>
	CN4x ; CN4y ; ON4x ; ON4y	4 cycles <i>H. neapolitanus</i>
<i>H. neapolitanus</i>	CN2A1 ; ON2A1	2 cycles <i>H. neapolitanus</i> + 1 cycle <i>A. thiooxidans</i>
<i>A. thiooxidans</i>	CN2A2x ; CN2A2y ; ON2A2x ; ON2A2y	2 cycles <i>H. neapolitanus</i> + 2 cycles <i>A. thiooxidans</i>

Tableau 22 : Nomenclature des trois variantes de l'essai de biodétérioration. Avec : O pour mortier OPC ; C pour mortier CAC ; A pour BSOA *A. thiooxidans* ; N pour BSON *H. neapolitanus* ; (1, 2, 3 ou 4) pour le nombre de cycles et (x, y) pour les doublons.

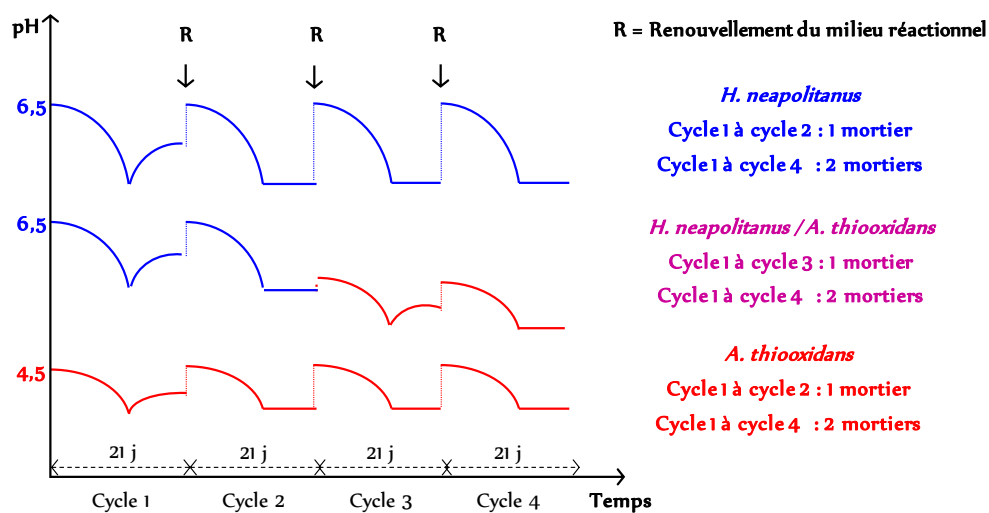
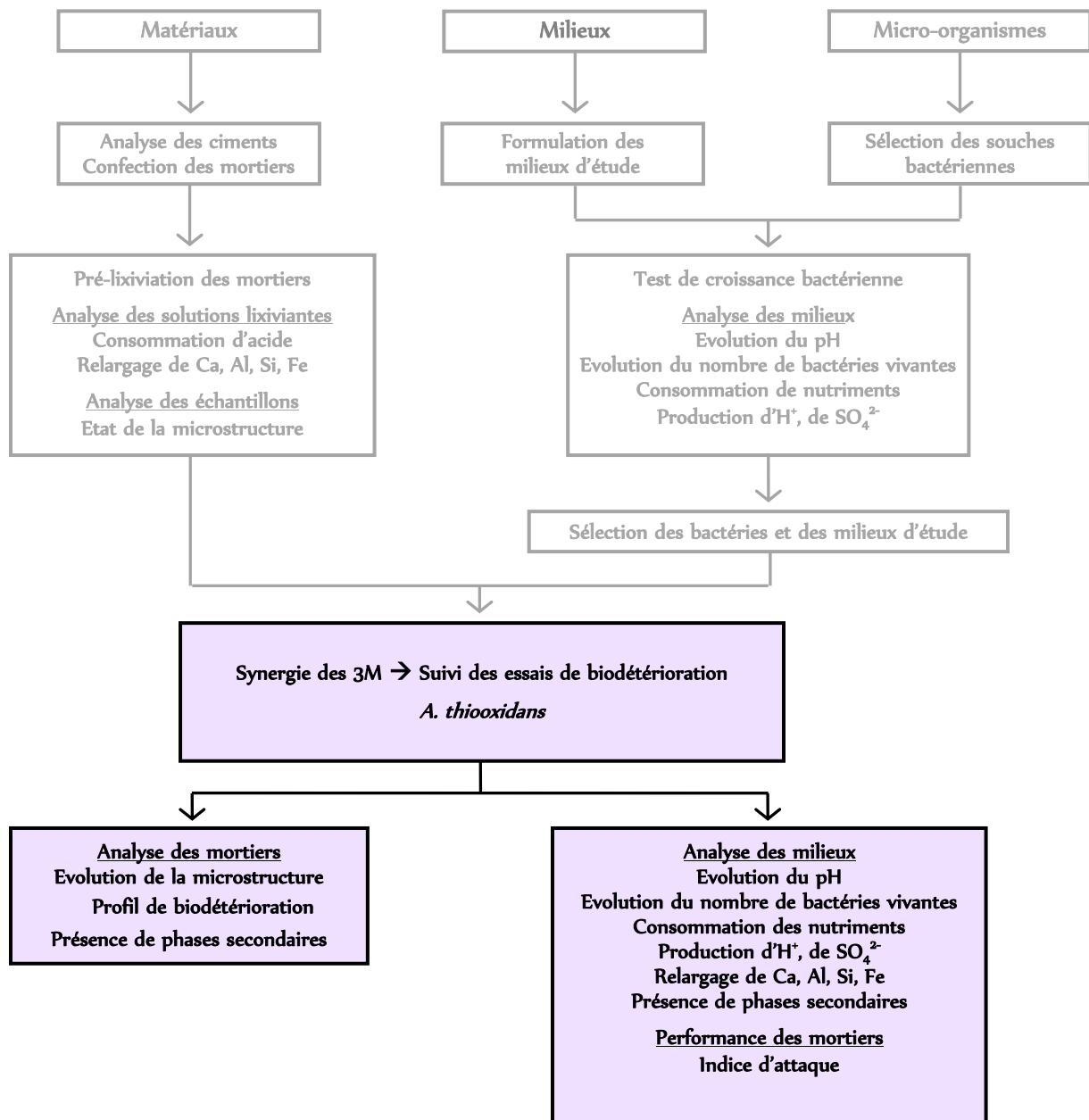


Figure 52 : Schématisation de l'application des trois volets de l'essai de biodétérioration.

CHAPITRE 4 : ESSAI DE BIODETERIORATION AVEC

A. thiooxidans



1. Essai de biodétérioration du mortier OPC

1.1. L'évolution du milieu réactionnel

1.1.1 L'évolution du pH

L'évolution du pH des milieux réactionnels en contact des mortiers OPC montre que les essais sont répétables (Figure 53).

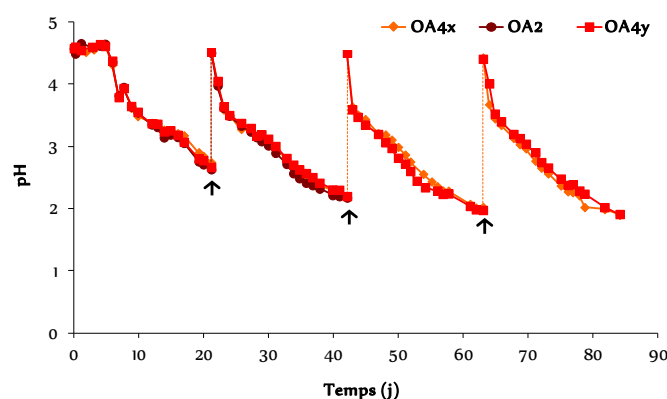


Figure 53 : Évolution du pH des milieux réactionnels en contact de mortiers OPC (OA4x, OA4y, OA2) au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans* (↑ renouvellement du milieu réactionnel).

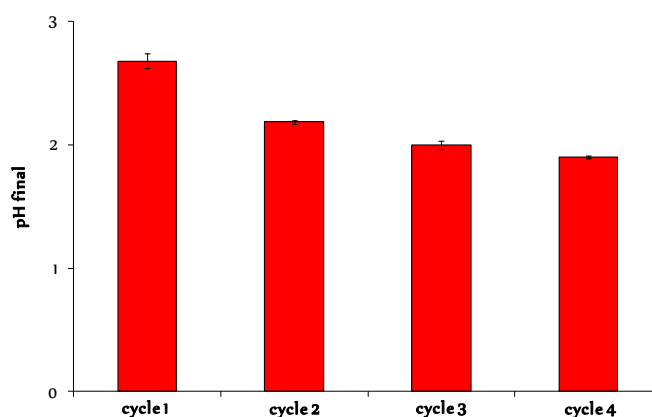


Figure 54 : pH moyens finaux des milieux réactionnels en contact de mortiers OPC au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

Au cours du premier cycle de l'essai de biodétérioration, il a été observé une période de latence de 5 jours qui disparaît lors des cycles suivants. Cette période de latence est très certainement liée à l'alcalinité plus importante du mortier OPC au cycle 1 qui s'oppose à la diminution du pH du milieu due à la croissance bactérienne. La période de latence, additionnée à l'alcalinité du mortier, sont très certainement une des raisons pour laquelle le pH du milieu réactionnel à la fin du cycle 1 est au-dessus de 2,7 au lieu d'être inférieure ou égale à 2 comme pour les cycles 2, 3 et 4. Par ailleurs,

hormis pour le cycle 1, au cours duquel une période de latence est observée, le pH du milieu réactionnel diminue rapidement après chaque renouvellement. L'absence de plateau de pH à la fin de chaque cycle révèle que l'activité bactérienne est encore importante et que la quantité d'ions hydronium générés est supérieure aux ions hydroxyde libérés par la lixiviation de la pâte de ciment. De plus, les pH atteints par les milieux réactionnels à la fin de chaque cycle sont de plus en plus bas au cours de l'essai de biodétérioration (Figure 54). Cette tendance est certainement à corrélérer avec un relargage de moins en moins important d'ions hydroxyde par la pâte de ciment en relation avec les changements minéralogiques de cette dernière.

1.1.2 Évolutions des concentrations des constituants du milieu de croissance et estimation de la quantité d'acide sulfurique biogénérée

Au cours de l'essai de biodétérioration, aux premiers jours de chaque cycle, un précipité jaune a été observé dans le milieu réactionnel. Ce précipité a complètement disparu en fin de cycle, sauf pour le cycle 1, dans lequel il a persisté au-delà des 21 jours (Figures 55 A et B). Le trouble observé dans les milieux réactionnels à la fin des cycles 2, 3 et 4 est lié à la croissance des BSO (Figure 55 C).

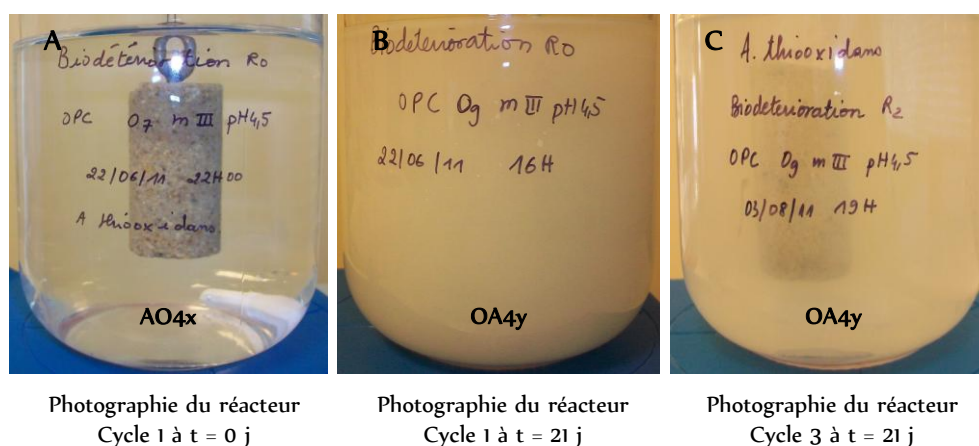


Figure 55 : Etat du milieu réactionnel avant et après la mise en œuvre de cycle de biodétérioration de mortiers OPC avec *A. thiooxidans*.

Le précipité obtenu à la fin du cycle 1 a été pesé, analysé et identifié par DRX et MEB/EDS (Figures 56 A et B). Il est exclusivement composé de soufre élémentaire comme déjà observé lors des essais de croissance présentés au chapitre 3. Ainsi, comme indiqué par Parker et Prisk (1953), le soufre élémentaire est bien un intermédiaire métabolique de *A. thiooxidans* au cours de sa croissance dans le thiosulfate. Par ailleurs, ce résultat confirme bien que la croissance lors du premier cycle présente un retard en accord avec la période de latence observée. La masse moyenne de soufre élémentaire par réacteur est de 0,43 g. Ainsi, 15,1 % de la quantité de thiosulfate initiale n'a pas été complètement métabolisée en acide sulfurique au cours du 1^{er} cycle de l'essai de biodétérioration (Tableau 23).

L'absence de précipité dans les milieux réactionnels à la fin des cycles 2, 3 et 4 indique plutôt une consommation de la totalité de soufre intermédiaire formé au cours du métabolisme du thiosulfate (Tableau 23).

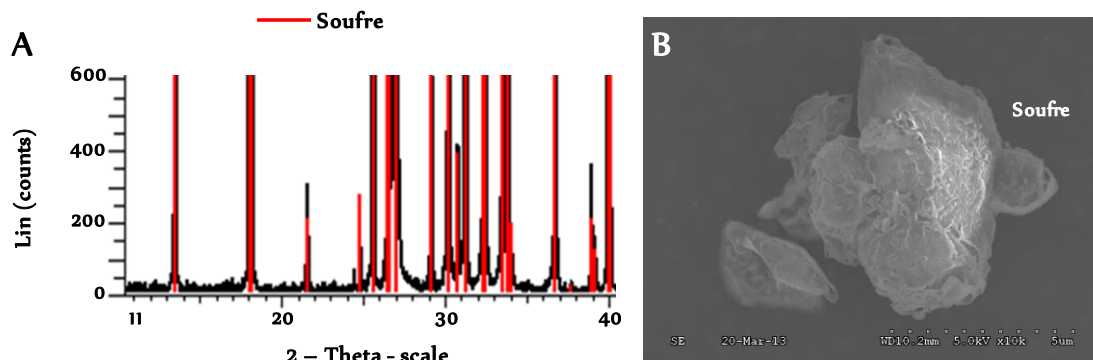


Figure 56 : Analyse DRX du précipité obtenu dans le milieu réactionnel à la fin du cycle 1 au cours de l'essai de biodétérioration des mortiers OPC par *A. thiooxidans*.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Présence de précipité	+	-	-	-
Soufre élémentaire (mole)	1,34E-02	0	0	0
% Thiosulfate non métabolisé en acide sulfurique	15,1	0	0	0

Tableau 23 : Etat du milieu réactionnel et production moyenne de soufre élémentaire après 21 jours pour chaque cycle de biodétérioration des mortiers OPC par *A. thiooxidans*. (+) présence de précipité, (-) absence de précipité.

L'évolution des concentrations en thiosulfates et en sulfates montre également, comme pour l'évolution du pH, une répétabilité des essais (OA4x, OA4y, OA2) (Figures 57 A et B). Par ailleurs, il a été noté que pendant les cycles 2, 3 et 4, tout le thiosulfate était totalement consommé par les bactéries après 14 jours au lieu de 21 jours pour le cycle 1. Cette différence trouve à nouveau son explication à travers la période de latence observée pour le cycle 1 au cours de l'évolution du pH. Ainsi, la concentration en ions sulfate à la fin du premier cycle est inférieure à celle des trois autres cycles.

En outre, l'évolution dans le temps de la quantité maximale théorique de sulfates, pouvant être produite par oxydation du thiosulfate (—), est liée au biais de mesure induit par l'utilisation de différentes éprouvettes graduées (2 litres, 1 litre) (Figure 57 B). Toutefois, ce biais de mesure a été pris en compte dans l'évaluation des concentrations des constituants du milieu.

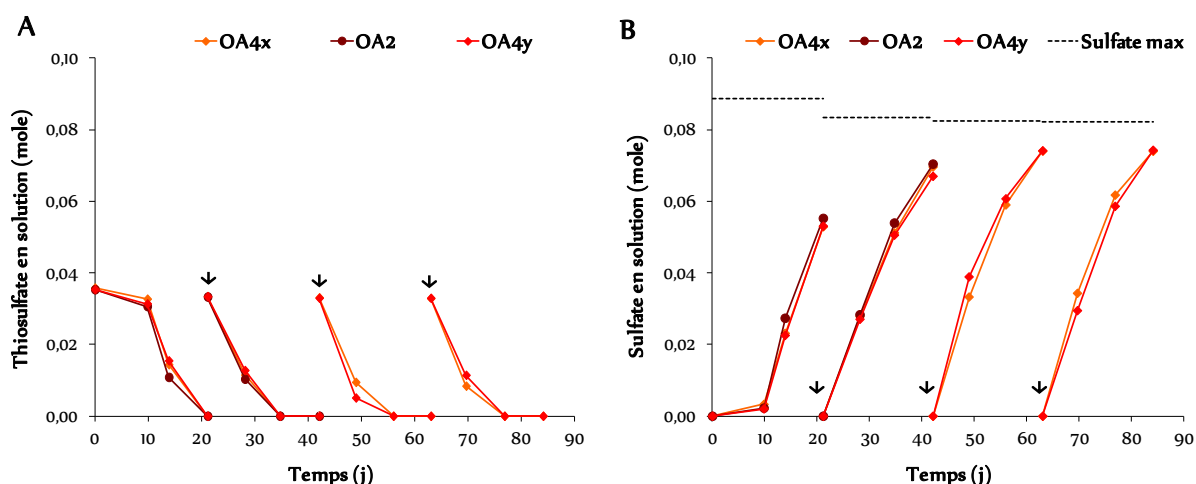


Figure 57 : Évolution des ions thiosulfate (A) et sulfate (B) en solution dans les milieux réactionnels en contact des mortiers OPC (OA4x, OA4y, OA2) au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans* (↓ renouvellement du milieu réactionnel).

Le bilan de matière pour le soufre tel qu'il a été présenté dans le chapitre 3 permet de démontrer que les conditions de croissance bactérienne sont optimales lors de l'essai puisque hormis pour le premier cycle, la production d'acide sulfurique (ions sulfate et ions hydronium) est constante et maximale (Figure 58 A, tableau 24). L'activité bactérienne de *A. thiooxidans* ne semble donc pas être affectée par la présence du mortier OPC et surtout par le relargage des ions lixiviés.

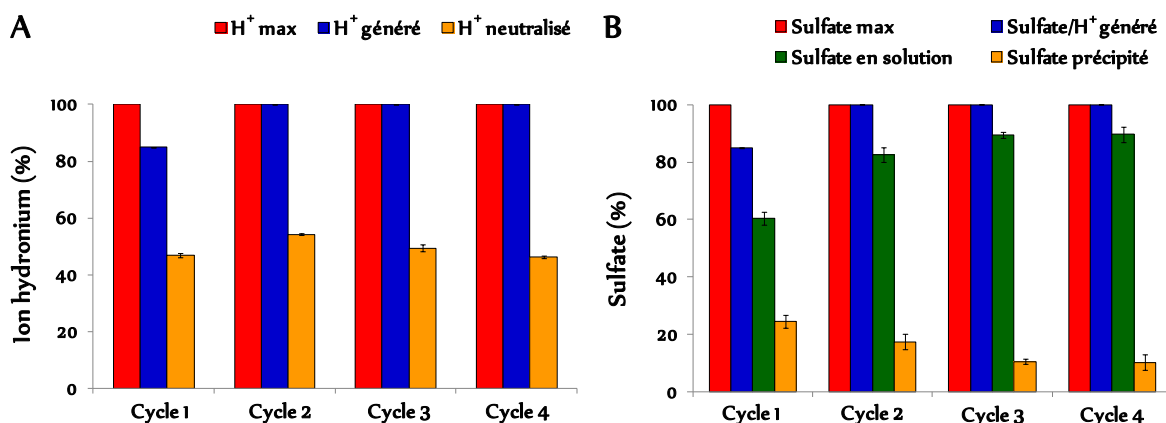


Figure 58 : A – Quantité d'ions hydronium générés par *A. thiooxidans* et neutralisés par le mortier au cours de l'essai de biodétérioration. B - Quantité d'ions sulfate générés par les bactéries, présents en solution et précipités dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

Par ailleurs, si on considère les cycles 2, 3 et 4, on constate que la quantité d'ions hydronium neutralisés le mortier diminue dans le temps (Figure 58 A, tableau 24) conduisant ainsi indirectement à un pH final plus bas. La même tendance est observée pour le premier cycle si on normalisait la quantité d'ions hydronium générés à 100% (Figure 58 A, tableau 24). Le milieu réactionnel étant quasiment le même au cours des cycles de biodétérioration, on peut considérer que

la diminution du pH observée à la fin des cycles de biodétérioration (Figure 54) est liée à un relargage de moins en moins important de composés issus du mortier puis neutralisés par les ions hydronium. Cette diminution est corrélée à la modification de la minéralogie du mortier lors de l'attaque.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Sulfate/H ⁺ attendu (mole)	8,87E-02 ± 6,78E-04	8,34E-02 ± 1,95E-04	8,25E-02 ± 2,28E-04	8,22E-02 ± 1,48E-04
Thiosulfate non-consommé (mole)	0	0	0	0
Soufre élémentaire accumulé (mole)	1,34E-02	0	0	0
Thiosulfate correspondant (%)	15,13	0	0	0
Sulfate/H ⁺ généré (mole)	7,53E-02 ± 6,78E-04	8,34E-02 ± 1,95E-04	8,25E-02 ± 2,28E-04	8,22E-02 ± 1,48E-04
Sulfate/H ⁺ généré (%)	84,87 ± 0,12	100	100	100
Sulfate en solution (mole)	5,36E-02 ± 1,21E-03	6,88E-02 ± 2,13E-03	7,38E-02 ± 5,56E-04	7,37E-02 ± 2,10E-03
Sulfate en solution (%)	71,25 ± 2,23	82,54 ± 2,61	89,42 ± 0,92	89,7 ± 2,71
Sulfate précipité dans mortier (mole)	2,17E-02 ± 1,88E-03	1,46E-02 ± 2,18E-03	8,73E-03 ± 7,84E-04	8,47E-03 ± 2,25E-03
Sulfate précipité dans mortier (%)	28,75 ± 2,23	17,46 ± 2,61	10,58 ± 0,92	10,3 ± 2,71
H ⁺ calculé à partir du pH (mole)	2,12E-03 ± 2,79E-04	6,57E-03 ± 1,81E-04	1,01E-02 ± 8,05E-04	1,26E-02 ± 2,87E-04
ΔH ⁺ [H ⁺ généré - H ⁺ calculé - H ⁺ neutralisé par le milieu] ou H ⁺ neutralisé par le mortier (mole)	4,16E-02 ± 9,48E-04	4,52E-02 ± 3,36E-04	4,08E-02 ± 1,03E-03	3,80E-02 ± 4,35E-04
H ⁺ neutralisé par le mortier (%)	55,19 ± 0,76	54,20 ± 0,29	49,44 ± 1,11	46,22 ± 0,45

Tableau 24 : Quantités de composés soufrés produits, accumulés et des quantités d'ions hydronium neutralisés par le milieu et le mortier OPC au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

Ainsi, au cours de nos essais de biodétérioration, la capacité de neutralisation du mortier OPC diminue. Ce phénomène a également été montré par Lamberet (2005), Letourneux and Scrivener (1999) et Ehrich *et al.* (1999) sur des pâtes de ciment.

L'analyse de l'évolution des ions sulfate montre qu'au cours des cycles, ces derniers sont de plus en plus présents en solution et de moins en moins précipités dans le mortier (Figure 58 B, tableau 24). Cette diminution de la quantité d'ions sulfate précipités dans le mortier est très certainement liée à une dissolution de moins en moins importante de phases cimentaires riches en calcium si l'on fait l'hypothèse de la précipitation de gypse en se référant à la littérature [Scrivener *et al.*, 1999 ; Bayoux *et al.*, 1990].

Par ailleurs, l'analyse des ions phosphate semble également indiquer une faible précipitation de composés contenant du phosphore lors de l'essai (inférieur à 5%). La quantité de ces composés est de moins en moins importante au cours des cycles à l'exception du cycle 2 (Figure 59, Tableau 25). L'étude la minéralogie du mortier permettra de donner des indications sur les composés précipités.

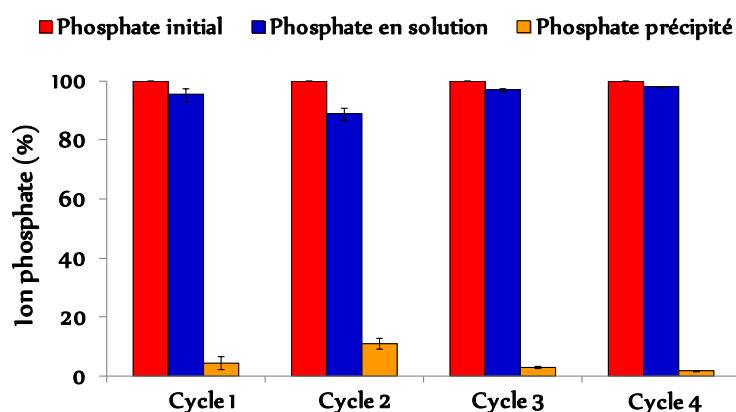


Figure 59 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 3
Phosphate initiale (mole)	4,85E-02 ± 3,71E-04	4,56E-02 ± 1,07E-04	4,52E-02 ± 1,25E-04	4,50E-02 ± 8,11E-05
Phosphate en solution (mole)	4,63E-02 ± 1,38E-03	4,06E-02 ± 9,74E-04	4,38E-02 ± 8,97E-05	4,42E-02 ± 1,40E-05
Phosphate en solution %	95,46 ± 2,20	88,89 ± 1,93	96,96 ± 0,47	98,23 ± 0,21
Phosphate précipité (mole)	2,20E-03 ± 1,06E-03	5,07E-03 ± 8,67E-04	1,37E-03 ± 2,14E-04	7,95E-04 ± 9,51E-05
Phosphate précipité %	4,54 ± 2,20	11,11 ± 1,93	3,04 ± 0,47	1,77 ± 0,21

Tableau 25 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

1.1.3 Le dénombrement bactérien

Le dénombrement des populations bactériennes contenues dans les milieux réactionnels au contact des mortiers OPC à la fin de chaque cycle montre également une répétabilité des essais (Figure 60). Comme escompté, le nombre de bactéries actives en présence de mortiers OPC reste près de 10^{+9} bactéries actives/mL à la fin des cycles 1, 2 et 3 (21 j). Ces résultats confirment que la présence du mortier OPC dans le milieu réactionnel ne semble pas affecter la croissance et l'activité de *A. thiooxidans*. Cette dernière dépend principalement de la quantité de thiosulfates ou de soufre élémentaire du milieu. Ainsi, le nombre de bactéries actives est légèrement plus bas en fin de cycle pour les cycles 2 et 3 comparativement au cycle 1 pour lequel est observé un temps de latence de 5 jours, responsable de la consommation incomplète du soufre élémentaire. Le cycle 4 est particulier : en effet à la fin de ce dernier, il a été impossible de réaliser un dénombrement bactérien, car bien que les bactéries fussent visibles et majoritairement actives, elles formaient des agrégats et semblaient être contenues dans une substance gélatineuse (observation sous microscope à épifluorescence à grossissement x 1000).

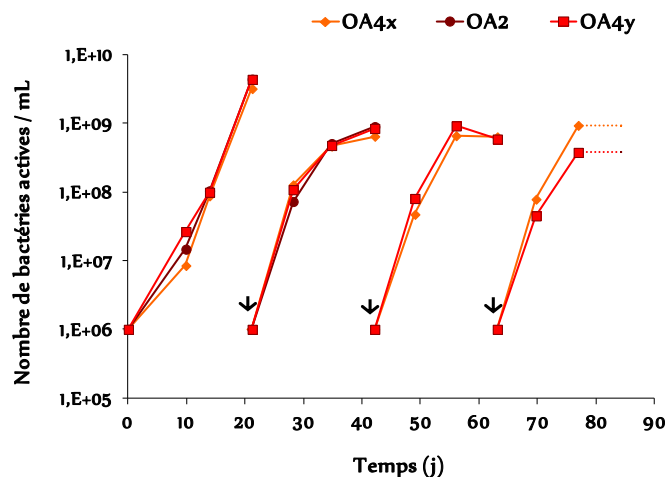


Figure 60 : Évolution du nombre de bactéries actives dans les milieux réactionnels en contact des mortiers OPC (OA4x, OA4y, OA2) au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans* (↓ renouvellement du milieu réactionnel).

1.1.4. Évolution des éléments chimiques relargués en solution par le mortier

Au cours des cycles de biodétérioration, l'acide sulfurique produit par *A. thiooxidans* attaque les mortiers et dissout les phases composant la pâte de ciment conduisant au relargage des éléments Ca, Si, Al, Fe et S (sous forme de sulfate) en solution. Les ions sulfate apportés à la solution par le mortier ont été négligés, car il est impossible de les différencier des ions sulfate générés par les bactéries. Toutefois, cette approximation ne conduit pas à un biais important des résultats, car d'une part la quantité de S du ciment est faible comparée aux quatre autres éléments chimiques considérés et la majorité des sulfates de la pâte de ciment devraient être précipités pour former des phases secondaires comme du gypse. Nous n'avons aussi pas tenu compte des alcalins (sodium et potassium) contenus dans la solution porale puis relargués dans le milieu car leur quantité est faible.

Les quantités de ces éléments ont été mesurées par ICP-AES (VARIAN 720 ES) après la pré-lixiviation et à la fin de chaque cycle de biodétérioration. Les quantités de Ca, Al et Fe relarguées au cours de la pré-lixiviation sont largement supérieures à celles relarguées au cours des cycles de biodétérioration (Figure 61). Cette différence est certainement liée au fait que la solution pré-lixivante (pH = 1) est plus acide conduisant à un pH final de 1,3 qui est plus agressif que le pH final des cycles de biodétérioration ($1,9 < \text{pH} < 2,7$) [Gutiérrez-Padilla *et al.*, 2010 ; Bayoux *et al.*, 1990]. En effet, au cours de leur étude en laboratoire, Gutiérrez-Padilla *et al.* (2010) ont montré que le relargage du Ca par l'échantillon de béton augmentait quand le pH du milieu réactionnel diminuait (Figure 21). Bayoux *et al.* (1990) ont trouvé que la perte de masse des échantillons de pâte de ciment, donc le relargage d'éléments chimiques, est plus importante lorsque le pH de la solution lixivante diminue.

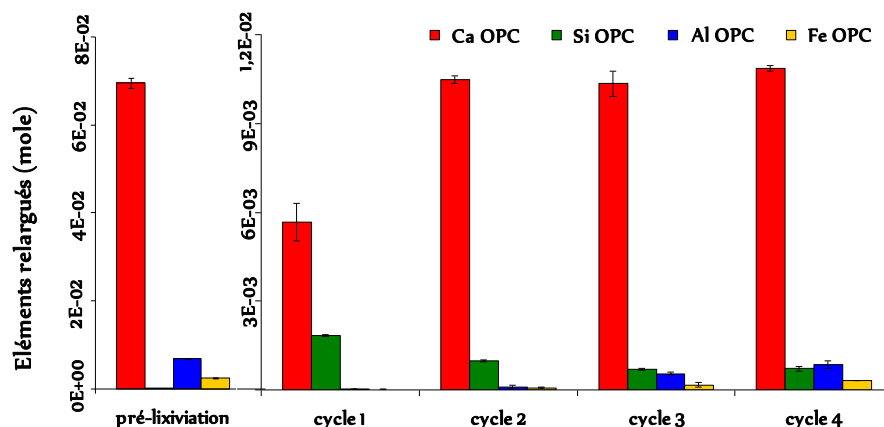


Figure 61 : Quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC à la fin de la pré-lixiviation et des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

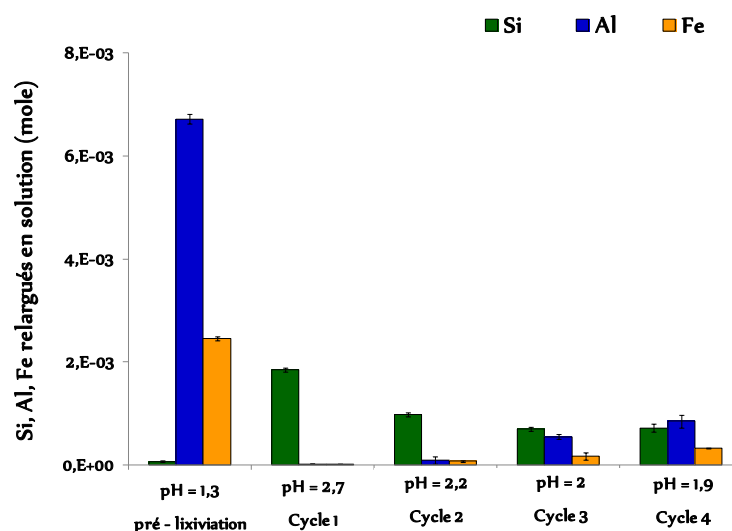


Figure 62 : Évolution des quantités de Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC en fonction du pH final des milieux réactionnels.

Contrairement au silicium, le relargage de l'aluminium et de fer augmente avec la diminution du pH. Par ailleurs, le Si, contrairement aux éléments Ca, Al et Fe, n'a pas été relargué en solution au cours de la pré-lixiviation bien que le milieu soit plus acide (Figure 61). Cette absence pourrait très certainement être liée au point isoélectrique de la silice. En effet, au cours de l'attaque acide du mortier OPC, un gel de silice se forme à la surface du mortier issu de la dissolution complète des silicates de calcium hydratés (C-S-H) (Chapitre 1). Le point isoélectrique de la silice se situe à des valeurs de pH comprises entre 1,7 et 3,5 à 25 °C [Kosmulski, 2001]. Ainsi, cette dernière est sous forme plus ou moins soluble en fonction du pH de la solution. Or, le pH de la solution lixiviante au cours de la pré-lixiviation varie entre 1 et 1,30, inférieur au point isoélectrique. La silice est donc sous forme de gel, il est par conséquent non relargué dans la solution lixiviante. Au cours des essais de biodétérioration, le pH du milieu réactionnel (variant entre 1,9 et 2,7) est compris dans l'intervalle

isoélectrique de la silice, cette dernière est donc plus soluble ; d'où son relargage au cours des cycles de biodétérioration. Toutefois, un relargage plus important est observé pour les valeurs de pH plus élevées (Figure 62).

D'après la littérature scientifique, il y a précipitation d'hydroxydes d'aluminium et de fer au cours de l'attaque acide des mortiers OPC (chapitre 1) [Alexander and Fourie, 2011 ; Scrivener *et al.*, 1999 ; Adenot, 1992]. Ces hydroxydes sont dissous lorsque le pH du milieu au contact des mortiers OPC diminue en dessous de 3,5 pour les hydroxydes d'aluminium et de 2 pour les hydroxydes de fer [Alexander and Fourie, 2011]. Dans l'étude présente, il est constaté que l'Al et le Fe sont relargués en solution pour des pH inférieurs à 2,7 et les relargages sont de plus en plus importants avec la diminution du pH (Figure 62). Nos résultats sont donc en accord avec la littérature scientifique.

Le calcium est intensément relargué en solution pour toute la gamme de pH de ces essais (Figure 61). L'importance du relargage du calcium par les mortiers OPC est due à la composition du ciment OPC et à sa minéralogie. La pâte de ciment est constituée d'environ 15 à 20% d'hydroxyde de calcium ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) connu pour sa faible résistance aux solutions agressives [De Belie *et al.*, 2004 ; Adenot, 1992 ; Bayoux *et al.*, 1990 ; Romben, 1979]. Toutefois, un relargage plus important est observé au cours de la pré-lixiviation liée d'une part à une plus faible valeur de pH et d'autre part au fait que l'échantillon de mortier est encore non altéré.

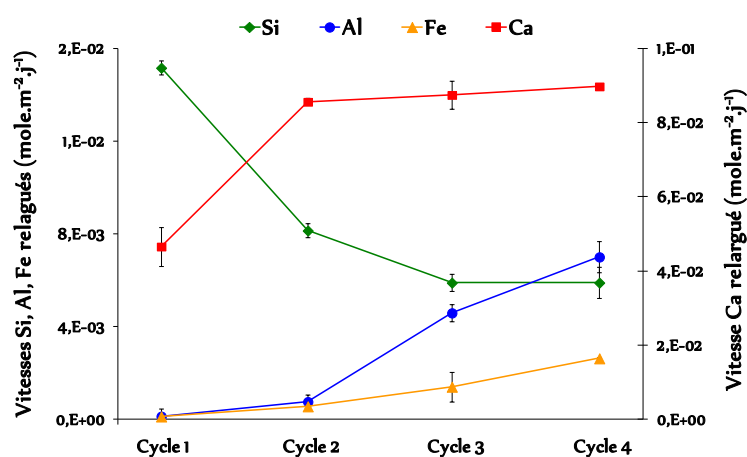


Figure 63 : Vitesses moyennes de relargage en solution des éléments Si, Al, Fe et Ca par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

L'observation des vitesses de relargage des éléments Ca, Si, Al et Fe semble indiquer qu'au cours des cycles de biodétérioration, mis à part le cycle 1, la vitesse de relargage du calcium est quasiment constante, celui du silicium diminue tandis que celui de l'aluminium et du fer augmente (Figure 63). Le plus faible relargage du calcium durant le premier cycle est à relier à l'attaque moins intense due à la croissance bactérienne incomplète, mais aussi à la forte attaque acide du mortier lors de la pré-

lixiviation. Les vitesses de relargage de l'aluminium et du fer sont très faibles au cours des cycles 1 et 2 avant d'augmenter fortement aux cycles 3 et 4 (Figure 63).

Par ailleurs, si on considère les quantités relarguées (Tableau 26), on constate que le ratio molaire Ca/Si des éléments passés en solution augmente progressivement au cours des cycles de biodétérioration (Figure 64, tableau 26). Ce dernier est supérieur au rapport initial Ca/Si du mortier après pré-lixiviation, qui est de 2,68. Ce résultat indique bien que les phases contenant le calcium sont plus facilement dissoutes par l'acide sulfurique tandis que celles contenant le silicium, notamment le gel de silice sont de plus en plus difficiles à dissoudre.

Moyennes des quantités des éléments relargués en solution (mole)					
	Ca	Si	Al	Fe	Ca/Si
Cycle 1	5,66E-03 ± 6,36E-04	1,84E-03 ± 3,74E-05	1,62E-05 ± 1,16E-06	1,50E-05 ± 6,69E-06	3,07 ± 0,29
Cycle 2	1,05E-02 ± 1,16E-04	9,79E-04 ± 3,65E-05	9,15E-05 ± 7,34E-05	6,74E-05 ± 1,61E-05	10,70 ± 1,54
Cycle 3	1,03E-02 ± 4,41E-04	6,97E-04 ± 4,26E-05	5,43E-04 ± 4,87E-05	1,66E-04 ± 7,53E-05	14,84 ± 0,42
Cycle 4	1,09E-02 ± 1,02E-04	7,13E-04 ± 8,00E-05	8,48E-04 ± 1,27E-04	3,18E-04 ± 5,60E-06	15,22 ± 0,29

Tableau 26 : Moyennes des quantités d'éléments chimiques relargués en solution par les mortiers OPC au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

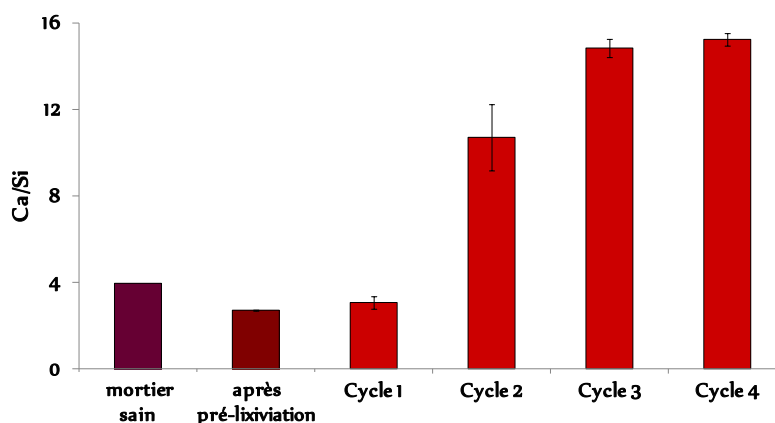


Figure 64 : Ratio molaire Ca/Si calculé à partir des quantités moyennes cumulées des éléments Ca et Si contenus dans les mortiers OPC ou relargués en solution par ces derniers au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Hajj Chegade (2010) qui a également étudié la biodétérioration d'un mortier OPC par une culture acide de *A. thiooxidans* et a observé une augmentation progressive du rapport Ca/Si au cours de l'essai de biodétérioration. Cependant, dans l'étude de Hajj Chegade (2010), à la fin de l'essai de biodétérioration, le rapport Ca/Si (8,5) est 45% moins important que celui déterminé au cours de l'essai présent (15,2). Au cours de l'essai de Hajj

Chehade, les phases siliceuses sont plus solubles, certainement liée aux remontées de pH ($\text{pH} > 3$) observées au cours de ces cycles de biodétérioration. Cette remontée favorise la dissolution du gel de silice, donc le relargage de Si en solution. De plus, dans l'étude présente, les BSO génèrent une plus grande quantité d'acide sulfurique induisant une dissolution plus importante de phases calcaïques, donc un relargage plus intense de Ca en solution.

Au cours de nos essais, les fractions cumulées des éléments relargués en solution n'ont été mesurées qu'à la fin de chaque cycle de biodétérioration. Ainsi, il n'a été réalisé aucun suivi chronologique des éléments relargués en solution au cours des essais. Toutefois, à titre indicatif, ces fractions ont tout de même été normalisées à la surface des échantillons avant d'être représentées en fonction du temps et de la racine carrée du temps. Ceci dans le but de définir grosso modo les mécanismes gouvernant le relargage de chacun de ces éléments au cours de l'essai de biodétérioration (Figure 65) [Hajj Chehade, 2010 ; Albert, 2002 ; Moudilou, 2000 ; Adenot, 1992].

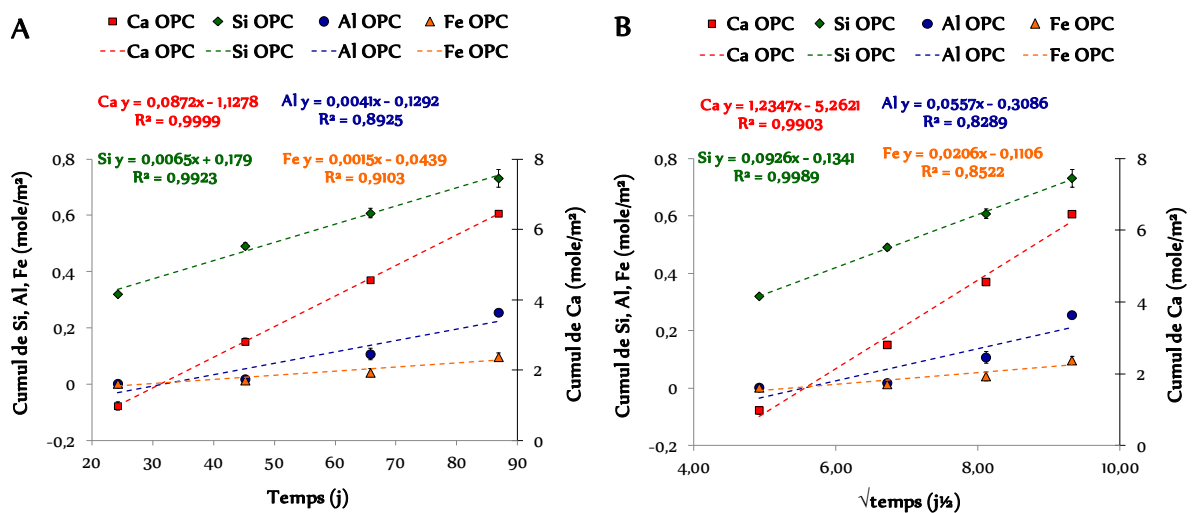


Figure 65 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relargués en solution par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans* normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction du temps (A) et de la racine carrée du temps (B) ; les droites représentent les régressions linéaires des courbes.

En se basant sur le modèle de Cote et Constable (1987) (Annexe 1), nous avons observé que les courbes de relargage des éléments Ca et Si sont compatibles avec une loi d'évolution linéaire des fractions cumulées lixiviées en fonction du temps (F.C.L $[t] = k.t$) et de la racine carrée du temps (F.C.L $[t] = k\sqrt{t}$). Ainsi, dans le cadre cette étude (comme pour les études d'attaque à l'acide sulfurique chimique menées par Aviam *et al.*, 2004 ; Moudilou, 2000 et Adenot, 1992) les relargages des éléments Ca et Si se font simultanément et globalement selon des mécanismes de dissolution et de diffusion. Les relargages des éléments Al et Fe semblent être gouvernés par des mécanismes de dissolution. Par ailleurs, l'étape cinétiquement limitante pour le relargage des éléments dépend de la porosité de la zone concernée : si la porosité est très importante, la cinétique sera gouvernée par la

dissolution alors que la diffusion sera limitante dans une zone peu poreuse comme ceci est généralement le cas dans une pâte de ciment. Les observations MEB qui seront réalisées par la suite sur l'échantillon permettront de compléter cette analyse en évaluant la porosité des zones attaquées. En outre, au cours de l'étude présente, les cumuls des fractions de Ca, Al et Si relarguées en solution (normalisées à la surface du mortier) sont respectivement, 9, 20 et 23% inférieurs à ceux de Hajj Chehade (2010). Cet écart est lié à la différence des protocoles d'essai et notamment la durée de l'essai. Ainsi, l'indice d'attaque sera utilisé pour comparer quantitativement les essais entre eux (Chapitres 2).

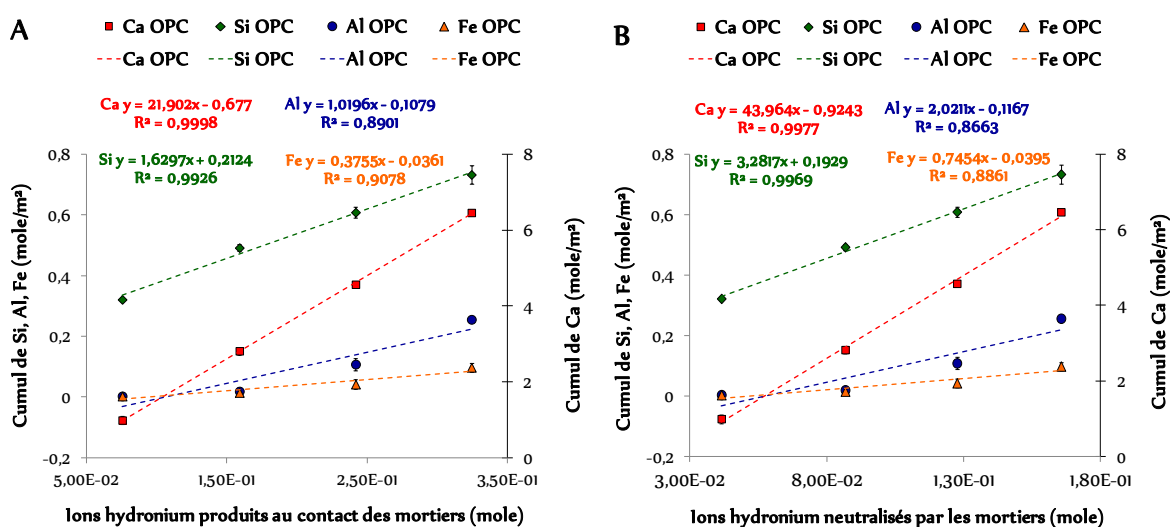


Figure 66 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium générés par *A. thiooxidans* (A) ou neutralisés par le mortier (B).

Par ailleurs, la représentation des fractions cumulées de Ca et de Si relarguées dans les milieux réactionnels en fonction des quantités d'ions hydronium générés par *A. thiooxidans* ou neutralisés par le mortier indique une très bonne proportionnalité. Cette proportionnalité est liée au fait qu'au cours des cycles de biodétérioration, une quantité maximale et quasiment équivalente d'ions hydronium est générée par *A. thiooxidans* induisant la dissolution des mêmes quantités de phases calciques et siliceuses. De plus, au cours des cycles de biodétérioration, le pH du milieu réactionnel est suffisamment bas pour rapidement dissoudre toutes les phases calciques et siliceuses du mortier OPC. La proportionnalité est un peu moins parfaite pour les fractions cumulées de l'Al et du Fe, certainement dû à la plus grande influence du pH sur la dissolution des phases alumineuses et ferriques, mais aussi à la plus grande incertitude sur ces mesures pour des éléments en faible quantité dans la pâte de ciment qui rappelons-le est hétérogène à l'échelle de la microstructure.

Par ailleurs, il est constaté que les vitesses de relargage des éléments représentées en fonction des quantités d'ions hydronium neutralisés par le mortier sont en moyenne deux fois plus importantes que celles représentées en fonction des quantités d'ions hydronium générées par *A. thiooxidans*. Ce

résultat est lié au fait qu'environ la moitié de l'acide sulfurique produit par les BSO est neutralisé par le mortier (Tableau 24).

1.1.5. Conclusion

Au cours de l'essai de biodétérioration, la présence du mortier OPC ne semble pas affecter le développement et l'activité bactérienne de *A. thiooxidans*. Toutefois, on constate que les bactéries se mettent sous forme d'agrégats pour le cycle 4. Cette agrégation pourrait être induit par l'épuisement des nutriments ou par l'action du milieu et en particulier des ions aluminate. La concentration en Al à la fin du cycle 4 conduit à la concentration la plus élevée en Al ([Al] proche de 1 mmol/L). Toutefois, cette concentration est bien inférieure aux concentrations de plus de 10 mmol/L rapportées dans la littérature qui pourraient induire cet effet. L'analyse de l'essai de biodétérioration des mortiers CAC par *A. thiooxidans*, va très certainement apporter des éléments de réponse à ces deux hypothèses, car ce mortier relargue une quantité encore plus importante d'Al.

1.2. L'évolution des mortiers

1.2.1. L'analyse macroscopique

Comme pour les essais de biodétérioration réalisés par Gutiérrez-Padilla *et al.* (2010) ou Roberts *et al.* (2002) et contrairement à ceux réalisés par Hajj Chehade (2010), l'analyse macroscopique des mortiers n'a révélé aucun biofilm à la surface des mortiers à la fin des cycles de biodétérioration (Figure 67). En effet, dans l'étude de Hajj Chehade, les nutriments du milieu étaient plus vite épuisés induisant un stress nutritif responsable de la formation du biofilm bactérien [Matila-Sandholm and Wirtanen, 1992]. De même, dans la nature, notamment dans les égouts, les bactéries sont très rarement dans des conditions nutritives optimales, d'où la présence de biofilm à la surface des tuyaux d'égout [Matila-Sandholm and Wirtanen, 1992]. L'absence de biofilm dans l'étude présente pourrait s'expliquer par le fait que les bactéries sont maintenues en conditions nutritives optimales une grande partie de l'essai. Ainsi, il n'y aurait pas de stress nutritif (du mois les 14 premiers jours de croissance, Figure 57 A), par conséquent pas de formation de biofilm.

L'absence de biofilm dans cet essai de biodétérioration a été désirée afin de simplifier la compréhension des mécanismes mis en jeu lors de l'essai proposé. En effet, la présence d'un biofilm bactérien aurait complexifié la compréhension des mécanismes de biodétérioration.

Par ailleurs, la surface des mortiers est lisse et homogène. L'analyse visuelle des mortiers OPC a révélé que les mortiers ayant subi 4 cycles de biodétérioration (3 mois), mortiers OA4x et OA4y, sont plus altérés que celui ayant subi 2 cycles de biodétérioration (1,5 mois), mortier OA2 (Figure 67).

L'observation des sections transversales des mortiers après imprégnation dans la résine a révélé la présence de deux zones distinctes. Une fine zone située à la surface du mortier, d'environ 1,8 – 1,9 mm, fortement remplie de résine époxy, laissant supposer une microstructure très poreuse. Et, une zone plus épaisse constituant le cœur du mortier, d'environ 2,5 cm, de microstructure très peu poreuse dans laquelle on ne parvient pas à observer la résine à l'œil nu (Figure 68).

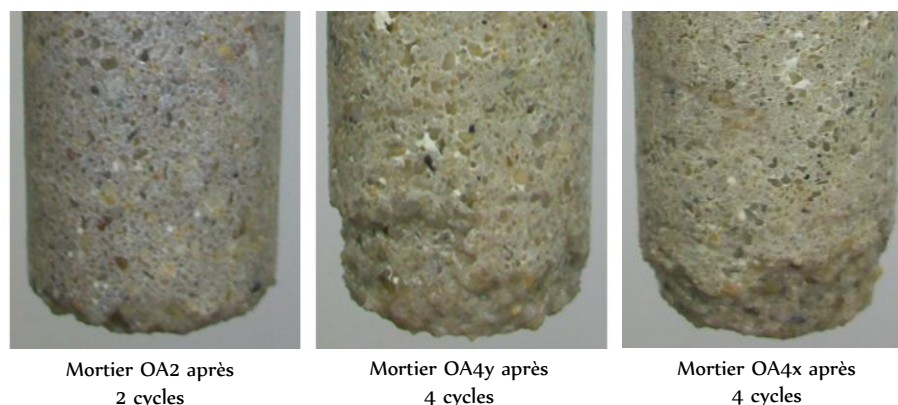


Figure 67 : Mortiers OPC après 2 et 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

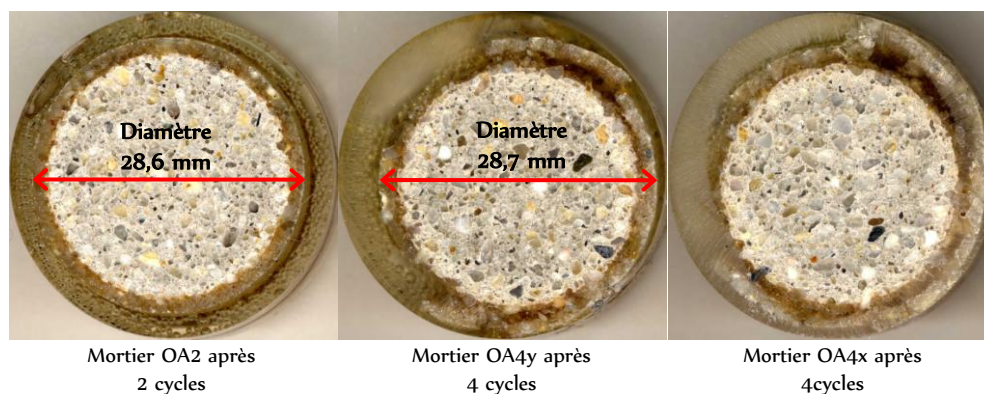


Figure 68 : Coupes transversales des mortiers OPC OA2, OA4y et OA4x après 2 ou 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

En fonction du mortier considéré, OA2, OA4x ou OA4y, la fine zone superficielle est plus ou moins résistante. En effet, elle s'effrite très facilement au touché pour les mortiers OA4x et OA4y laissant supposer une faible résistance et une faible adhésion au cœur du mortier. Par ailleurs, on a pu noter que l'imprégnation du mortier dans la résine époxy conduit au détachement partiel de la zone superficielle du cœur du mortier OA4x ou OA4y (4 cycles), alors qu'elle reste en place pour le mortier OA2 (2 cycles). La différence de propriétés cohésives de la zone superficielle entre les mortiers OA2 et OA4x ou OA4y pourrait être liée à des compositions minéralogiques différentes. Il convient de remarquer que l'épaisseur de la zone superficielle est certainement un peu plus élevée que la réalité puisque l'imprégnation de résine a pu un peu agrandir cette dernière.

Après les cycles de biodétérioration, le diamètre de chaque échantillon de mortier a été déterminé et comparé au diamètre du mortier initial et après pré-lixiviation dans le but de déterminer l'épaisseur complètement détériorée par la pré-lixiviation d'une part et par l'acide sulfurique biogénique d'autre part (Tableau 27) selon les relations :

$$\text{Épaisseur}_{\text{détériorée pré-lixiviation}} = (\text{Diamètre}_{\text{mortier initial}} - \text{Diamètre}_{\text{mortier après pré-lixiviation}})/2$$

$$\text{Épaisseur}_{\text{biodétériorée}} = (\text{Diamètre}_{\text{mortier après pré-lixiviation}} - \text{Diamètre}_{\text{mortier après biodétérioration}})/2$$

	Diamètre après pré-lixiviation (mm)	Épaisseur détériorée (mm)	Diamètre après biodétérioration (mm)	Épaisseur biodétériorée (mm)	Épaisseur perdue par le mortier (mm)
OA2	28,30 ± 0,14	0,35 ± 0,07	28,60	nd	0,35 ± 0,07
OA4y			28,70	nd	
OA4x			nd	nd	

Tableau 27 : Mesure des diamètres et des épaisseurs perdues par les mortiers OPC après l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*. Le diamètre initial du mortier est de 29 mm. nd = non déterminé.

De façon surprenante, les diamètres des mortiers OA4y et OA2 après biodétérioration sont quasiment équivalents bien qu'ils n'aient pas subi le même nombre de cycles de biodétérioration (Figure 52, tableau 22). Par ailleurs, ces diamètres sont plus importants que ceux mesurés sur les mortiers après la pré-lixiviation, ils ont donc augmenté (Tableau 27). Cette augmentation de diamètre peut être due soit à la formation dans le mortier de composés expansifs (gypse et l'ettringite), soit à l'imprégnation de résine qui conduit à l'agrandissement de l'épaisseur de la zone superficielle. Les analyses MEB/EDS vont permettre de répondre à ces suppositions. Le diamètre du mortier OA4x n'a pu être mesuré, car la zone superficielle s'est complètement détachée du reste du mortier (Figure 68).

1.2.2. L'analyse microscopique

Dans un premier temps, l'analyse microscopique des mortiers a consisté à examiner à faible grossissement les bordures des sections polies sous MEB (FEG-HITACHI S-4300SE/N) et à définir des zones de détérioration en fonction des différentes microstructures et/ou des niveaux de gris observées dans les mortiers. Les niveaux de gris dépendent de la quantité d'un élément et de sa masse molaire moléculaire, plus les éléments chimiques constituant la zone observée sont lourds (par exemple Fe, Ti ou Ca) plus la teinte est claire, par contre plus les éléments chimiques composant la zone sont légers (par exemple C, Al ou Si) plus la teinte est sombre. Par la suite, le couplage des observations MEB des mortiers et des analyses EDS ponctuelles (THERMO SCIENTIFIC ULTRADRY) a permis de déterminer la composition chimique des zones initialement délimitées et d'en spécifier la minéralogie. Pour finir, les analyses cartographiques ont permis de déterminer les profils de

détérioration des mortiers en définissant la répartition des éléments composant la pâte de ciment (Ca, Si, Al, Fe) et en recherchant la présence des éléments composant le milieu réactionnel éventuellement passés dans le mortier (S, P et Cl). En effet, à la base il n'y a pas de chlorures dans le mortier à l'exception de la quantité apportée par le milieu réactionnel ou de celle contenue dans la résine. Pour la suite nous avons considéré qu'une quantité atomique (analyse EDS) de Cl inférieur à 2% serait attribuée à la résine. Par ailleurs, la faible présence des éléments S et P dans le mortier sain (entre 0,4 et 1,8 %) permet de faire la différence entre la quantité d'éléments venant du milieu et celle initialement contenue dans le mortier.

1.2.2.1 Le mortier OA4y (4 cycles de biodétérioration / 3 mois)

L'observation du mortier OA4y au MEB (Figure 69) semble indiquer la présence de 6 zones allant de la surface au cœur du mortier :

- La zone 1 : très poreuse, renferme une pâte de ciment de teinte gris sombre. Elle a été appelée zone endommagée. Cette zone s'est complètement détachée du reste du mortier au cours de l'inclusion du mortier dans la résine et a emporté avec elle quelques grains de quartz (Figure 69 - z_a). Son épaisseur est d'environ 0,2 mm.
- La zone 2 : poreuse, renferme une pâte de ciment de teinte gris foncé. Elle semble recouverte par une couche gris clair notamment autour des grains de silice. Elle a été nommée zone dégradée. Son épaisseur varie entre 0,4 et 0,7 mm (Figure 69 - z_{b-d}).
- La zone 3 constituée par un liseré blanc. Elle a une épaisseur qui varie entre 0,05 et 0,07 mm (Figure 69 - z_d).
- La zone 4 : plus dense semble être constituée d'une couche poudreuse compacte claire qui s'estompe et disparaît en allant vers le cœur du mortier. Elle a été appelée zone intensément altérée. Elle a une épaisseur qui varie entre 0,7 et 0,8 mm (Figure 69 - z_e).
- La zone 5 : peu poreuse, renferme une pâte de ciment de teinte gris. Elle a été appelée zone moyennement altérée. Son épaisseur varie entre 0,4 et 0,6 mm (Figure 69 - z_{f-h}).
- La zone 6 : non poreuse, renferme une pâte de ciment de teinte gris clair. Elle a été identifiée comme étant la « zone saine » car sa teinte est comparable à celle d'un mortier sain (Figure 69 - z_{i-n}).

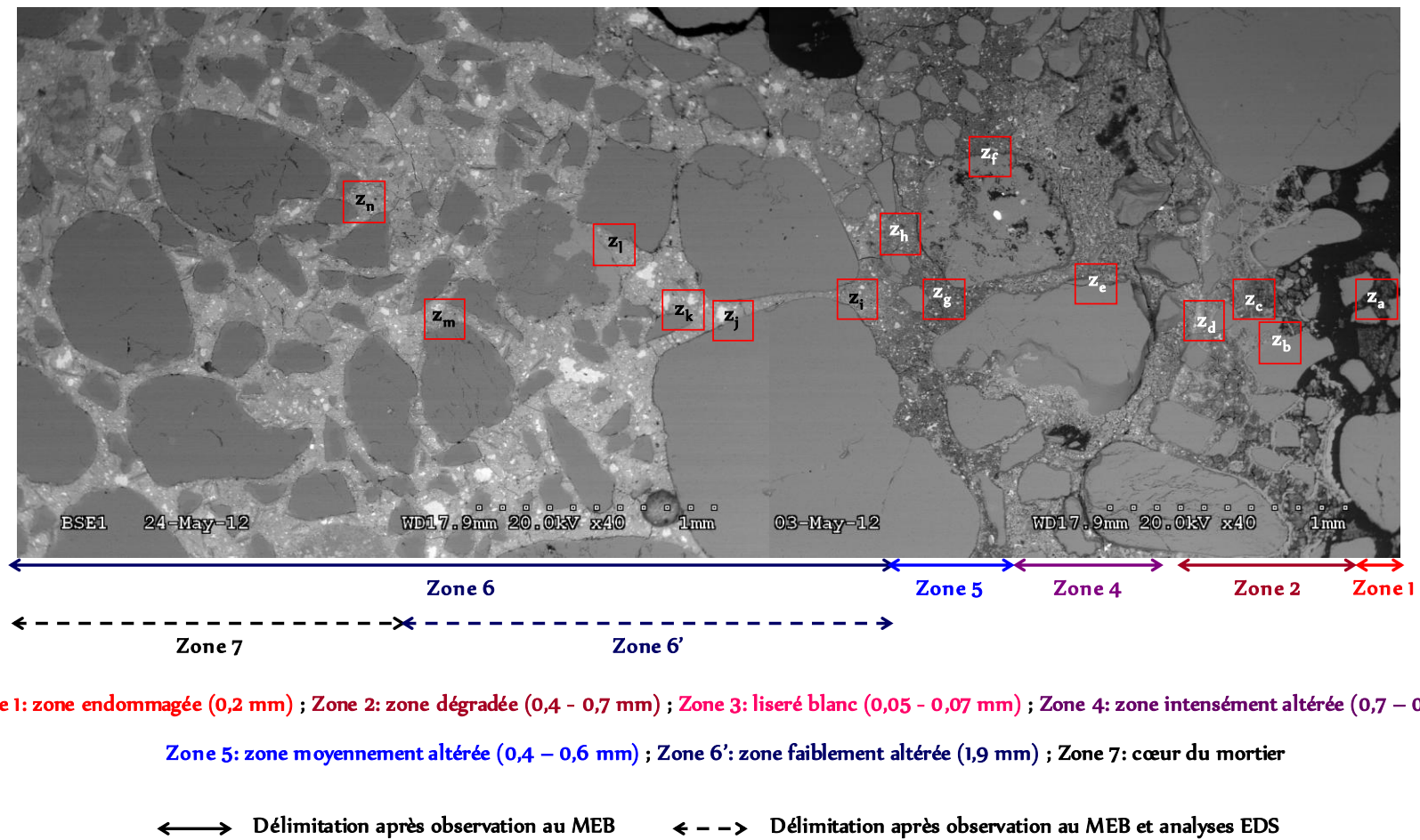


Figure 69 : Observations au MEB du mortier OPC OA4y après 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

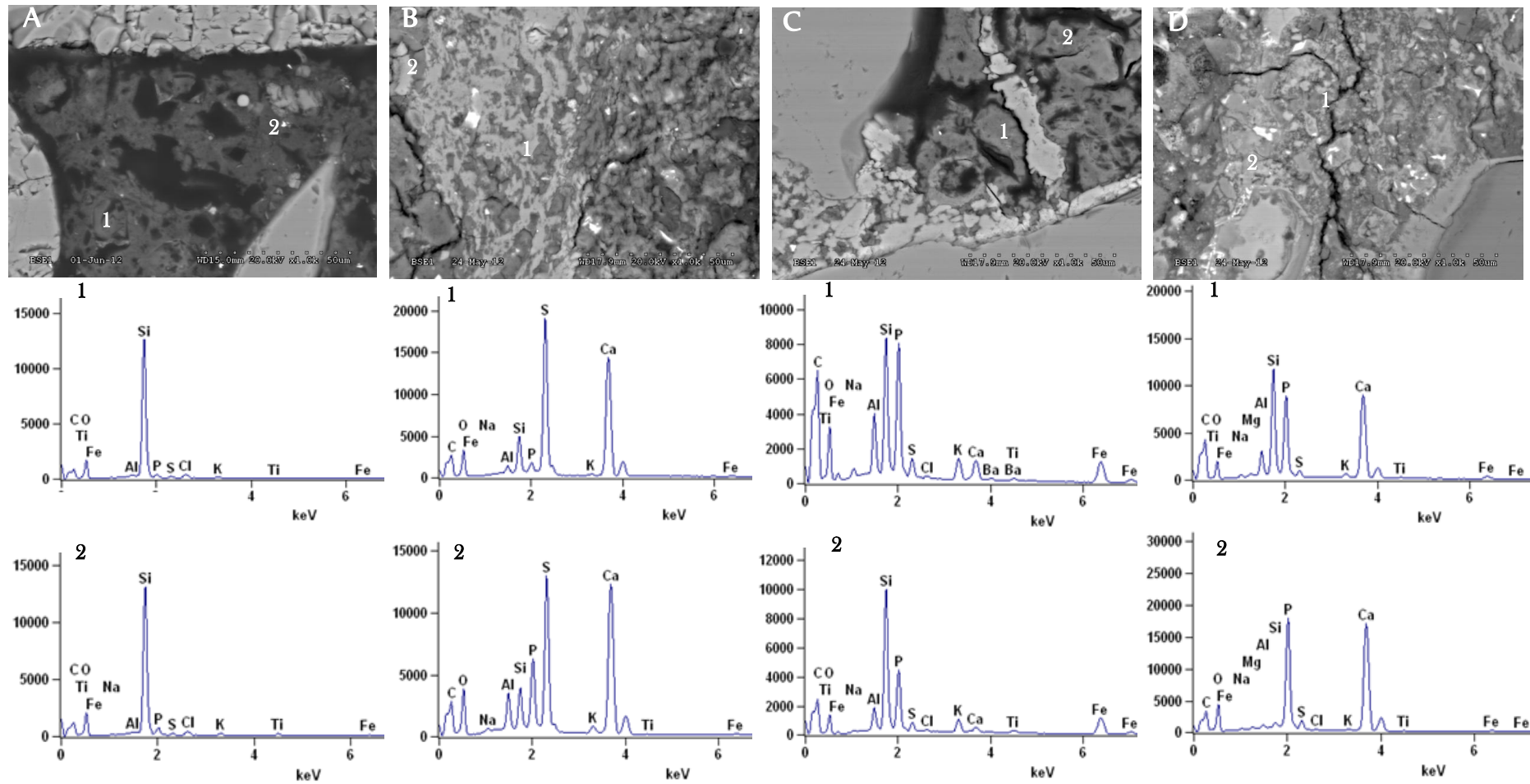


Figure 70 : Analyses EDS de certaines zones du mortier OA4y après 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

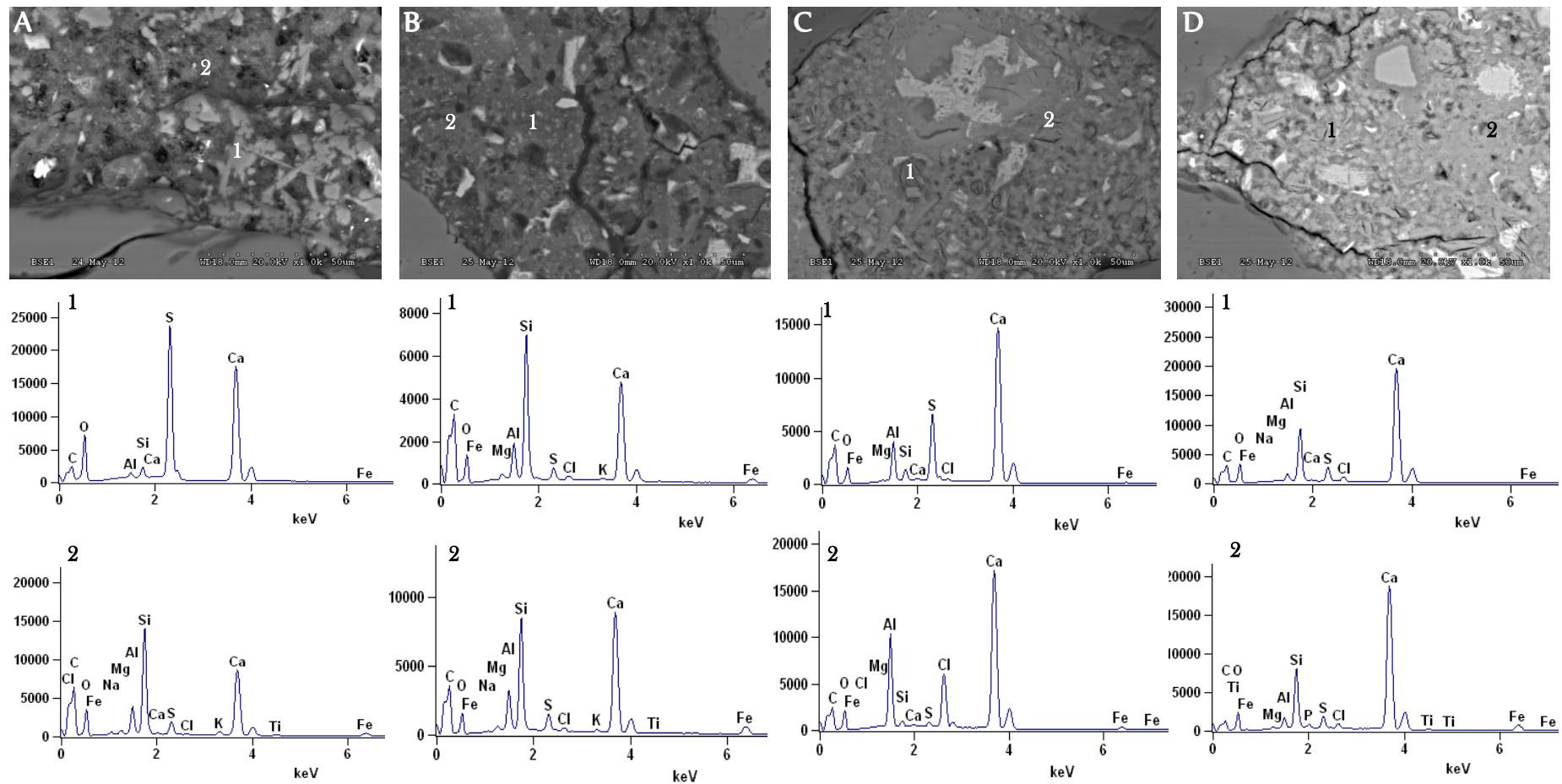


Figure 71 : Analyses EDS de certaines zones du mortier OA4y après 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

Les analyses EDS ont permis de déterminer les évolutions des compositions chimiques élémentaires et indirectement minéralogiques des différentes zones mises en évidence par l'observation MEB. Elles ont ainsi permis de mieux définir les différentes zones détériorées du mortier. De plus, les cartographies chimiques ont permis d'établir des cartes de répartition des différents éléments présents dans le mortier (Figures 69 – 74).

- La zone 1 ou zone endommagée (0,2 mm), très poreuse, renferme une pâte de ciment gris sombre. Elle est essentiellement constituée de Si (Figures 69 - z_a, 70 A et 73 C). Elle correspond à du gel de silice issu de la dissolution complète des C-S-H (Chapitre 1, Équation 31) [Faucon *et al.*, 1997]. Ainsi, la zone 1 est constituée de gel de silice, phase la moins soluble en condition acide.
- La zone 2 ou zone dégradée (0,4 – 0,7 mm) a une pâte de ciment riche en éléments provenant du milieu réactionnel, S, P et K (Figures 69 – z_{b-d}, 74 A, 74 B et 74 C). Elle a une porosité importante. La pâte de ciment contient également une quantité importante de Ca, de Si, d'Al et de Fe (Figures 73 A – D). Des analyses EDS ponctuelles ciblées dans la couche gris clair, qui recouvre une grande partie de la zone 2, indiquent qu'elle est majoritairement constituée de calcium et de soufre en proportions similaires (Figure 70 B). Il s'agit très certainement du gypse ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), issu de l'attaque de l'acide sulfurique (H_2SO_4) sur les phases secondaires décalcifiées telles que les silicates de calcium (C-S-H). En effet, dans les zones périphériques très attaquées du mortier, l'hydroxyde de calcium est très rapidement dissous. Ainsi, l'acide sulfurique généré par l'activité bactérienne de *A. thiooxidans* attaque les phases secondaires, donc les silicates de calcium (C-S-H) (Chapitre 1, Équation 31).

Selon plusieurs auteurs (Herisson, 2012 ; Fernandes *et al.*, 2012 ; Okabe *et al.*, 2007), dans les égouts, la présence de couche de gypse est le signe que le matériau cimentaire est en cours de biodétérioration (Figures 20 et 72 A). Le gypse a également été retrouvé par Hajj Chehade (2010) dans des mortiers OPC au cours d'essais de biodétérioration par la même BSO (Figure 24).

Par ailleurs, les analyses MEB réalisées sur le mortier OA4y (Figures 70 D et E) révèlent une plus importante concentration de gypse autour des grains de silice. Ce phénomène a également été constaté par Monteny *et al.* (2010) au cours de l'attaque d'une pâte de ciment OPC par une solution agressive de sulfate de sodium.

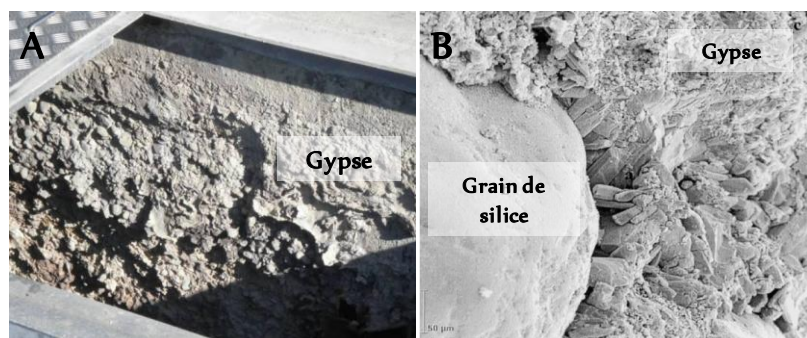


Figure 72 : A - Photographie de l'intérieur d'un égout dont les parois sont recouvertes d'une couche de gypse [Herisson, 2012]. B - Analyse MEB de cristaux de gypse formé dans la pâte de ciment à côté d'un granulats siliceux après attaque par l'acide sulfurique [Monteny *et al.*, 2010].

Il a été noté que le gypse n'a pas été identifié dans la zone 1 ou zone endommagée. Du fait de la faible concentration d'ions sulfate en solution (Tableau 24), le gypse a très certainement été destabilisé et dissous par l'environnement plus acide de la zone 1, acidité liée au fait que cette zone se trouvant à la surface du mortier est en contact direct avec le milieu réactionnel (qui a un pH très acide $\sim 1,9$). La formation de gypse est responsable de la précipitation d'ions sulfate constaté dans les mortiers pendant les cycles de biodétérioration (Figure 58, tableau 24).

Par ailleurs, les analyses EDS faites dans la pâte de ciment en dehors de la couche de gypse révèlent des rapports Ca/Si faibles compris entre 0,9 et 1,3 alors que ceux d'un mortier sain est de l'ordre 3,7 (Figure 37). Ce rapport Ca/Si augmente en s'éloignant de la surface du mortier, traduisant un enrichissement de la pâte de ciment en Ca. Par conséquent, la zone 2 doit très certainement être composée en plus du gypse, de silicate de calcium (C-S-H) de bas rapport Ca/Si (silicate de calcium décalcifié). Elle est également composée de gel de silice (SiO_2) ; d'hydroxyde d'aluminium ($\text{Al}[\text{OH}]_3$), résultat de la dissolution complète des phases alumineuses ; d'hydroxyde de fer ($\text{Fe}[\text{OH}]_3$), résultat de la dissolution complète des phases alumino-ferrites et d'un composé minéral de type AlPO_4 , par exemple la variscite ($\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), responsable de la quantité importante de phosphore retrouvé dans le mortier (Figure 74 B) [Alexander and Fourie 2011 ; Faucon *et al.*, 1997 ; Romben, 1979]. La présence de quantités significatives de K, Na et Fe dans la périphérie extérieure de cette zone, pourrait signifier la présence de taranakite ($[\text{K,Na}]_3[\text{Al,Fe}^{3+}]_5[\text{PO}_4]_2[\text{HPO}_4]_6[\text{H}_2\text{O}]_{18}$) précipité dans le mortier (Figure 70 C). La présence de cette phase est également à relier avec de la diminution des ions phosphate observée en solution pendant les cycles de biodétérioration (Figure 59, tableau 25). Ainsi, la zone 2 est constituée d'un mélange de phases telles que le gel de silice, l'hydroxyde d'aluminium, l'hydroxyde de fer, la variscite, la taranakite, les silicates de calcium décalcifiés et le gypse.

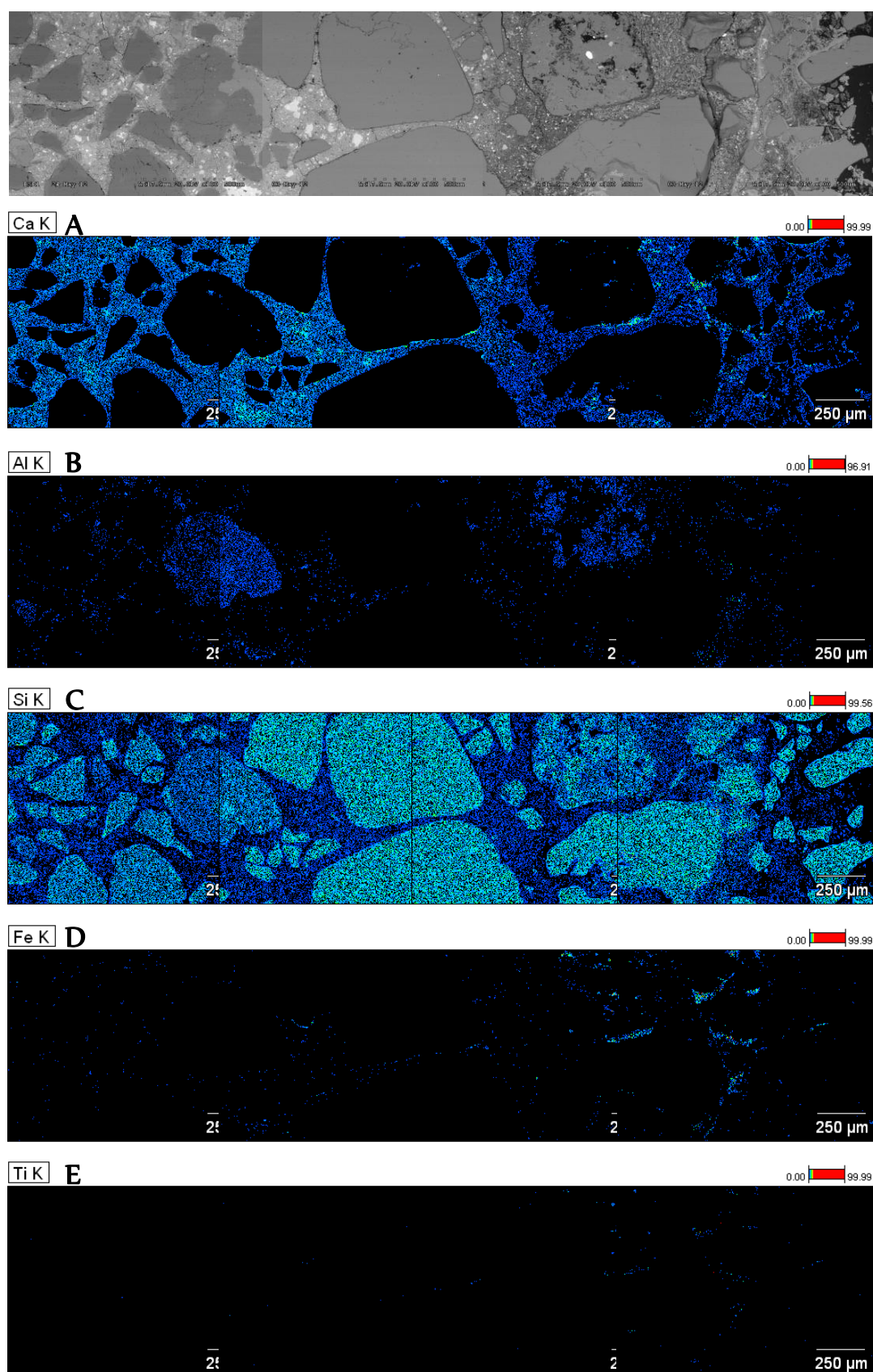


Figure 73 : Cartographies des éléments Ca, Si, Al, Fe et Ti contenus dans la bordure du mortier OPC OA4y après 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

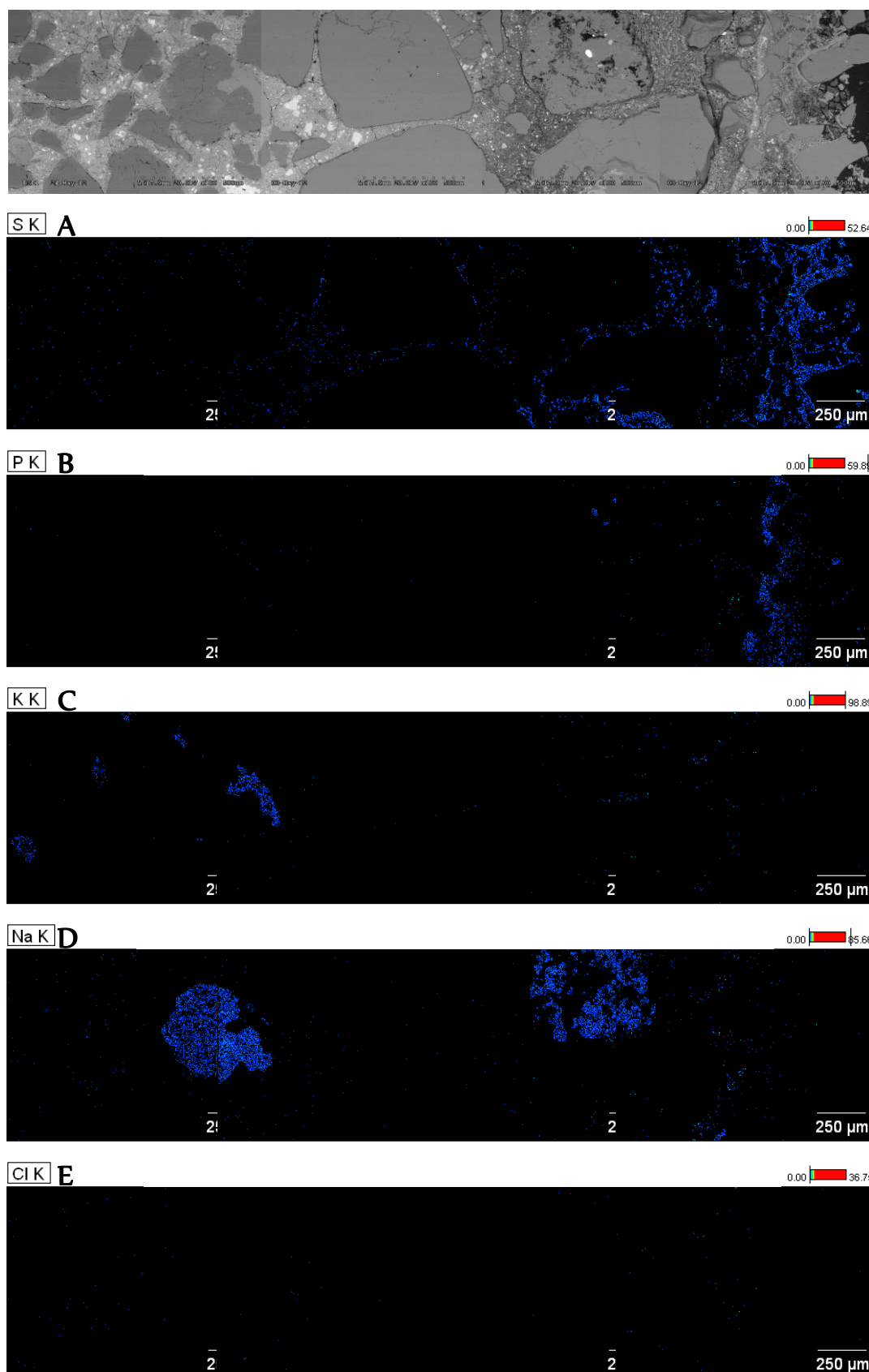


Figure 74 : Cartographies des éléments S, P, K, Na et Cl contenus dans la bordure du mortier OPC OA4y après 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

- Pour la zone 3 correspondant à un liseré blanc (0,05 – 0,07 mm), les analyses EDS ont révélé qu'il est constitué d'importantes quantités de Ca et P et de faibles quantités de Si et S (Figures 73 A, 73 C, 74 A et 74 B). Ces quantités élevées de Ca et de P pourraient correspondre à de l'hydroxyapatite ($\text{Ca}_5[\text{PO}_4]_3[\text{OH}]_{18}$) (Figure 70 D), phase également identifiée par Hajj Chehade (2010) au cours de biodétérioration de mortier OPC par des BSO. Ainsi, la zone 3 est majoritairement constituée d'hydroxyapatite qui contribue également à la diminution de la concentration en ions phosphate de la solution (Figure 59, tableau 25).
- La zone 4 ou zone intensément altérée (0,7 – 0,8 mm), juxtaposant le liseré blanc, est constituée d'une couche compacte poudreuse gris clair majoritairement composé de S et de Ca (Figures 69 - z_c , 71 A, 73 A, 74 A). Il s'agit, comme dans la zone 2, de gypse ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Des analyses EDS de certains points dans cette zone indiquent des rapports Ca/Si plus importants (~ 1,6) que ceux de la zone 2. Cette augmentation traduit un enrichissement de la pâte de ciment en Ca et par conséquent la présence de silicate de calcium (C-S-H) de bas rapport Ca/Si et d'ettringite ($\text{C}_6\text{A}_3\text{H}_{32}$) n'ayant pas encore été dissoutes par l'acide (Figure 71 A). Toutefois, cette zone intensément altérée est complètement dépourvue de phosphore (Figure 74 B). Les analyses MEB révèlent également la présence de grains d'alumino-ferrites tétracalciques (C_4AF) ne s'étant pas encore hydratés (Figure 71 A). Ainsi, la zone 4 est constituée de silicates de calcium décalcifiés, de gypse, d'ettringite et d'alumino-ferrites tétracalciques.
- La zone 5 ou zone moyennement altérée (0,4 – 0,6 mm) est riche en Ca, Si, Al, Fe et S (Figures 69 - z_{f-h} , 73 A – D, 74 A). Les analyses EDS ponctuelles indiquent des rapports Ca/Si plus importants (1,6 - 2,0) que ceux de la zone 4. Ces augmentations traduisent un enrichissement de la pâte de ciment en Ca. De plus, comme dans la zone 4, les analyses EDS ponctuelles n'ont révélé aucune similarité entre les quantités de S et celles de Ca. Cependant, en certains points, la quantité de S semble trop faible pour que la phase correspondante soit de l'ettringite, nous avons donc supposé la présence de monosulfo-aluminate de calcium (Figure 71 B). Par ailleurs, les analyses EDS indiquent des proportions de Fe beaucoup plus importantes que dans la zone 4. Il s'agit également des alumino-ferrites tétracalciques (C_4AF) (Figure 71 B). En outre, des quantités négligeables de Cl (entre 0,1 et 1,6%) ont été mesurées dans la pâte de ciment (Figure 71 B). Ainsi, la zone 5 est constituée d'ettringite, de silicates de calcium décalcifié, d'alumino-ferrite tétracalcique et de monosulfo-aluminate de calcium.
- La zone 6 ou zone faiblement altérée (1,9 mm) est riche en Ca, en Si, en Al et en S (Figures 69 - z_{i-m} , 73 A – C, 74 A). Les analyses EDS ponctuelles dans cette zone indiquent des

pourcentages de S qui montent jusqu'à 11% (Figure 71 C). Or des analyses EDS ponctuelles dans le cœur du mortier (1,3 cm de la surface) ou d'un mortier témoin sain indiquent des pourcentages atomiques de soufre inférieur à 4 %. Ainsi, cette zone 6 qui contient un pourcentage de soufre supérieur à 4 % a été incluse dans la zone dégradée. Ainsi, les observations MEB seules ne sont pas suffisantes pour estimer l'épaisseur réellement attaquée d'un échantillon de mortier lors de l'essai de biodétérioration. Le couplage aux analyses EDS permet d'affiner la mesure.

Par ailleurs, les analyses EDS ponctuelles indiquent des rapports Ca/Si plus importants (2,4 – 3,1) que ceux de la zone 5, laissant penser à l'existence de portlandite (Figure 71 C). Des quantités de Cl plus importantes ont été mesurées dans la pâte de ciment (entre 0,1 et 8%), laissant penser à l'existence de phases chlorées telles que le monochloroaluminate de calcium hydraté (Figure 71 C) [Taylor, 1997]. La plus grande quantité de chlore dans cette zone est très certainement liée à la valeur plus élevée du rapport Ca/Si. En effet, plus ce dernier est important, plus la fixation du chlore est importante [Beaudoin *et al.*, 1990]. Toutefois, comme le montre la cartographie du Cl, très peu de phases chlorées ont été retrouvées dans l'échantillon de mortier (Figure 74 E). Ainsi, le Cl ne semble pas participer à l'altération du mortier. Ainsi, la zone 6 est constituée d'ettringite, de silicates de calcium décalcifié, de monosulfo-aluminate, d'alumino-ferrite tétracalcique et de portlandite, ce dernier est certainement en cours de dissolution.

- La zone 7 ou « zone saine » est riche en Ca, en Si, en Al et en S (Figures 69 – z_n, Figure 73 A – C, 74 A). Les analyses EDS ponctuelles dans cette zone indiquent des pourcentages de soufre de l'ordre de 2 % (Figure 71 D) comparable à ceux d'un mortier sain. Par ailleurs, des analyses EDS ponctuelles indiquent des rapports Ca/Si plus importants (3,4) que ceux de la zone 6 et du même ordre que celui d'un mortier sain (3,7).

Par ailleurs, comme pour l'analyse DRX de la pâte de ciment du mortier OPC avant l'essai de biodétérioration, aucune présence d'aluminate tricalcique, de silicate bicalcique ou tricalcique n'a été détectée après analyse MEB. Ainsi, comme indiqué par certains auteurs, un rapport E/C de 0,5 est largement suffisant pour permettre l'hydratation et la conversion totales des minéraux composant la pâte de ciment OPC [Moudilou, 2000 ; Powers, 1996].

Bien qu'il y ait beaucoup de gypse qui ait été formé dans le mortier, il ne peut cependant pas être admis que ce dernier soit responsable de l'augmentation du diamètre du mortier observé au cours de l'analyse macroscopique. En effet, la zone superficielle du mortier présente une porosité très importante que ne pourrait combler le gypse formé au cours de l'essai de biodétérioration. Ainsi, l'augmentation du diamètre du mortier serait plutôt due à l'imprégnation du mortier dans la résine.

Par contre, bien qu'une détérioration de mortier ait été prouvée dans cet essai de biodétérioration en laboratoire, il nous est toutefois impossible de comparer les vitesses de biodétérioration de cette étude à celles retrouvées dans la littérature scientifique [Gutiérrez-Padilla *et al.*, 2010 ; De Belie *et al.*, 2004 ; Mori *et al.*, 1992]. En effet, au cours de l'essai présent, les phases secondaires issues de l'attaque acide du mortier OPC, notamment le gel de silice, précipitent à la surface du mortier rendant inaccessible l'épaisseur totalement détériorée par l'acide sulfurique biogénique. Toutefois, il est possible d'estimer par analyse MEB/EDS l'épaisseur altérée après l'essai de biodétérioration.

L'estimation de l'épaisseur altérée après l'essai de biodétérioration est basée sur la profondeur de migration des ions sulfate du milieu réactionnel vers le mortier. L'épaisseur altérée a été estimée à $4,0 \pm 0,2$ mm. Toutefois, afin de mesurer l'intensité de l'essai de biodétérioration (prenant en compte la pré-lixiviation) une épaisseur totale attaquée a été définie. Elle correspond à la somme des épaisseurs totales complètement détériorées ou épaisseur perdue (évaluée par analyse visuelle) et de l'épaisseur altérée (évaluée par analyses MEB/EDS) :

$$\text{Épaisseur}_{\text{totale attaquée}} = \text{Épaisseur}_{\text{perdue}} + \text{Épaisseur}_{\text{altérée}}$$

L'épaisseur totale attaquée est donc égale à $4,4 \pm 0,2$ mm. Elle correspond à l'attaque de 54% du volume initial du mortier OA4y (63 x 29 mm) et à une vitesse d'attaque de $18,3 \pm 1,4$ mm/an.

Afin de pouvoir comparer cette vitesse d'attaque à celle mesurée par Hajj Chehade (2010) cette dernière a été normalisée par le volume total attaqué du mortier. La vitesse normalisée a été appelée Vitesse d'attaque volumique (V_D). Plus la vitesse volumique d'attaque (V_D) est élevée, plus l'attaque est importante et plus l'essai est performant.

$$V_D = \text{Vitesse d'attaque} / \text{Volume total attaqué}$$

La V_D ou vitesse volumique d'attaque du mortier OA4y ($0,8 \pm 0,1$ mm.an⁻¹.cm⁻³) est 18% supérieure à celle déterminée dans l'essai de biodétérioration de Hajj Chehade (2010) pour un mortier OPC également attaqué par la BSO *A. thiooxidans* ($0,7$ mm.an⁻¹.cm⁻³) pendant la même durée. Il en ressort que notre essai de biodétérioration présent est plus intense que celui de Hajj Chehade (2010) car pour une même durée, un volume de matériau plus important est dégradé au cours de l'essai présent. Cette différence de vitesse est certainement à mettre en relation avec un ratio volume solution / volume échantillon plus grand pour l'essai présenté dans ce travail.

1.2.2.2 Le mortier OA2 (2 cycles de biodétérioration / 1,5 mois)

L'observation et l'analyse du mortier OA2 au MEB/EDS (Figure 75) semblent indiquer la présence de 6 zones au lieu de 7 comme pour le mortier OA4y attaqué durant 4 cycles. En effet, le mortier OA2 est dépourvu de la zone intensément altérée. Ainsi, en allant de la surface au cœur, on y trouve :

- La zone 1 ou zone endommagée. Contrairement au mortier OA4y, le gel de silice ne s'est pas complètement détaché du reste du mortier au cours de l'inclusion du mortier dans la résine (Figures 75 - z_{a-b} et 76 A).
- La zone 2 ou zone dégradée. Elle a une épaisseur (0,4 mm) inférieure à celle du mortier OA4y (0,4 – 0,7 mm) (Figure 75 – z_{c-d}). Comme dans le mortier OA4y, elle est constituée de gel de silice (Figure 76 B), d'hydroxyde d'aluminium et de fer, de variscite, de C-S-H décalcifiés et d'une couche poudreuse constituée de gypse (Figures 75 – z_{c-d} et 76 B). Elle est par contre dépourvue de taranakite.
- La zone 3 ou liseré blanc correspond à l'hydroxyapatite (Figures 75 – z_d et 76 C). Elle a une épaisseur du même ordre que celle du mortier OA4y. Contrairement à ce dernier, aucune couche poudreuse (zone intensément altérée) n'a été retrouvée après le liseré blanc.
- La zone 4 ou zone moyennement altérée. Elle a une épaisseur (0,6 – 0,7 mm) supérieure à celle du mortier OA4y (0,4 – 0,6 mm) (Figure 75 – z_{e-f}). Contrairement au mortier OA4y, cette zone contient une moindre quantité de Fe et une faible quantité de S (Figure 75 – z_e , z_f) et les rapports Ca/Si y sont inférieurs (0,9 – 1,3 au lieu de 1,6 – 2,0 dans le mortier OA4y). Elle est constituée de C-S-H décalcifiés, d'alumino-ferrite tétracalcique, de monosulfo-aluminate de calcium et très certainement d'ettringite (Figure 76 D).
- La zone 5 ou zone faiblement altérée, dont l'épaisseur (1,1 – 1,4 mm) est inférieure à celle du mortier OA4y (1,9 mm) (Figure 75 – z_{e-f}). Cette zone, comme pour le mortier OA4y, est riche en Ca, en Si, en Al et en S (Figure 75 – z_{g-h} ; Figure 76 E). Elle est constituée d'alumino-ferrite tétracalcique, de C-S-H décalcifiée, de monosulfo-aluminate de calcium, d'ettringite et d'hydroxyde de calcium.
- La zone 6 ou « zone saine » de même composition que la zone 7 du mortier OA4y.

L'épaisseur altérée mesurée par MEB/EDS a été estimée à $2,80 \pm 0,1$ mm. L'épaisseur totale attaquée est de $3,2 \pm 0,2$ mm. Elle correspond à l'attaque de 42% du volume initial du mortier OA2 (63 x 29 mm) et à une vitesse d'attaque de $25,5 \pm 2,0$ mm/an. Cette dernière a été normalisée au volume attaqué afin d'être comparée à celle du mortier OA4y (4 cycles de biodétérioration).

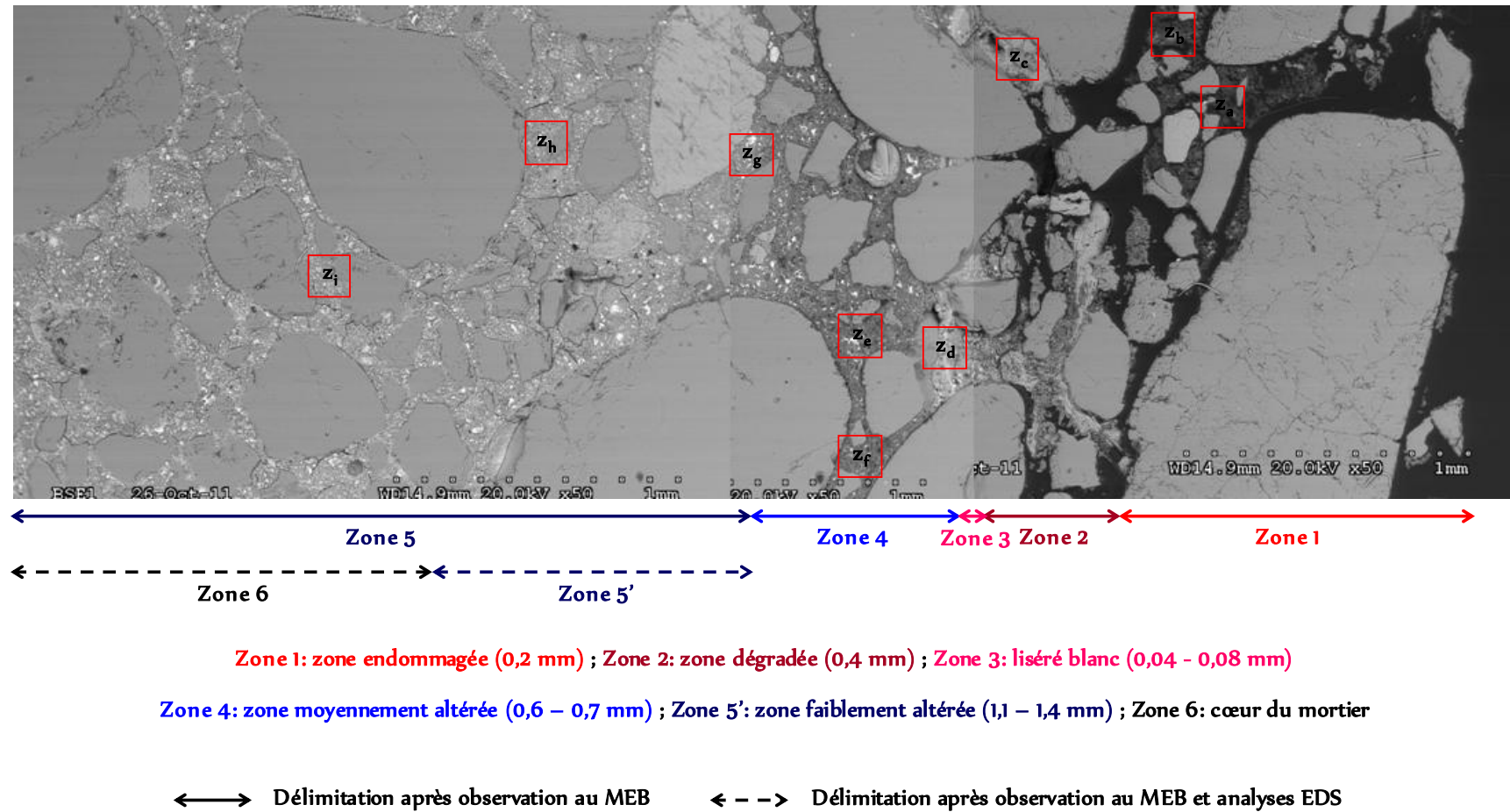


Figure 75 : Observations au MEB du mortier OPC OA2 après 2 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

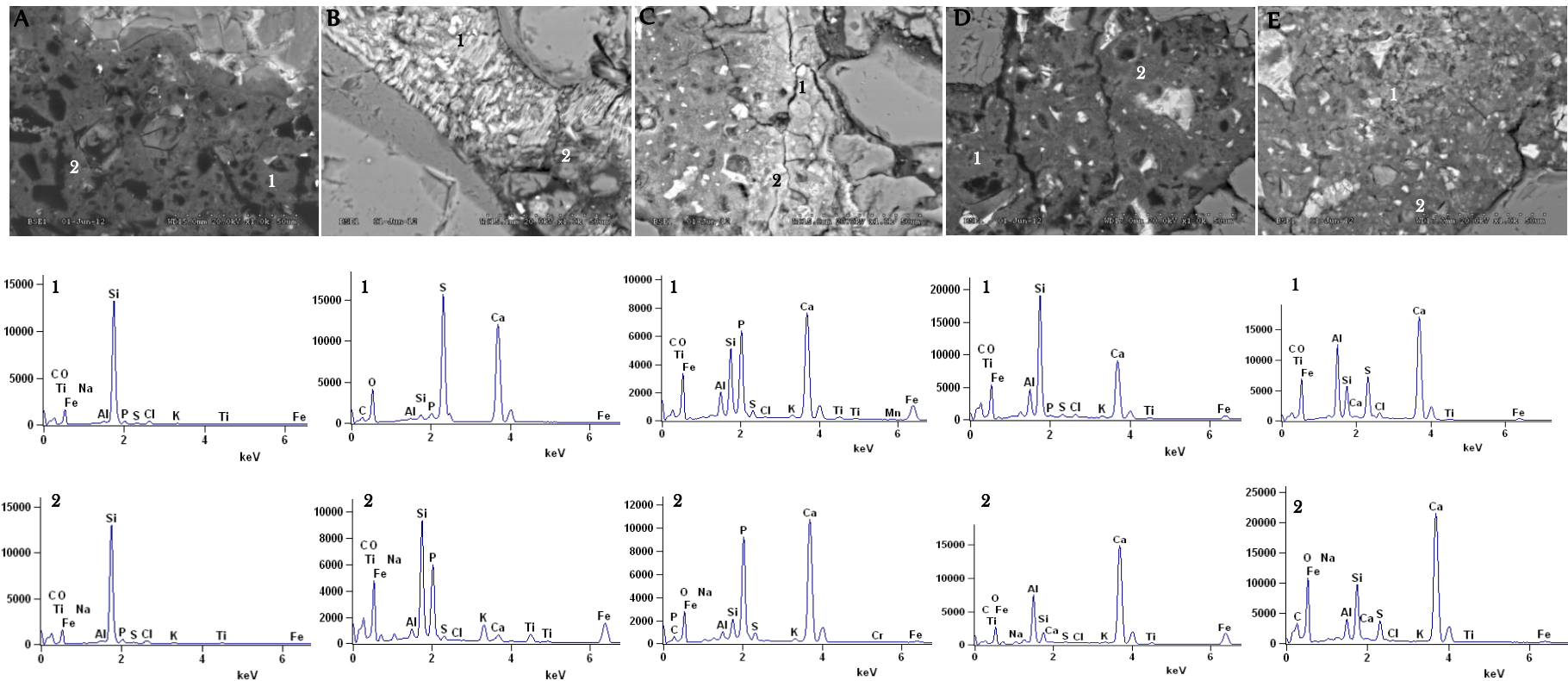


Figure 76 : Quelques analyses EDS de certaines zones du mortier OA2 après 2 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

La V_D ou vitesse volumique d'attaque du mortier OA2 ($1,5 \pm 0,1 \text{ mm.an}^{-1}.\text{cm}^{-3}$) est environ 2 fois plus importante que celle du mortier OA4y ($0,8 \pm 0,1 \text{ mm.an}^{-1}.\text{cm}^{-3}$). Ainsi, la vitesse de l'attaque des mortiers OPC semble diminuer dans le temps. Elle est plus importante au premier stade de l'essai de biodétérioration. Cette tendance pourrait être liée à l'intensité de la pré-lixiviation et/ou à la progression de la porosité du mortier. Cette dernière se traduit par l'augmentation de la surface réactionnelle due à l'enrichissement du mortier en phases de moins en moins solubles.

1.2.2.3. L'évolution dans le temps de la microstructure du mortier OPC

Une analyse comparative des sections des mortiers OA4y et OA2 a révélé que le mortier OA4y est à un stade de détérioration plus avancé que le mortier OA2 (Figure 77). En effet, l'épaisseur totale attaquée du mortier OA4y ($4,4 \pm 0,32 \text{ mm}$) est supérieure à celle du mortier OA2 ($3,2 \pm 0,2 \text{ mm}$).

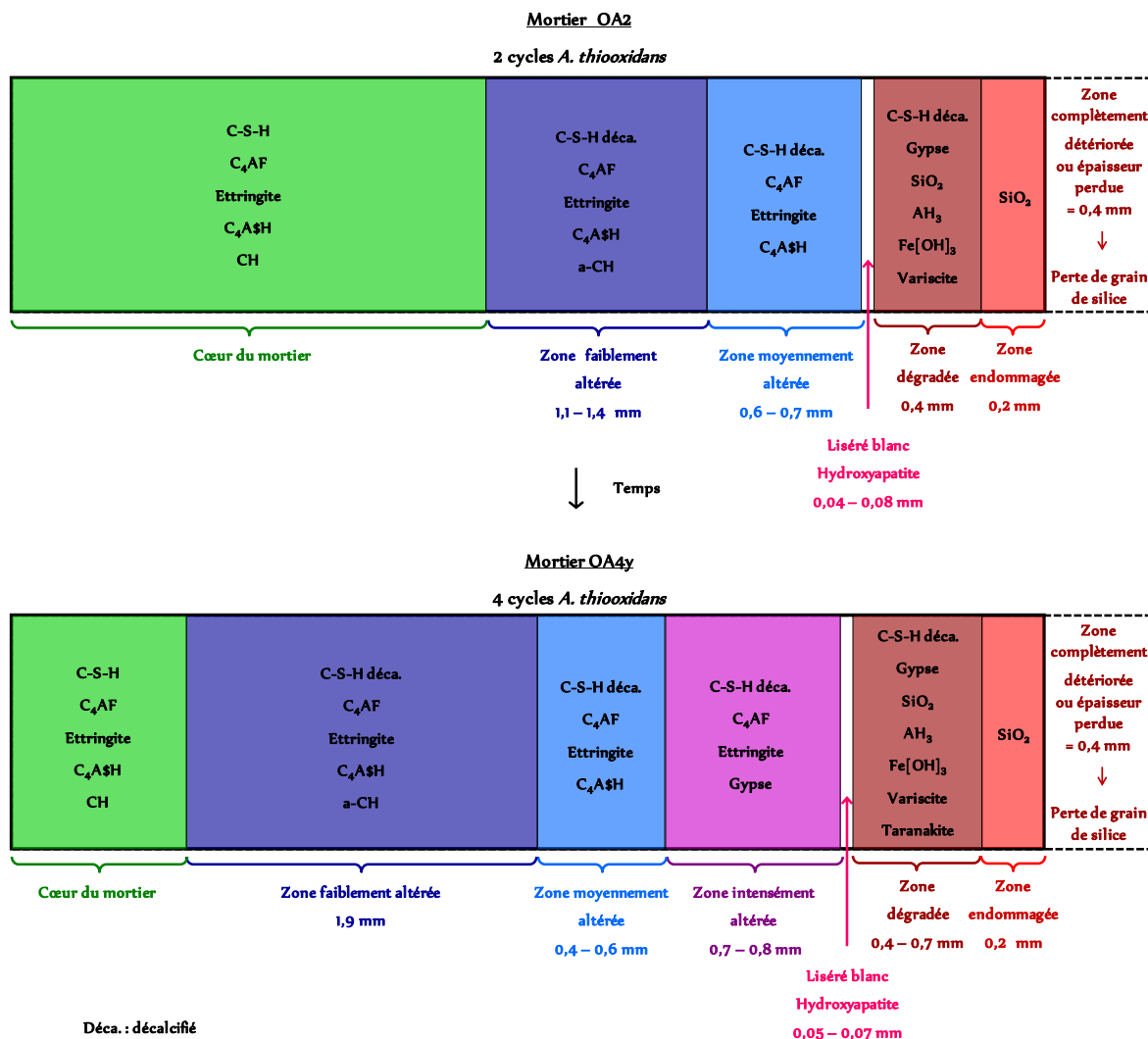


Figure 77 : Représentation schématique de la zonation des mortiers AO4y et AO2 après respectivement 4 cycles et 2 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*. L'indice « a » indique que les phases ne sont pas stables et donc sont partiellement dissoutes dans la zone.

Au cours de l'essai de biodétérioration, une zone intensément altérée, absente après les deux premiers cycles de biodétérioration (OA2), apparaît après 4 cycles de biodétérioration (OA4y) (Figure 77). Ainsi, la zonation du mortier OPC évolue dans le temps, de 6 zones détériorées après les deux premiers cycles de biodétérioration (OA2) elle passe à 7 zones après 4 cycles de biodétérioration (OA4y) (Figure 77). L'épaisseur des différentes zones détériorées augmente faiblement au cours du temps, à l'exception de la zone faiblement altérée. En effet, cette dernière passe de $1,25 \pm 0,21$ mm dans le mortier OA2 à 1,9 mm dans le mortier OA4y (Figure 78).

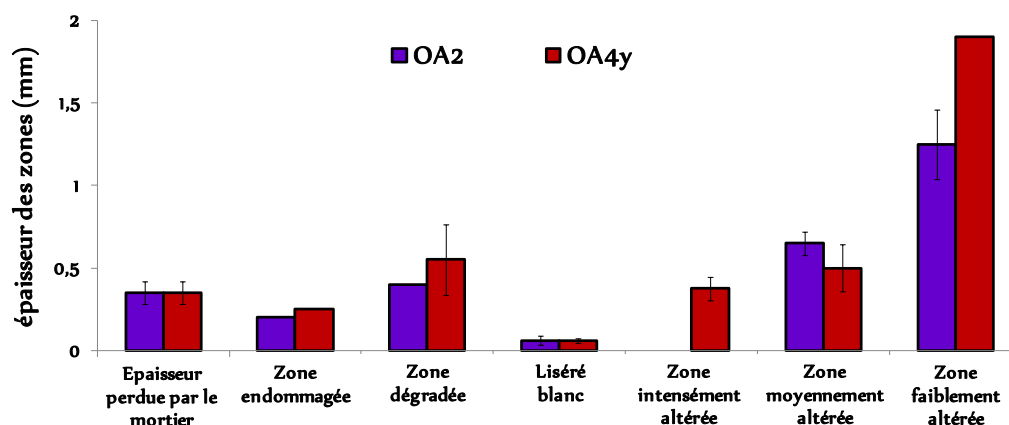


Figure 78 : Évolution dans le temps des épaisseurs des différentes zones composant le mortier OPC soumis à un essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

1.3. Conclusions

L'analyse minéralogique du mortier OA4y après les 4 cycles de biodétérioration révèle la présence d'une couche superficielle riche en Si correspondant au gel de silice (Figures 70 A et 73 C). Ce gel de silice, très peu soluble, est le stade final de la décalcification de C-S-H en milieu acide [Alexander and Fourie, 2011 ; Lea, 1970]. La présence du gel de silice est en accord avec le faible relargage de Si en solution, la diminution de la vitesse de relargage du Si et l'augmentation du ratio Ca/Si observées au cours des cycles de biodétérioration (Figures 61, 63 et 64).

De grandes quantités de gypse et d'ettringite ont été identifiées dans le mortier au cours des analyses MEB/EDS (Figures 69, 70 B, 71 C). La présence de ces phases avait été supposée en analysant les quantités d'ions sulfate en solution comparativement à l'activité bactérienne les produisant (Figure 58, tableau 26).

Des phases phosphatées, taranakite, variscite et hydroxyapatite, ont également été identifiées dans les zones superficielles des mortiers (Figures 69 et 70 D). Ces dernières sont en accord avec la diminution de la concentration en phosphates observée au cours des cycles de biodétérioration (Figure 59, tableau 27).

L'analyse microscopique des mortiers a permis d'affiner la mesure de l'épaisseur attaquée au cours des cycles de biodétérioration. En effet, grâce à des analyses MEB/EDS, il a été possible de suivre la progression des éléments du milieu réactionnel vers le mortier, notamment le sulfate. Ce suivi a permis d'évaluer avec exactitude la vitesse volumique d'attaque des mortiers. La V_D ou vitesse volumique d'attaque du mortier OA4y ($0,8 \pm 0,1 \text{ mm.an}^{-1}.\text{cm}^{-3}$) est environ 2 fois inférieures à celle du mortier OA2 ($1,5 \pm 0,1 \text{ mm.an}^{-1}.\text{cm}^{-3}$). Or, contrairement à la vitesse volumique d'attaque, la vitesse de relargage moyenne des éléments chimiques du mortier OA4y ($9,0\text{E-}02 \text{ mol.j}^{-1}.\text{m}^{-2}$) est supérieure à celle du mortier OA2 ($7,9\text{E-}02 \text{ mol.j}^{-1}.\text{m}^{-2}$). Deux remarques peuvent être faites pour tenter d'expliquer ces résultats. Le mécanisme initial d'attaque est basé sur la diffusion dont la cinétique est en racine du temps conduisant donc à une diminution progressive de la vitesse d'attaque relative à l'évolution temporelle de la profondeur attaquée. Par contre, au cours du temps, le volume attaqué est de plus en plus important, ce qui conduit logiquement à plus de relargage moyen. D'autre part, il convient de considérer l'effet mémoire du mortier sur son comportement lors des différents cycles de l'essai. Dans le cas présent, la pré-lixiviation qui a été très intense, induit forcément un relargage moindre dans les premiers cycles de biodétérioration.

Les analyses MEB/EDS révèlent que les zones 1 – 4 ont une porosité importante. Dans ces zones, la cinétique de l'attaque est gouvernée par des mécanismes de dissolution de minéraux peu solubles. Par contre, les zones 5 et 6 ont une porosité faible et la cinétique d'attaque est gouvernée par la diffusion. Ainsi, les fractions cumulées relarguées en solution correspondent à la contribution des différentes zones et donc de différents mécanismes cinétique. En conséquence, les fractions cumulées relarguées en solution sont de façon moyenne à la fois proportionnelle au temps et à la racine du temps.

2. Analyse de l'essai de biodétérioration du mortier CAC

2.1. L'évolution du milieu réactionnel

2.1.1. L'évolution du pH

L'évolution du pH des milieux réactionnels en contact des mortiers CAC indique que, comme pour les mortiers OPC, les essais sont répétables (Figure 79). Au cours du premier cycle de biodétérioration, il a été observé une période de latence plus courte que celle des mortiers OPC. Cette dernière a duré que 1 jour, au lieu de 5 jours pour le mortier OPC, et a également disparu aux cycles suivants. De même, hormis pour le cycle 1, le pH du milieu réactionnel diminue très rapidement après chaque renouvellement. Au cours des cycles de biodétérioration, comme pour le mortier OPC, le pH atteint par le milieu réactionnel à la fin de chaque cycle est de plus en plus bas

(Figure 80). Par ailleurs, hormis pour le cycle 1, les milieux réactionnels au contact des mortiers CAC ont des valeurs de pH plus élevées que ceux au contact des mortiers OPC (Figure 80). Ces résultats sont peut-être dus au fait que la production d'acide sulfurique par les BSO pourrait être moins importante au contact des mortiers CAC.

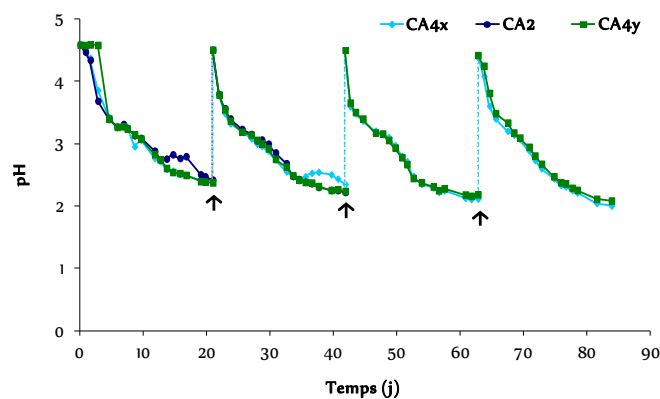


Figure 79 : Évolution du pH des milieux réactionnels en contact de mortiers CAC (CA4x, CA4y, CA2) au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans* (↑ renouvellement du milieu réactionnel).

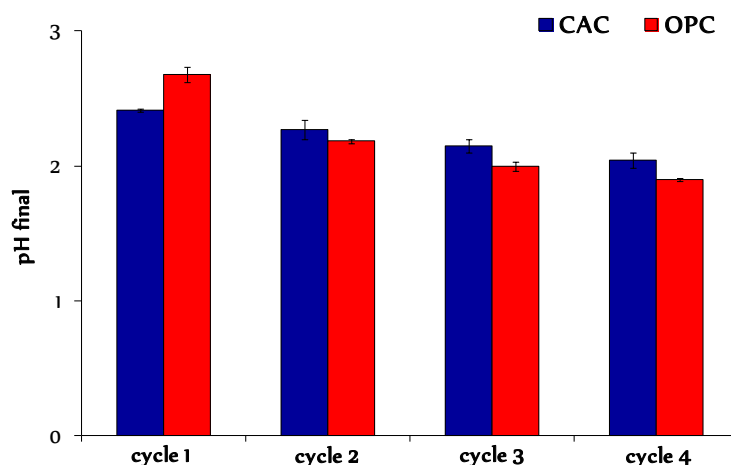


Figure 80 : pH moyens finaux des milieux réactionnels en contact de mortiers CAC et OPC au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

2.1.2 Évolutions des concentrations des constituants du milieu de croissance et estimation de la quantité d'acide sulfurique biogénérée

Au cours de l'essai de biodétérioration, aux premiers jours de chaque cycle, un précipité blanc a été observé dans le milieu réactionnel ; ce dernier a persisté au-delà des 21 jours pour les cycles 1, 2 et 3 (Figures 81 B et C). Ce précipité a disparu à la fin du cycle 4.

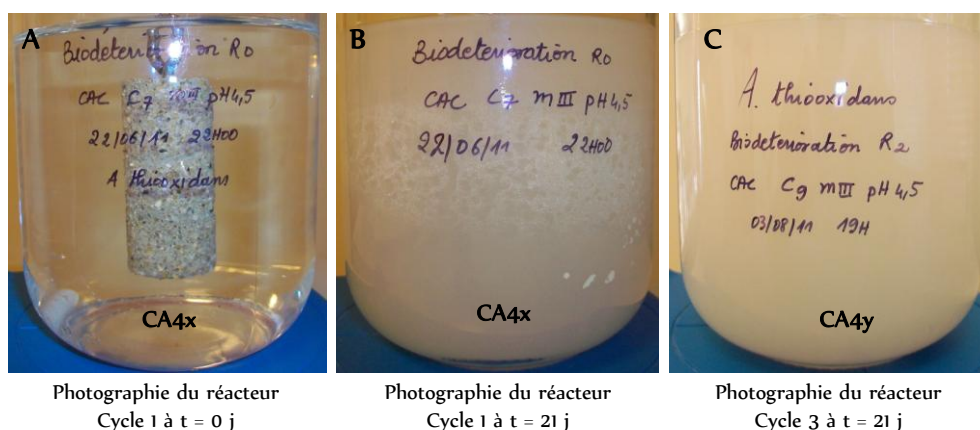


Figure 81 : Etat du milieu réactionnel avant et après la mise en œuvre de cycle de biodétérioration de mortiers CAC avec *A. thiooxidans*.

Le précipité obtenu à la fin des cycles 1, 2 et 3 a été pesé, analysé et identifié par diffractométrie aux rayons X (Figure 82 A) et par analyses MEB/EDS semi-quantitatives (Figure 82 B). A la suite de la DRX, une quantification des phases composant le précipité a été effectuée grâce à la méthode RIETVELD.

Les analyses DRX/RIETVELD ont révélé que ce précipité est minoritairement composé de soufre élémentaire (7%) et majoritairement de taranakite (93%) (Figure 82 A). Les analyses MEB/EDS ont également indiqué la présence de taranakite ($K_3Al_5[PO_4]_6[PO_4]_2[H_2O]_{18}$) et de soufre (Figure 82 B). La masse moyenne du précipité est d'environ 0,25 g par réacteur et par cycle. Du fait que le précipité est majoritairement composé de taranakite, nous avons considéré dans les calculs que la quantité de soufre est négligeable.

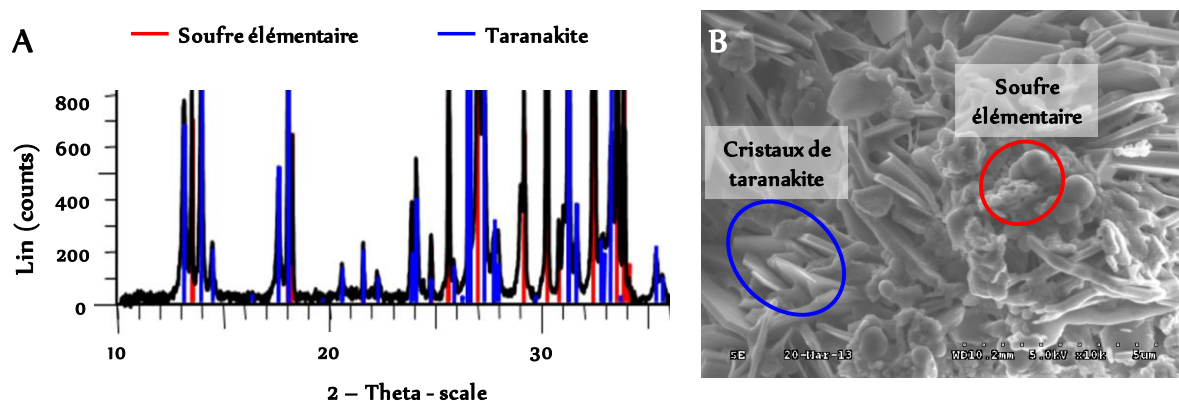


Figure 82 : Analyses DRX et MEB du précipité obtenu dans le milieu réactionnel à la fin du cycle 1 au cours de l'essai de biodétérioration des mortiers CAC par *A. thiooxidans*.

Ainsi, comme pour le mortier OA4y (hormis le cycle 1 de ce dernier), toute la quantité initiale de thiosulfate a été métabolisée en acide sulfurique au cours de l'essai de biodétérioration. La masse de

précipité contenue dans la solution et assimilée à de la taranakite ($K_3Al_5[HPo_4]_{16}[PO_4]_{12}[H_2O]_{18}$) a persisté durant les 3 premiers cycles de biodétérioration (Tableau 28).

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Taranakite dans le milieu réactionnel (g)	0,25	0,25	0,25	-

Tableau 28 : Évolution de la masse de taranakite précipitée dans le milieu réactionnel au cours des cycles de biodétérioration de mortiers CAC par *A. thiooxidans*.

L'analyse chromatographique de la consommation des thiosulfates par *A. thiooxidans* montre également, comme pour les mortiers OPC, une répétabilité des essais (CA4x, CA4y, CA2) (Figure 83 A). La totalité du thiosulfate contenue dans le milieu de culture a été entièrement métabolisée au bout de 14 jours pour chaque cycle.

L'évolution des quantités de sulfates dans les milieux réactionnels en contact avec les mortiers CAC montre également une répétabilité des manipulations (CA4x, CA4y, CA2) (Figure 83 B). Le bilan de matière pour le soufre indique qu'au cours des cycles de biodétérioration, comme avec les mortiers OPC, la production d'acide sulfurique au contact des mortiers CAC est constante et maximale (Figure 84 A, tableau 29). Ainsi, les valeurs de pH plus élevées des milieux au contact des mortiers CAC sont uniquement liées à la capacité de neutralisation plus importante de ces derniers (Figures 35 et 79). En effet, comme pour le mortier OPC, la capacité de neutralisation des mortiers CAC semble diminuer au cours des cycles de biodétérioration. De plus, cette dernière est 5 à 14 % plus importante celle des mortiers OPC (Figure 84 A, tableaux 24 et 29).

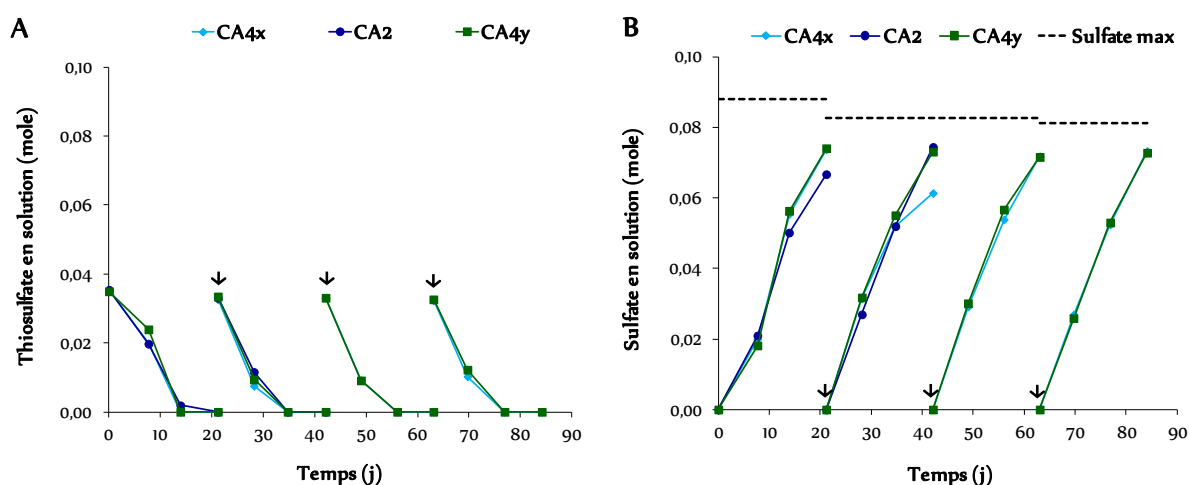


Figure 83 : Évolution des ions thiosulfate (A) et sulfate (B) en solution dans les milieux réactionnels en contact des mortiers CAC (CA4x, CA4y, CA2) au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans* (↓ renouvellement du milieu réactionnel).

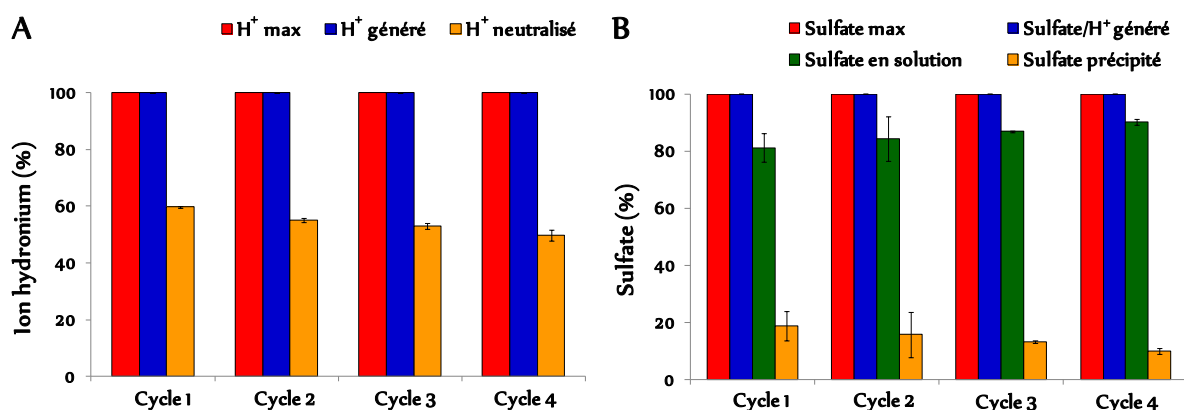


Figure 84 : A – Quantité d'ions hydronium générés par *A. thiooxidans* et neutralisés par le milieu et le mortier au cours de l'essai de biodétérioration. B – Quantité d'ions sulfate générés par les bactéries, présents en solution et précipités dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

Toutefois, comme le mortier OPC, l'activité bactérienne de *A. thiooxidans* ne semble être affectée ni par la présence du mortier CAC, ni par le relargage des ions lixiviés.

Par ailleurs, au cours des cycles de biodétérioration, les ions sulfate sont de moins en moins précipités dans le mortier (Figure 84 B, tableau 29). De plus, il semblerait que la quantité d'ions sulfate précipitée dans le mortier CAC soit quasiment semblable à celle précipitée dans le mortier OPC. Les analyses MEB/EDS permettront de constater si les quantités de phases secondaires sulfatées (gypse, ettringite) formées dans le mortier CAC sont également équivalentes à celle du mortier OPC.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Sulfate/H ⁺ attendu (mole)	8,81E-02 ± 7,06E-04	8,26E-02 ± 1,03E-03	8,25E-02 ± 1,65E-04	8,11E-02 ± 5,64E-04
Thiosulfate non-consommé (mole)	0	0	0	0
Soufre élémentaire accumulé (mole)	0	0	0	0
Thiosulfate correspondant (%)	0	0	0	0
Sulfate/H ⁺ généré (mole)	8,81E-02 ± 7,06E-04	8,26E-02 ± 1,03E-03	8,25E-02 ± 1,65E-04	8,11E-02 ± 5,64E-04
Sulfate/H ⁺ généré (%)	100	100	100	100
Sulfate en solution (mole)	7,15E-02 ± 4,18E-03	6,96E-02 ± 7,18E-03	7,17E-02 ± 1,46E-04	7,31E-02 ± 3,56E-04
Sulfate en solution (%)	81,20 ± 5,04	84,29 ± 7,91	86,85 ± 0,35	90,1 ± 1
Sulfate précipité dans mortier (mole)	1,66E-02 ± 4,51E-03	1,29E-02 ± 6,36E-03	1,09E-02 ± 3,11E-04	8,03E-03 ± 9,20E-04
Sulfate précipité dans mortier (%)	10,92 ± 5,56	6,93 ± 8,65	4,09 ± 0,41	9,90 ± 1,07
H ⁺ calculé à partir du pH (mole)	3,87E-03 ± 8,28E-05	5,44E-03 ± 8,37E-04	7,13E-03 ± 7,88E-04	9,13E-03 ± 1,23E-03
ΔH ⁺ [H ⁺ généré - H ⁺ calculé - H ⁺ neutralisé par le milieu] ou H ⁺ neutralisé par le mortier (mole)	5,26E-02 ± 6,59E-04	4,55E-02 ± 6,27E-04	4,38E-02 ± 9,53E-04	4,03E-02 ± 1,79E-03
H ⁺ neutralisé par le mortier (%)	59,72 ± 0,28	55,11 ± 0,67	53,05 ± 1,05	49,73 ± 1,87

Tableau 29 : Quantités de composés soufrés produits, accumulés et quantité d'ions hydronium neutralisés par le milieu et le mortier au cours des croissances de *A. thiooxidans* dans le milieu III à différents pH initiaux.

L'analyse des ions phosphate semble indiquer qu'hormis le cycle 4, conduisant à un pH final plus faible, la précipitation des ions phosphate augmente au cours des cycles de biodétérioration (Figure 85, tableau 30). Une partie des ions phosphate a peut être été utilisée pour former la taranakite ($K_3Al_5[HPO_4]_6[PO_4]_2[H_2O]_{18}$) puisque cette dernière a été trouvée en forte quantité dans la solution pour les cycles 1 à 3. Toutefois, en considérant les quantités importantes d'ions phosphate précipités, la taranakite ainsi que d'autres minéraux contenant des phosphates sont certainement formés comme produits d'altération au sein du mortier. La précipitation des phosphates dans le mortier CAC est 2 à 9 fois plus importante que celle ayant lieu dans le mortier OPC.

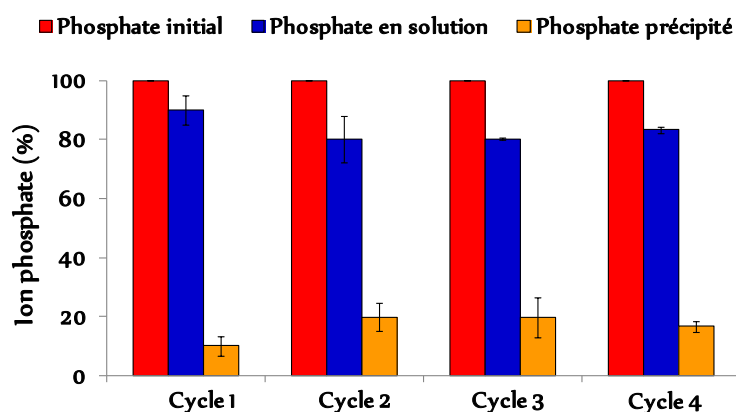


Figure 85 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 3
Phosphate initiale (mole)	4,82E-02 ± 3,86E-04	4,52E-02 ± 5,64E-04	4,52E-02 ± 9,04E-05	4,44E-02 ± 3,09E-04
Phosphate en solution (mole)	4,34E-02 ± 1,79E-03	3,62E-02 ± 1,67E-03	3,63E-02 ± 2,97E-03	3,70E-02 ± 5,85E-04
Phosphate en solution %	89,94 ± 3,24	80,09 ± 4,69	80,29 ± 6,74	83,30 ± 1,90
Phosphate précipité (mole)	4,85E-03 ± 1,54E-03	9,01E-03 ± 2,23E-03	8,90E-03 ± 3,06E-04	7,41E-03 ± 8,94E-04
Phosphate précipité %	10,06 ± 3,24	19,91 ± 4,69	19,71 ± 6,74	16,70 ± 1,90

Tableau 30 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

2.1.3 Le dénombrement bactérien

Le dénombrement des populations bactériennes contenues dans les milieux réactionnels au contact des mortiers CAC montre également une répétabilité des manipulations (Figure 86). Le nombre de bactéries actives en présence de mortiers CAC reste de l'ordre de 10^{-9} bactéries/mL comme pour les mortiers OPC. Ces résultats confirment que la présence du mortier CAC dans le milieu réactionnel ne semble pas affecter la croissance et l'activité de *A. thiooxidans*.

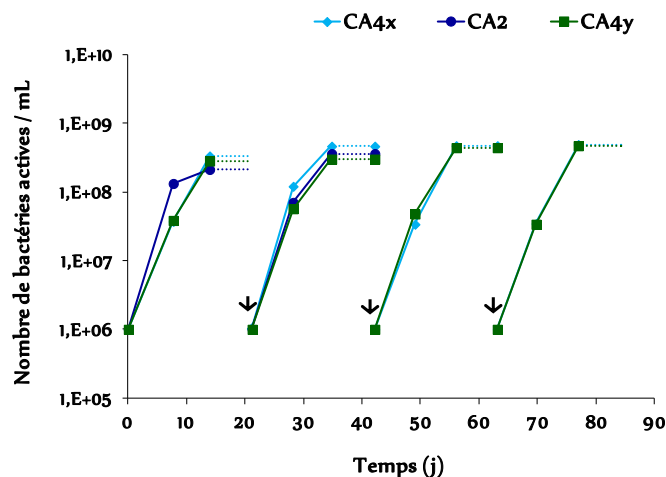


Figure 86 : Évolution du nombre de bactéries actives dans les milieux réactionnels en contact des mortiers CAC (CA4x, CA4y, CA2) au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans* (↓ renouvellement du milieu réactionnel).

Cependant, à la fin des cycles – à 21 j – il a été impossible de réaliser un dénombrement bactérien, car bien que les bactéries fussent visibles et majoritairement actives, elles formaient des agrégats et semblaient être contenues dans une substance gélatineuse (Figure 87). Ces agrégats sont semblables à ceux obtenus à la fin du cycle 4 au cours de l'essai de biodétérioration des mortiers OPC.

La substance gélatineuse pourrait correspondre à des substances exo-polysaccharides (SEP), polymères extracellulaires sécrétés par les bactéries lors de la formation d'un biofilm (Figure 4). En effet, il est admis dans la littérature scientifique que l'agrégation de même que la formation d'un biofilm bactérien sont des modes de résistance des bactéries soumises à un stress environnemental [Medveczky *et al.*, 2009 ; Matila-Sandholm and Wirtanen, 1992]. Comme pour le cycle 4 du mortier OPC, le stress dans nos essais peut être dû à l'épuisement des nutriments dans le milieu et/ou à la présence des ions aluminium (Al^{3+}) relargués en solution par les mortiers CAC [Hajj Chehade, 2010 ; Ehrich *et al.*, 1999]. En effet, à 21 jours, tout le thiosulfate initial a été complètement métabolisé, la source de soufre est donc épuisée ; ce qui est susceptible d'induire un stress nutritif responsable de l'agrégation des bactéries et de la formation d'un biofilm.

L'analyse des quantités d'Al relarguées en solution va permettre d'apporter des éléments de réponse à la deuxième hypothèse à savoir si la concentration en Al dans le milieu réactionnel est en mesure d'induire un stress « alumineux » sur *A. thiooxidans*.

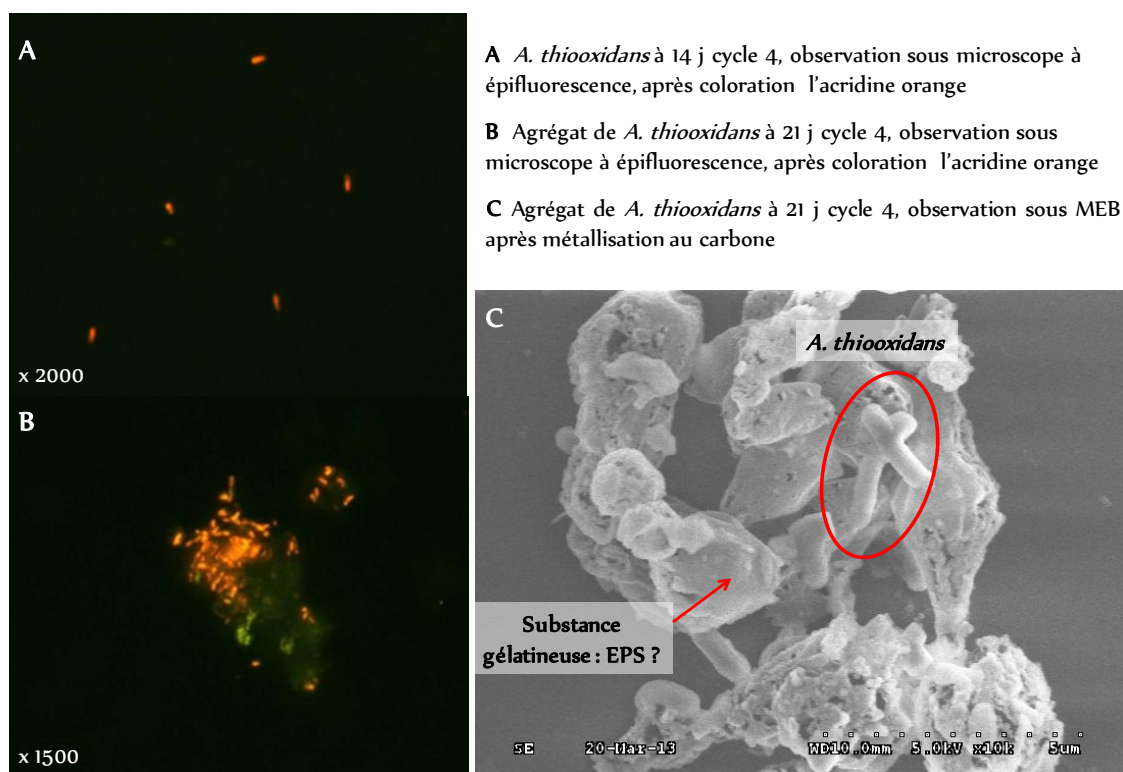


Figure 87 : Formation d'agréats de *A. thiooxidans* après 21 j de croissance dans le milieu réactionnel en contact de mortiers CAC.

2.1.4 L'évolution des proportions d'éléments relargués en solution par le mortier

Les quantités d'Al relarguées en solution ont été corrigées avec les quantités de taranakite précipitée en solution (Figure 81, tableau 28) selon la relation :

$$N \text{ total d'Al} = n_{\text{Al en solution}} + [5 \times (m_{\text{taranakite}} / M_{\text{taranakite}})]$$

Avec :

$N \text{ total d'Al}$: nombre de moles total d'Al réellement relargué par le mortier dans la solution

$n_{\text{Al en solution}}$: nombre de moles d'Al présent dans solution

$m_{\text{taranakite}}$: masse de taranakite précipité en solution à la fin du cycle de biodétérioration

$M_{\text{taranakite}}$: masse molaire moléculaire de la taranakite

En supposant que le précipité est uniquement composé de taranakite, cette relation permet d'évaluer la quantité d'Al réellement relargué en solution, car elle prend en compte la quantité d'Al présente et celle précipitée en solution sous forme de taranakite (Tableau 28). Les quantités d'Al réellement relarguées dans le milieu réactionnel, correspondant à l'Al.cor dans la figure 88, sont en moyenne 10 - 12% plus importantes que celles présentes en solution (Al).

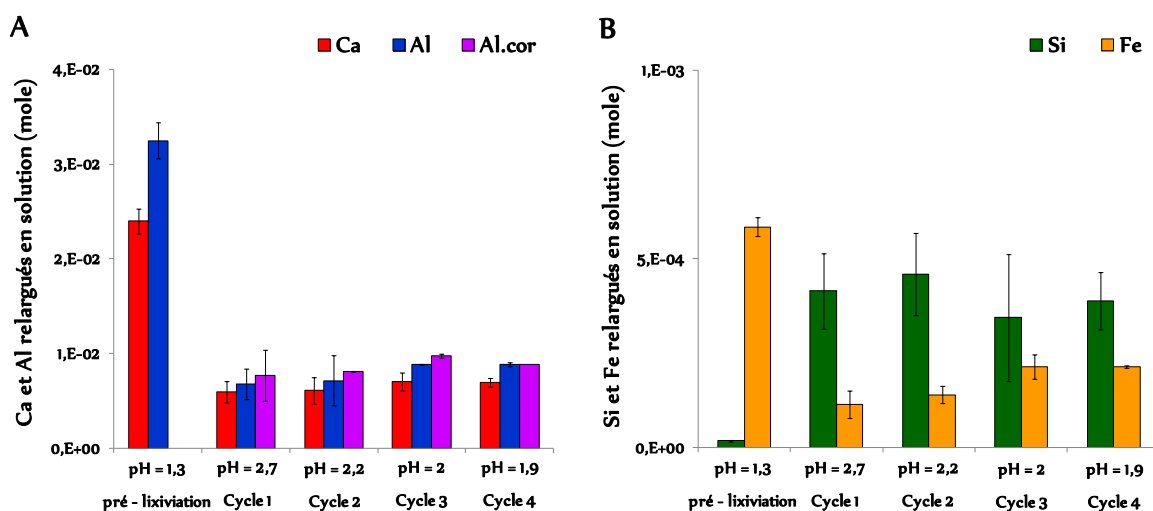


Figure 88 : Évolution des quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC en fonction des pH des milieux réactionnels.

Comme pour l'essai réalisé avec les mortiers OPC, le Ca et l'Al sont intensément relargués au cours de la pré-lixiviation, lié au pH très acide de la solution lixivante (Figure 88). Cette dernière dissout facilement les phases calciques de la pâte de ciment (C_2AH_8 , C_3AH_6) et les phases alumineuses (AH_3). Le Fe est relargué en moindre proportion, car bien que le pH de la solution lixivante soit inférieur au pH de dissolution des phases ferriques ($pH = 2$), la quantité de Fe dans la pâte de ciment CAC est 2 fois inférieure à celle contenue dans la pâte de ciment OPC, d'où son faible relargage en solution. L'absence de relargage du Si au cours de la pré-lixiviation est également liée au pH très acide de la solution pré-lixivante (Figure 88). L'explication est la même que celle avancée pour le mortier OPC (point isoélectrique de la silice). Au cours des cycles de biodétérioration par contre, le pH du milieu réactionnel ($2,0 < pH < 2,4$) est compris dans l'intervalle isoélectrique de la silice ($1,7 < pH < 3,5$), le Si est donc relargué en solution. Toutefois, les quantités de Si relarguées en solution sont moindres que dans le cas des mortiers OPC, car ces derniers contiennent 3 fois plus de Si que les mortiers CAC (Tableaux 4 et 6).

Par ailleurs, comme pour le mortier OPC, les relargages de Ca, de Fe et d'Al augmentent globalement avec la diminution du pH (Figure 88). Le relargage du Si par le mortier CAC diminue légèrement quand le pH du milieu réactionnel à son contact diminue (Figure 88).

La mesure des concentrations d'Al en solution au cours des cycles de biodétérioration des mortiers CAC révèle que ces dernières varient entre 6,7 et 8,8 E-03 mol/L. L'effet nocif de l'Al sur *A. thiooxidans* a été signalé que pour des concentrations en Al comprises entre 6,8 et 21,6 E-02 mol/L pour des croissances en présence de nitrate d'aluminium [Geoffroy *et al.*, 2008] sachant que ces auteurs précisent que les autres constituants du milieu peuvent avoir des effets sur le seuil qui serait proche de 1,8 E-03 mol/L avec un milieu nutritif composé de sels de nitrate à la place de sels de

chlorure. Ainsi des facteurs additionnels pourraient indiquer l'agrégation des bactéries lors du dernier cycle aussi bien dans le cas du mortier OPC que CAC en dépit de concentrations en aluminat très différentes, comme des éléments métalliques traces non dosés, mais contenus dans les ciments. En effet, les concentrations en ions aluminat sont rapidement supérieures à $1 \text{ E-}03 \text{ mol/L}$ au début de chaque cycle lors de l'essai avec le mortier CAC alors que cette concentration en aluminat est uniquement trouvée dans le cycle 4 de l'essai avec le mortier OPC pour lequel l'agrégation est observée. De plus, il convient de rappeler que la croissance des BSOA est tout à fait normale pour les essais réalisés avec les deux mortiers.

L'observation des vitesses de relargage des éléments chimiques montre qu'au cours des cycles de biodétérioration, les vitesses de relargage de Ca, Al et Fe augmentent légèrement tandis que celle de Si diminue (Figure 89).

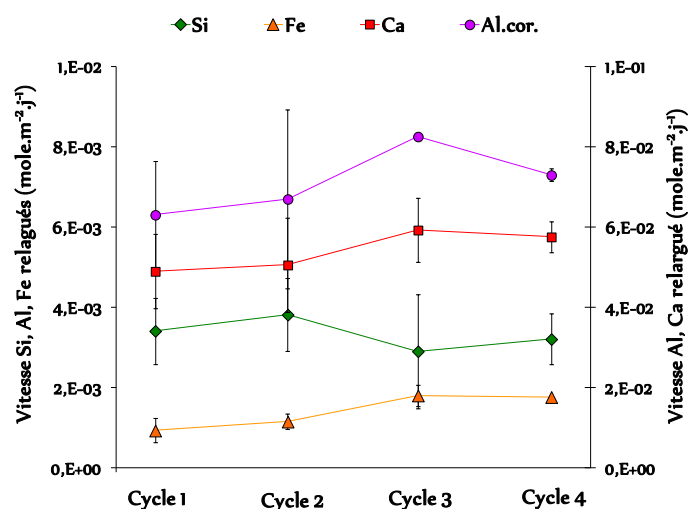


Figure 89 : Vitesses moyennes de relargage en solution des éléments Si, Al, Fe et Ca par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

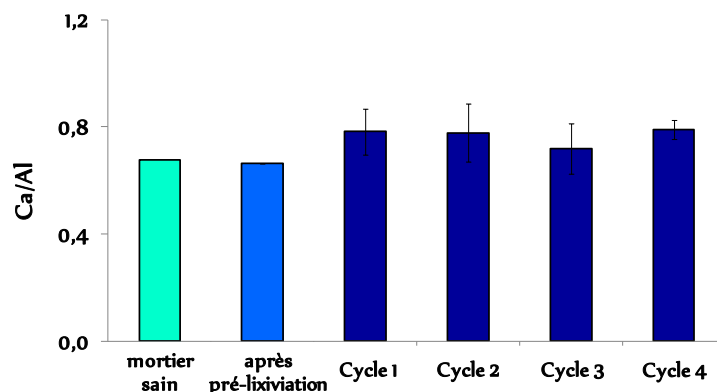


Figure 90 : Ratio molaire Ca/Al calculé à partir des quantités moyennes des éléments Ca et Al contenus dans les mortiers CAC ou relargués en solution par ces derniers au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

Par ailleurs, si on considère les quantités relarguées (Tableau 31), on constate que le ratio molaire Ca/Al des éléments passés en solution diminue légèrement au cours de l'essai de biodétérioration (Figure 90, tableau 31). Ce dernier est supérieur au rapport initial Ca/Al du mortier après prélixiviation, qui est de 0,68. Ce résultat est lié au fait qu'au cours des cycles de biodétérioration les quantités d'aluminium relarguées en solution sont de plus en plus importantes comparées aux quantités de calcium, certainement en relation avec le pH final du milieu qui est de plus en plus acide (Figure 88). Ainsi, au cours des cycles de biodétérioration, il y aurait de plus en plus de phases lumineuses dissoutes.

	Moyennes des quantités des éléments relargués en solution (mole)				
	Ca	Si	Al	Fe	Ca/Al
Cycle 1	5,96E-03 ± 1,13E-03	4,15E-04 ± 1,00E-04	7,67E-03 ± 1,62E-03	1,14E-04 ± 3,71E-05	0,90 ± 0,11
Cycle 2	6,09E-03 ± 1,41E-03	4,60E-04 ± 1,09E-04	8,06E-03 ± 2,68E-03	1,39E-04 ± 2,27E-05	0,90 ± 0,18
Cycle 3	7,01E-03 ± 9,53E-04	3,44E-04 ± 1,68E-04	9,76E-03 ± 3,93E-05	2,14E-04 ± 3,14E-05	0,79 ± 0,10
Cycle 4	6,97E-03 ± 4,60E-04	3,89E-04 ± 7,66E-05	8,83E-03 ± 1,89E-04	2,14E-04 ± 2,48E-06	0,79 ± 0,04

Tableau 31 : Moyennes des quantités d'éléments chimiques relargués en solution par les mortiers CAC au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

Au cours des cycles de biodétérioration, le rapport Ca/Al diminue avant de se stabiliser à une valeur supérieure à la valeur du rapport initial après prélixiviation (0,8). Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Hajj Chehade (2010) qui a observé une diminution avant une stabilisation du rapport Ca/Al au cours de l'essai de biodétérioration. Toutefois, à la fin de l'essai de biodétérioration, le rapport Ca/Al dans l'étude de Hajj Chehade (2010) est de 0,6, inférieur à celui évalué au cours de l'essai présent (0,8). Cette différence pourrait s'expliquer par une dissolution moins importante de phases calcaïques ou de phases alumineuses au cours de l'essai de Hajj Chehade (2010).

A titre indicatif, comme pour le mortier OPC, les mécanismes gouvernant le relargage des différents éléments ont été déterminés. Les courbes de relargage des éléments chimiques sont compatibles avec une loi d'évolution linéaire des fractions cumulées lixiviées en fonction du temps ou de la racine carrée du temps (Figure 91). De façon plus évidente que dans le cas du mortier OPC, les éléments chimiques du mortier CAC ont les mêmes mécanismes de relargage. Contrairement au mortier OPC, il n'y aurait pas un enrichissement sélectif de phases cimentaires moins solubles, notamment les phases alumineuses et ferriques. Toutes les phases seraient simultanément dissoutes. Les analyses MEB/EDS, l'évaluation de la porosité des zones attaquées et la zonation des échantillons de mortier apporteront des éléments de réponses à ces hypothèses.

En outre, au cours de l'étude présente, le cumul des fractions de Ca relarguées en solution (normalisées à la surface du mortier) est 44% supérieur à celui de Hajj Chehade (2010), tandis que

celui de l'Al est quasiment équivalent. Ce moindre relargage de calcium explique donc le faible rapport Ca/Al mesuré à la fin de l'essai de biodétérioration du mortier CAC réalisé par Hajj Chehade (2010).

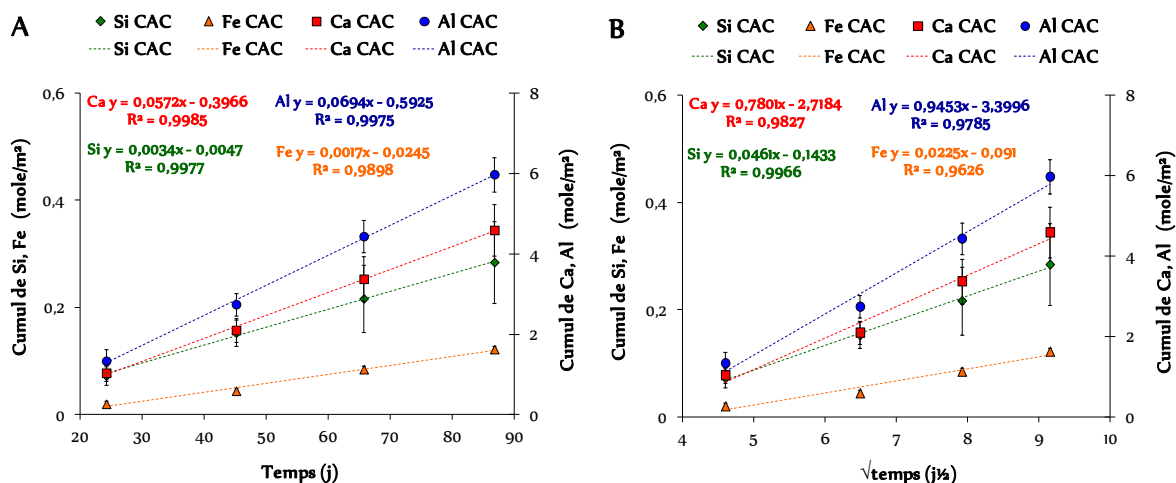


Figure 91 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relargués en solution par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans* normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction du temps (A) et de la racine carrée du temps (B) ; les droites représentent les régressions linéaires des courbes.

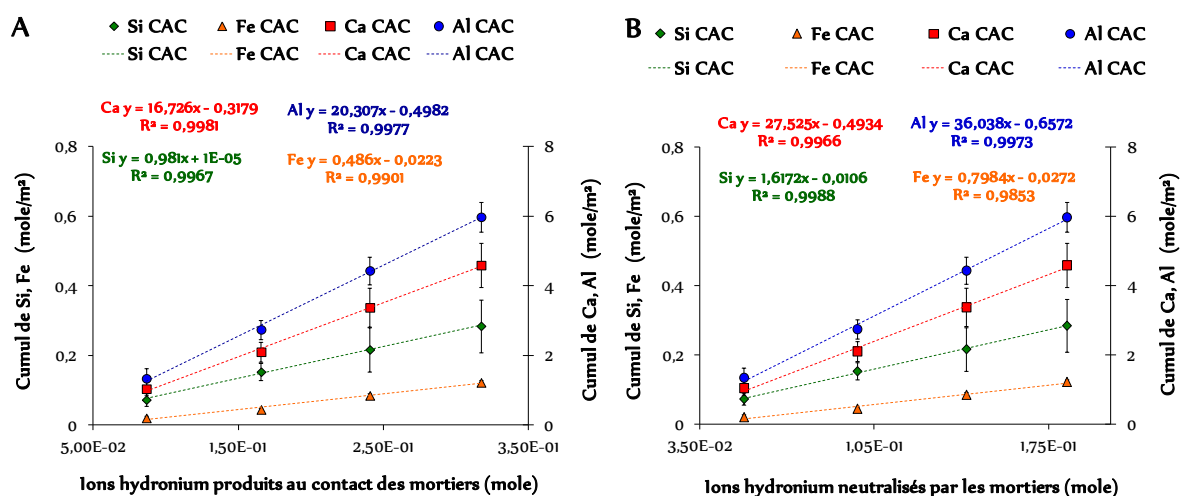


Figure 92 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relargués en solution par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium générés par *A. thiooxidans* (A) ou neutralisés par le mortier (B).

Par ailleurs, la représentation des quantités cumulées d'éléments chimiques relargués en fonction des quantités d'ions hydronium générés par *A. thiooxidans* ou neutralisés par le mortier indique une très bonne corrélation (Figure 92) liée, comme pour le mortier OPC, à la génération de quantités maximales et équivalentes d'ions hydronium au cours des essais. Ainsi au cours des cycles de biodétérioration, les mêmes quantités de phases sont dissoutes. De plus, le pH du milieu réactionnel est suffisamment bas pour rapidement dissoudre toutes les phases du mortier OPC.

Toutefois, il est constaté que les vitesses de relargage des éléments chimiques représentées en fonction des quantités d'ions hydronium neutralisés par le mortier sont en moyenne deux fois plus importantes (pente de la droite de corrélation deux fois plus grande) que celles représentées en fonction des quantités d'ions hydronium générées par *A. thiooxidans*. Comme dans le cas du mortier OPC, ce résultat est lié au fait qu'environ la moitié de l'acide sulfurique produit par les BSO est neutralisé par le mortier (Tableau 29).

2.1.5. Conclusion

Au cours de l'essai de biodétérioration, la présence du mortier CAC, comme celle du mortier OPC, ne semble affecter ni le développement, ni l'activité bactérienne de *A. thiooxidans*. En effet, la production d'acide sulfurique dans les deux cas est maximale. La formation d'agréats bactériens identifiée à la fin de chaque cycle de biodétérioration du mortier CAC et à la fin du cycle 4 de l'essai avec OPC serait donc induite par un autre mécanisme peut être lié aux éléments métalliques traces relargués mais non dosés ici. Ainsi, les concentrations d'Al relarguées par les mortiers CAC (jusqu'à $8,8 \times 10^{-3}$ mol/L ou 238 ppm) ne semblent pas être assez importantes pour affecter l'activité bactérienne des BSO *A. thiooxidans* dans nos conditions expérimentales.

La diminution continue du pH final observée au cours des cycles est également liée, comme pour le mortier OPC, au relargage de moins en moins important de composés basiques du mortier vers le milieu réactionnel en dépit d'un relargage d'éléments chimiques constant au cours du temps. Par ailleurs, le pH atteint par le milieu réactionnel au cours des cycles de biodétérioration semble suffisamment bas pour dissoudre les différentes phases calciques et alumineuses.

2.2. L'évolution des mortiers

2.2.1. L'analyse macroscopique

Comme escompté, l'analyse macroscopique n'a également révélé aucun biofilm à la surface des mortiers CAC à la fin des cycles de biodétérioration (Figure 93).

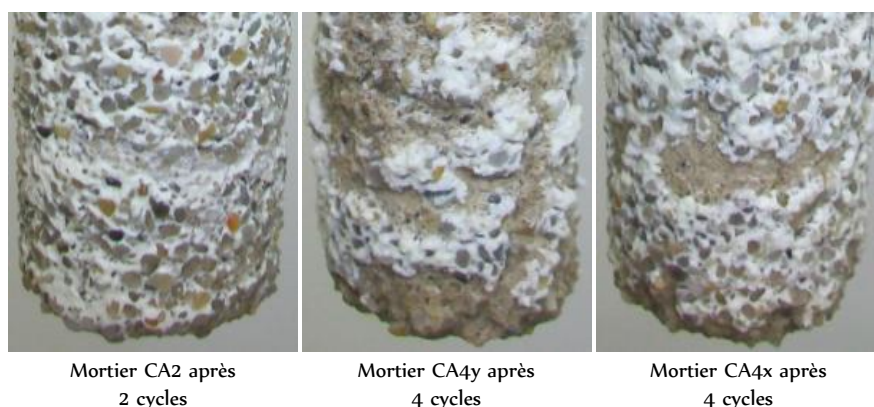


Figure 93 : Mortiers CAC après 2 cycles et 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

Cependant, contrairement aux mortiers OPC, les mortiers CAC sont recouverts d'une couche poudreuse blanche et la surface des mortiers est rugueuse.

De plus, comme pour l'essai de biodétérioration des mortiers OPC, les mortiers ayant subi 4 cycles de biodétérioration (3 mois), mortiers CA4y et CA4x, sont plus altérés que celui ayant subi 2 cycles de biodétérioration (1,5 mois), mortier CA2 (Figure 93).

L'observation des sections transversales des mortiers après imprégnation dans la résine a révélé la présence de trois zones de différentes colorations : une très fine couche de couleur blanche recouvrant la surface du mortier, elle a été appelée couche de revêtement ; une deuxième zone fine de couleur marron, d'environ 0,6 – 0,9 mm et située à la périphérie du mortier et une troisième zone de couleur claire plus épaisse, d'environ 2,4 – 2,6 cm, constitue le cœur du mortier (Figure 94, tableau 32). L'épaisseur totale complètement détériorée a été déterminée comme précédemment expliquée (Mortier OPC).

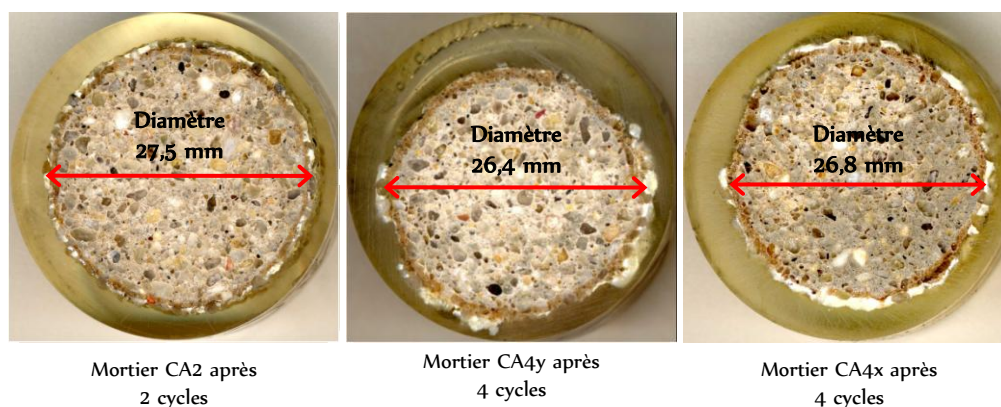


Figure 94 : Coupes transversales des mortiers CAC CA2, CA4x et CA4y après 2 ou 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

	Diamètre après pré-lixiviation (mm)	Épaisseur détériorée (mm)	Diamètre après biodétérioration (mm)	Épaisseur biodétériorée (mm)	Épaisseur perdue par le mortier (mm)	Vitesse de détérioration (mm/an)
CA2	27,45 ± 0,07	0,78 ± 0,04	27,50 ± 0,42	nd	0,78 ± 0,04	6,67
CA4y			26,40 ± 0,57	0,53 ± 0,28	1,30 ± 0,40	5,62 ± 2,44
CA4x			26,76 ± 0,23	0,34 ± 0,11	1,12 ± 0,16	4,84 ± 0,98

Tableau 32 : Mesure des diamètres, des épaisseurs perdues et des vitesses de détérioration des mortiers CAC après l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*. Le diamètre initial du mortier est de 29 mm. Nd = non déterminé.

De façon analogue au mortier OPC, le mortier CA2, attaqué pendant 2 cycles par *A. thiooxidans*, semble n'avoir subi aucune biodétérioration, son diamètre est quasiment équivalent à celui du mortier CAC après pré-lixiviation. Contrairement aux mortiers OPC, une partie des mortiers CAC a

été complètement détruite au cours des cycles de biodétérioration (Figure 94, tableau 32). En effet, à la fin des cycles 3 et 4, une quantité non négligeable de grains de silice a été retrouvée dans les réacteurs contenant les mortiers CAC. Ces derniers perdent donc beaucoup de grains de silice tandis que les mortiers OPC forment un gel de silice à leur surface (Figure 70 A).

La vitesse de détérioration des mortiers CAC (correspondant à l'épaisseur du mortier complètement détériorée) a été estimée à 3,2 – 8,1 mm/an. Elle a été normalisée à la surface des échantillons et comparée aux vitesses de détérioration retrouvées dans la littérature scientifique (Tableaux 33). Il apparaît que les vitesses de détérioration estimées dans cet essai sont en moyenne équivalentes à celles mesurées par De Belie *et al.* (2004), 6 fois plus importantes que celles de Mori *et al.* (1992) et 31 fois plus importantes que celles de Gutiérrez-Padilla *et al.* (2010). Nos conditions de biodétérioration semblent être plus agressives que celles de Gutiérrez-Padilla *et al.* (2010) et Mori *et al.* (1992).

	Bactéries utilisées	Vitesse de détérioration (mm/an)
Mori <i>et al.</i> , 1992	BSOA/ <i>A. thiooxidans</i>	3,8 - 6,1
De Belie <i>et al.</i> , 2004	BSOA/ <i>A. thiooxidans</i>	1,8 - 6,4
Gutiérrez-Padilla <i>et al.</i> , 2010	BH/BSO/BSOA	0,1 - 0,2

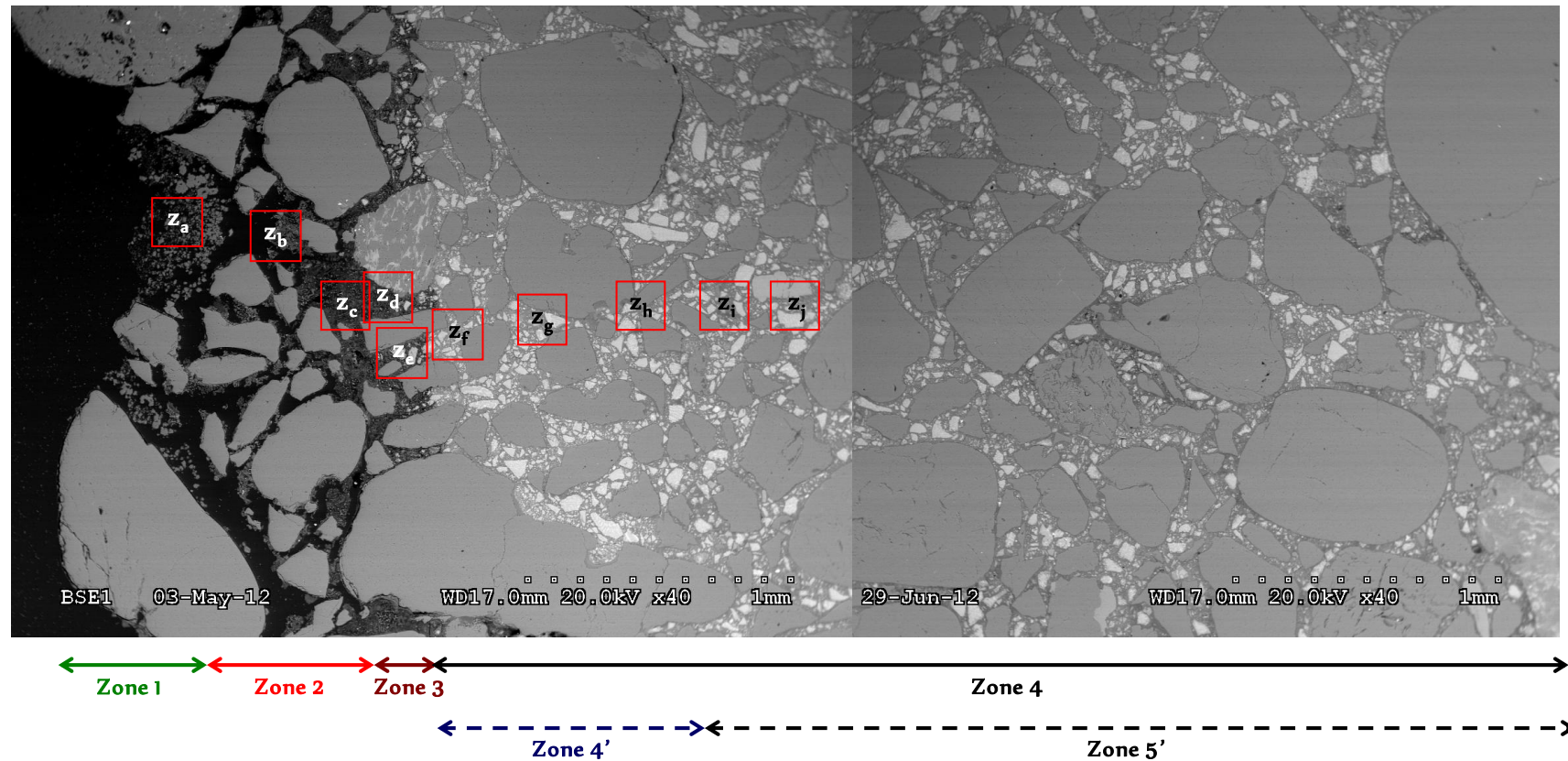
Tableau 33 : Vitesses de détérioration de mortiers/bétons au cours d'essai de biodétérioration.

L'observation macroscopique des mortiers semble indiquer que les mortiers CAC sont plus attaqués que les mortiers OPC (Figures 67 et 93). En effet, à la fin des cycles de biodétérioration, les mortiers CAC, à l'opposé des mortiers OPC, présentent des épaisseurs complètement détériorées (Tableaux 27 et 32). Or, les mortiers CAC sont connus pour être plus résistants que les mortiers OPC [Herison, 2012 ; Alexander and Fourie, 2011 ; Hajj Chéade, 2010 ; Lamberet, 2005 ; Ehrich *et al.*, 1999]. L'estimation de l'épaisseur totale attaquée par analyses MEB/EDS apportera des éléments de réponse quand à la réelle performance des mortiers CAC.

2.2.2 L'analyse microscopique

2.2.2.1 Le mortier CA4y (4 cycles de biodétérioration / 3 mois)

L'observation et l'analyse du mortier CA4y au MEB ont permis d'établir une zonation de l'échantillon de mortier (Figure 95). Les analyses EDS ont permis de déterminer les compositions chimiques et minéralogiques des différentes zones du mortier et les cartographies ont permis d'établir des cartes de répartition des éléments présents dans le mortier (Figures 95 - 99). Ainsi, en allant de la surface au cœur du mortier, on retrouve :



Zone 1: couche de revêtement (0,2 - 0,3 mm) ; Zone 2: zone endommagée (0,4 - 0,5 mm)

Zone 3: zone dégradée (0,1 - 0,2 mm) ; Zone 4': zone faiblement altérée (0,9 - 1,0 mm) ; Zone 5': cœur du mortier

↔ Délimitation après observation au MEB ↔ Délimitation après observation au MEB et analyses EDS

Figure 95 : Observations au MEB du mortier CAC CA4y après 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

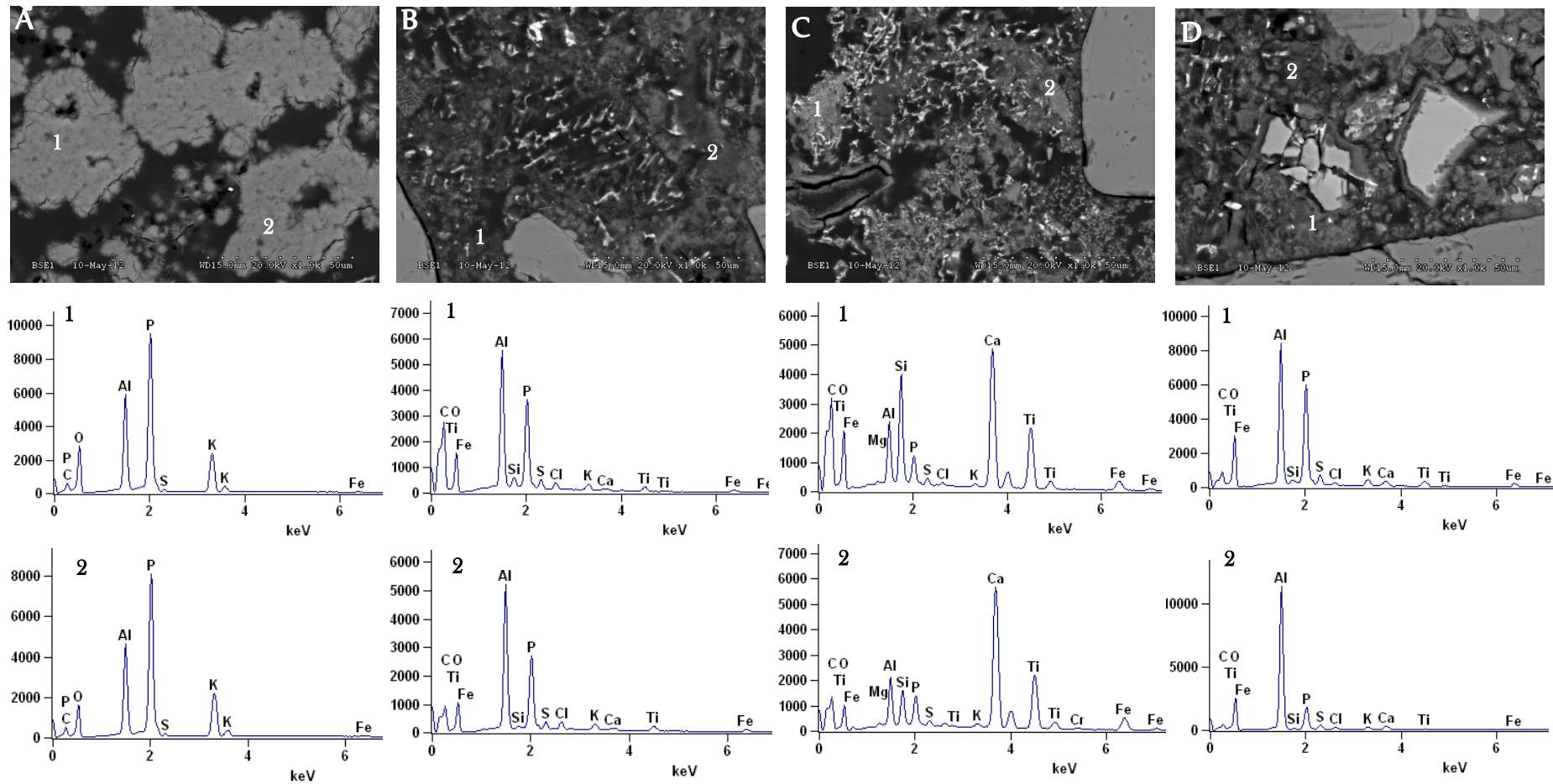


Figure 96 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CA4y après 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

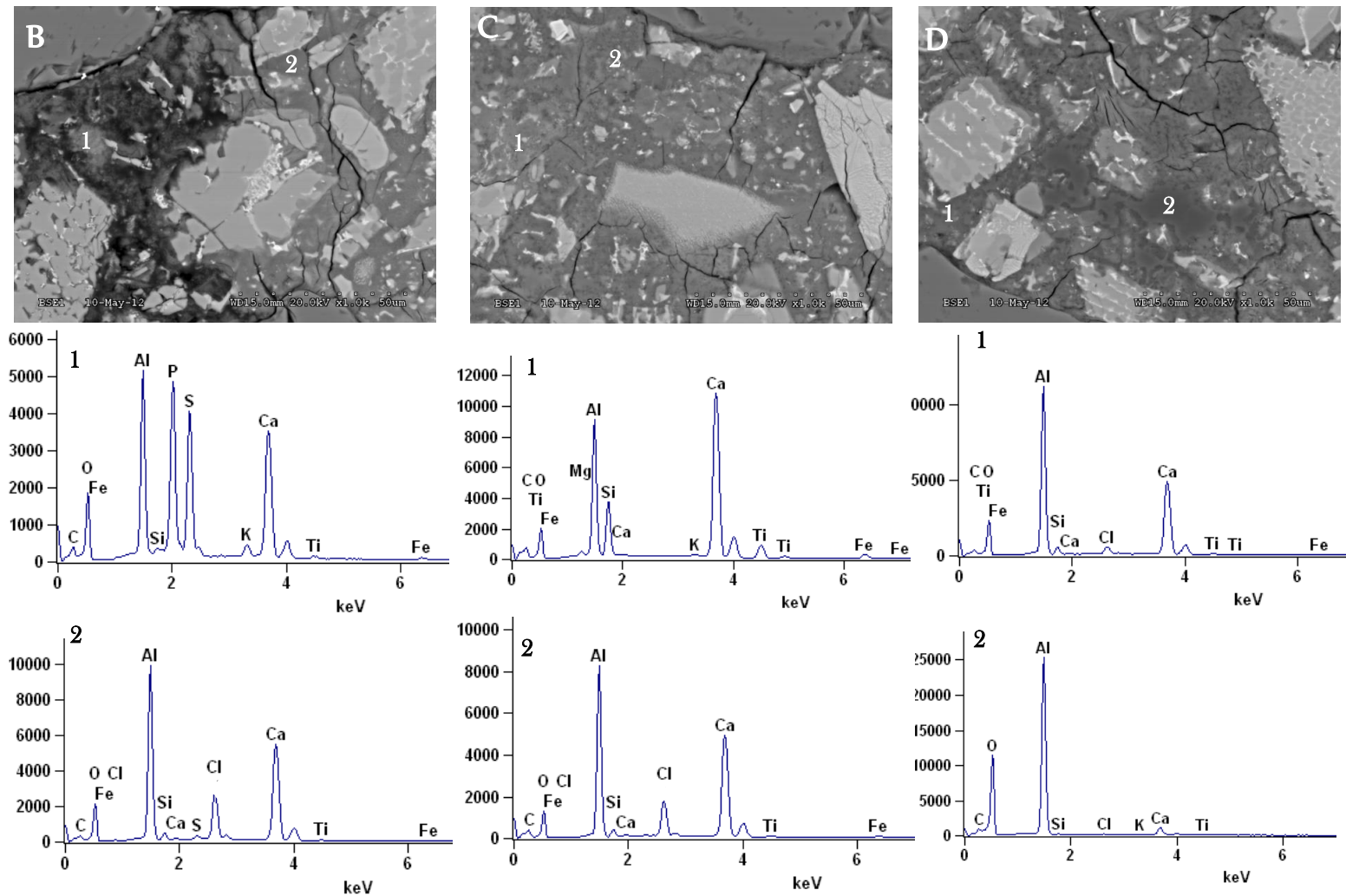


Figure 97 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CA4y après 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

- La zone 1 : est constituée d'une couche spongieuse très poreuse qui recouvre le mortier. Elle correspond à la très fine couche de couleur blanche observée à la surface du mortier au cours de l'analyse macroscopique. Cette couche, appelée couche de revêtement, a une épaisseur qui varie entre 0,2 mm et 0,3 mm (Figure 95 - z_a). Elle est essentiellement constituée d'Al, P et K (Figures 95 - z_a , 96 A, 97 B, 98 B et C). Elle est de la même nature que le précipité contenu dans le milieu réactionnel à la fin des cycles 1, 2 et 3, préalablement identifié comme étant de la taranakite ($K_3Al_5(HPO_4)_6(PO_4)_2(H_2O)_{18}$) (Figure 81). Ainsi, la précipitation de la taranakite à la surface du mortier CAC est en partie responsable de la diminution d'ions phosphate observée en solution pendant les cycles de biodétérioration (Figure 85, tableau 30).

La précipitation des ions phosphate dans les mortiers CAC est 2 à 9 fois plus importante que celle intervenant dans les mortiers OPC (Figures 59 et 85, tableaux 25 et 30). Ce résultat est à relier à la plus grande quantité d'aluminates contenue puis dissoute dans le mortier CAC (Figures 34 et 88). Il explique également la présence d'une plus grande proportion de taranakite à la surface des mortiers CAC (Figures 67 et 93).

La zone 1 est constituée de taranakite.

- La zone 2 : très poreuse a été nommée zone endommagée. Elle a une épaisseur qui varie entre 0,4 mm et 0,5 mm (Figure 95 - z_{b-c}). Elle est riche en Ca, Al, Ti, Si, Fe ainsi qu'en P, mais pauvre en K (Figures 96 A - D, 97 A et 99 B). La taranakite n'est donc pas la phase phosphatée présente dans la zone endommagée. Il se pourrait que cette dernière contienne plutôt de la variscite ($AlPO_4 \cdot 2H_2O$), qui est plus stable que la taranakite à l'intérieur du mortier (Figure 98 B). En effet, la pâte de ciment du mortier est moins acide que le milieu réactionnel, elle favorise donc la précipitation de la variscite plus stable aux pH moins acides ($3 < pH < 7$) [Stumm and Morgan, 1996]. La variscite est également responsable de la diminution des ions phosphate constatée dans le milieu réactionnel pendant les cycles de biodétérioration (Figure 85, tableau 30).

Des analyses EDS faites dans la pâte de ciment révèlent une proportion importante de grains de titanate de calcium surtout dans la zone juxtaposant la couche de revêtement (Figure 96 C). La prédominance de ce dernier dans les zones superficielles du mortier est liée à sa grande résistance à l'attaque acide. Par ailleurs, les rapports Ca/Al dans cette zone sont très faibles, de l'ordre de 0,1, nettement inférieurs à ceux de la pâte de ciment d'un mortier sain de l'ordre de 0,7 - 0,8 (Figure 38). En effet, au cours de l'attaque acide du mortier, les hydrates de calcium contenus dans la pâte de ciment sont très rapidement dissous par l'acide sulfurique généré par l'activité bactérienne de *A. thiooxidans* (Chapitre 1, Équations 32 - 34). Le calcium est donc relargué en grande proportion dans le milieu

réactionnel, d'où le faible rapport Ca/Al mesuré dans le mortier dans cette zone. Cependant, le rapport Ca/Al du milieu réactionnel reste relativement élevé au cours des cycles de biodétérioration (Figure 90, tableau 31), donc l'hydroxyde d'aluminium est également dissous et relargué dans le milieu réactionnel (Chapitre 1, Équations 35).

En outre, les fortes quantités de silicium mesurées dans la pâte de mortier doivent très certainement être liées à la présence de gel de silice (Figure 96 C). Contrairement au mortier OPC, aucun liséré blanc n'a été observé dans le mortier CAC, ainsi aucun liséré d'hydroxyapatite n'a a priori été formé dans le mortier CAC.

- La zone 3 est constituée de grains de titanate de calcium, de variscite, d'un gel de silice et d'hydroxyde d'aluminium (AlH_3), les deux derniers étant très certainement en cours de dissolution. La zone 3 ou zone dégradée, peu poreuse, a une épaisseur qui varie entre 0,1 mm et 0,2 mm (Figure 95 – z_{d-e}). Elle est riche en P, laissant supposer la présence de la variscite ($\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Figures 95 – z_{d-e} et 96 D) et peut-être d'hydroxyapatite. La quantité de P est de moins en moins importante en allant vers le cœur du mortier (Figure 99 B). La pâte de ciment contient une quantité importante d'Al et moindre de Ca (Figures 98 A et B). Les analyses EDS révèlent un gradient de Ca en allant vers le cœur du mortier se traduisant par des rapports Ca/Al de plus en plus importants (allant de 0,3 à 0,4) (Figure 98 A).

Par ailleurs, des analyses EDS ponctuelles en certains points indiquent des quantités de S et de Ca en proportions similaires (Figure 97 A). Il s'agit très certainement du gypse issu de la réaction entre les hydrates de calcium et l'acide sulfurique (Chapitre 1, Équations 32 - 34). Contrairement aux mortiers OPC, seulement une faible quantité de gypse a été précipitée dans le mortier CAC. Ce dernier semble également contenir de l'ettringite. Ces résultats sont en désaccord avec l'évaluation des quantités d'ions sulfate précipités dans les mortiers. En effet, au cours de l'analyse des milieux réactionnels, les quantités d'ions sulfate précipitées dans les mortiers CAC (Figure 84, tableau 29) sont quasiment équivalentes à celles précipitées dans les mortiers OPC (Figure 58, tableau 24). Cependant, les proportions de gypse et d'ettringite précipitées dans le mortier CAC sont beaucoup moins importantes que celles du mortier OPC (Figures 69 et 95).

Ponctuellement, d'importantes quantités de Cl ont été mesurées dans la pâte de ciment (entre 0,2 et 5,6 %), laissant penser, comme pour le mortier OPC à l'existence de phases chlorées telles que les monochloroaluminates de calcium hydratés (Figures 99 A et 99 E). De plus, comme le montre la cartographie du Cl, très peu de phases chlorées ont été retrouvées dans l'échantillon de mortier (Figure 99 E). Ainsi, le Cl ne semble pas participer à l'altération du mortier.

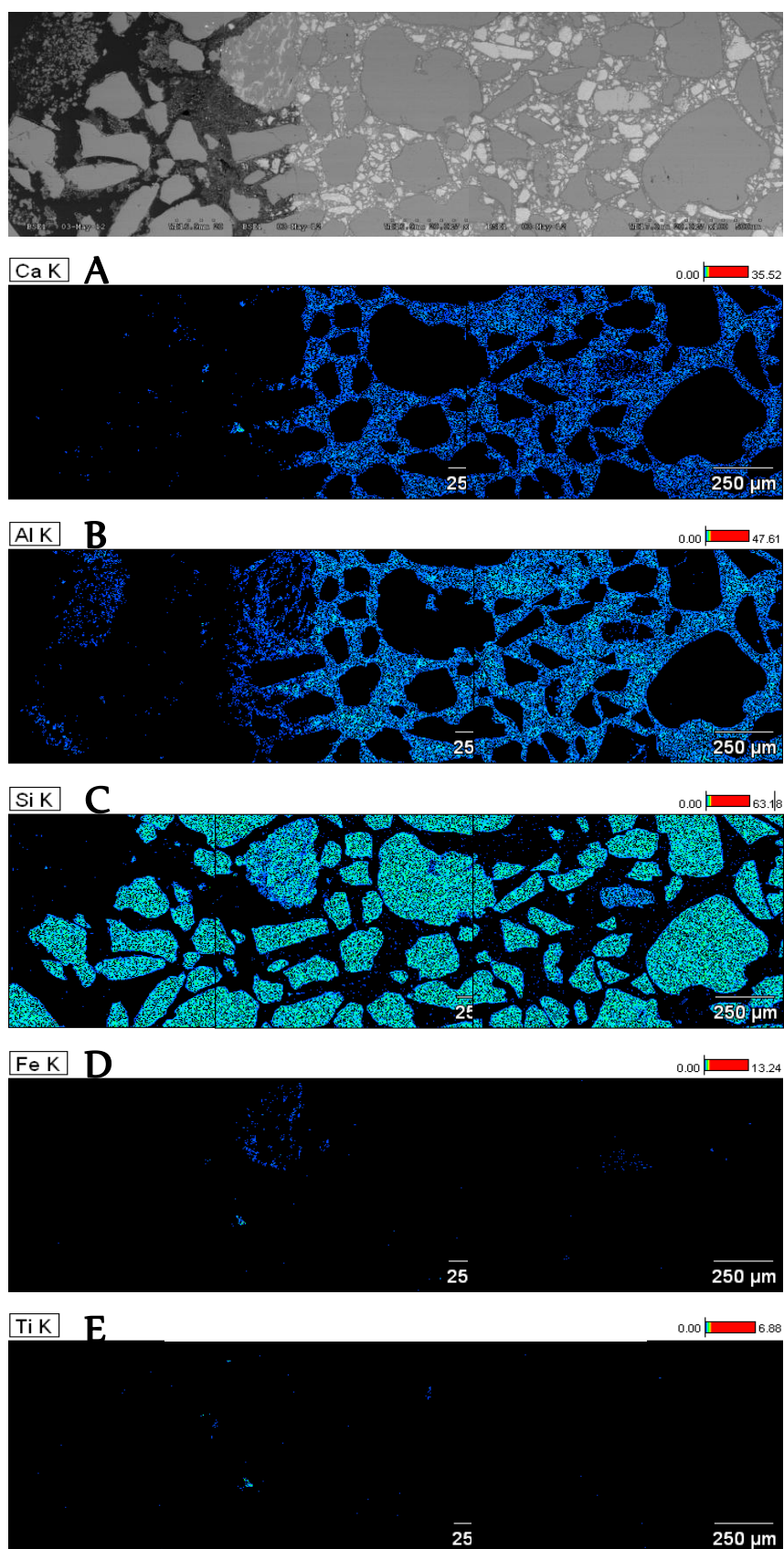


Figure 98 : Cartographies de Si, Al, Fe et Ti contenus dans la bordure du mortier CAC CA4y après 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

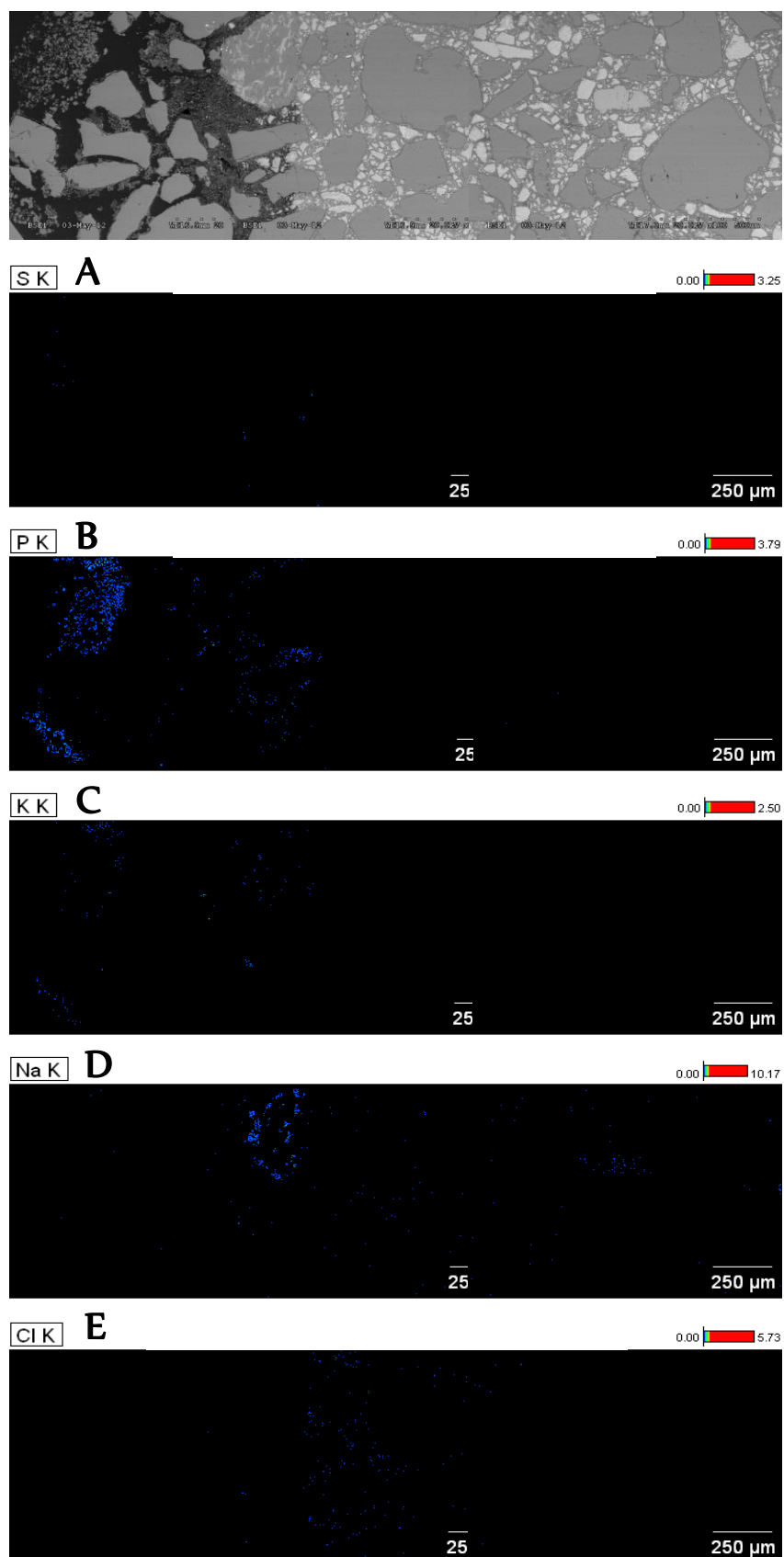


Figure 99 : Cartographies de P, K, Na et Cl contenus dans la bordure du mortier CAC CA4y après 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

La zone 3 est constituée de variscite, d'hydroxyapatite, de gel de silice, de titanate de calcium, d'hydroxyde d'aluminium, de gypse et d'ettringite.

- La zone 4 ou zone faiblement altérée, non poreuse et riche en Ca et en Al (Figure 95 – z_{f_h}). Cette zone est dépourvue de P mais contient de faibles quantités de S (Figures 99 A et B). Le ciment CAC étant dépourvu de S, ce dernier ne peut provenir que du milieu réactionnel. Les analyses EDS ponctuelles indiquent des rapports Ca/Al variant entre 0,6 et 0,7 de l'ordre d'une pâte de ciment de mortier sain (Figure 38). Par ailleurs, comme pour la zone 3, de quantités importantes de Cl ont été ponctuellement mesurées (entre 0,1 et 5,4%) (Figures 97 B et 99 E). Ainsi, la zone 4 est constituée de titanate de calcium, d'hydrogénat/stratlingite, d'hydroxyde d'aluminium et certainement de monosulfoaluminate de calcium hydraté.
- La zone 5 ou zone saine également riche en Ca et en Al est complètement dépourvue de P et de S (Figures 95 – z_{i-j} , 99 A et B). Les analyses EDS ponctuelles indiquent des rapports Ca/Al du même ordre que la zone 4 et la pâte de ciment d'un mortier sain (entre 0,6 et 0,7) (Figure 38). Ainsi, la zone 5 est constituée de titanate de calcium, d'hydrogénat/stratlingite et d'hydroxyde d'aluminium.

Par ailleurs, l'aluminate monocalcique (CA) et même la bélite (C_2S) ont été identifiés dans les mortiers au cours des analyses MEB (Figure 100). En effet, cette dernière n'avait pas été détectée au cours de l'analyse DRX du mortier CAC. Ainsi, l'hydratation de la pâte de ciment des mortiers CAC n'est pas totale même après un séjour de 84 jours à 30°C dans le milieu réactionnel. Ces mortiers ont encore une porosité importante.

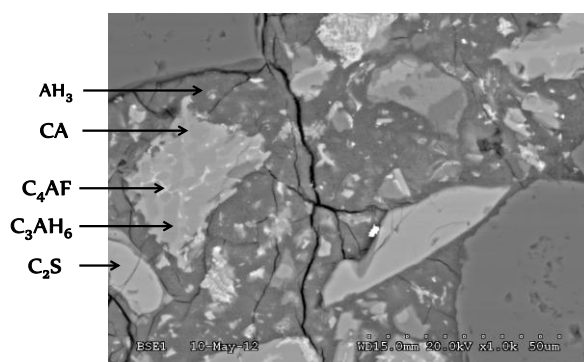


Figure 100 : Image MEB d'une section polie du mortier CA4y après 4 cycles de biodétérioration.

L'épaisseur altérée a été estimée à $1,7 \pm 0,1$ mm, 2 fois moins importante que celle du mortier OPC. L'épaisseur totale attaquée correspondant à la somme de l'épaisseur détériorée (analyse macroscopique) et de l'épaisseur altérée (analyses MEB/EDS) a été estimée à $3,0 \pm 0,5$ mm. Elle

correspond à l'attaque de 40% du volume initial du mortier CA4y (63 x 29 mm) et à une vitesse d'attaque de $13,0 \pm 2,9$ mm/an. Ainsi, un volume de matériau moins important semble être attaqué dans le mortier CA4y (volume attaqué = 40%) par rapport au OA4y (volume attaqué = 54%).

La V_D ou vitesse volumique d'attaque du mortier CA4y ($0,8 \pm 0,2$ mm.an⁻¹.cm⁻³) est 40 % supérieure à celle de l'essai de biodétérioration de Hajj Chehade (2010) pour le mortier CAC également attaqué par la BSO *A. thiooxidans* ($0,5 \pm 0,2$ mm.an⁻¹.cm⁻³). Ainsi, comme pour le mortier OPC, l'essai de biodétérioration présent est plus intense que celui de Hajj Chehade (2010).

Par ailleurs, il est constaté que les V_D des mortiers OPC et CAC sont équivalentes (respectivement $0,8 \pm 0,1$ et $0,8 \pm 0,2$ mm.an⁻¹.cm⁻³). Cependant, il serait erroné d'affirmer que les attaques des deux mortiers sont équivalentes car les deux types de mortiers ont des zonations différentes avec des degrés de dissolution également différents. Ainsi, ce paramètre ne pourra pas nous permettre de discriminer deux échantillons de mortier de différente nature contrairement à l'indice d'attaque qui sera présenté à la fin de ce chapitre.

2.2.2.2 Le mortier CA2 (2 cycles de biodétérioration / 1,5 mois)

Le mortier CA2, comme le mortier CA4y, renferme 5 zones biodétériorées (Figure 101). Les compositions et les épaisseurs de ces zones sont identiques à celles du mortier CA4y :

- La zone 1 ou couche de revêtement est constituée de taranakite (Figures 102 A) et a une épaisseur de l'ordre de 0,5 mm (Figure 101 - z_a).
- La zone 2 ou zone endommagée est également composée de variscite (Figure 102 B), de grains de titanate de calcium (Figure 102 B), de gel de silice (Figure 102 B) et d'hydroxyde d'aluminium (Figure 102 B).
- La zone 3 ou zone dégradée renferme de la variscite (Figure 102 C), de l'hydroxyapatite, des grains de titanate de calcium (Figure 103 A), du gel de silice (Figure 103 A), de l'hydroxyde d'aluminium (Figure 103 A), du gypse et de l'ettringite (Figure 102 C).
- La zone 4 ou zone faiblement altérée est constituée de grains de titanate de calcium, d'hydrogénat/stratlingite, d'hydroxyde d'aluminium (Figure 103 B) et certainement de monosulfoaluminate de calcium hydraté.
- La zone 5 ou cœur de mortier est une zone saine complètement dépourvue de phosphore et de soufre (Figure 101 - z_{h-j}) (Figure 103 C).

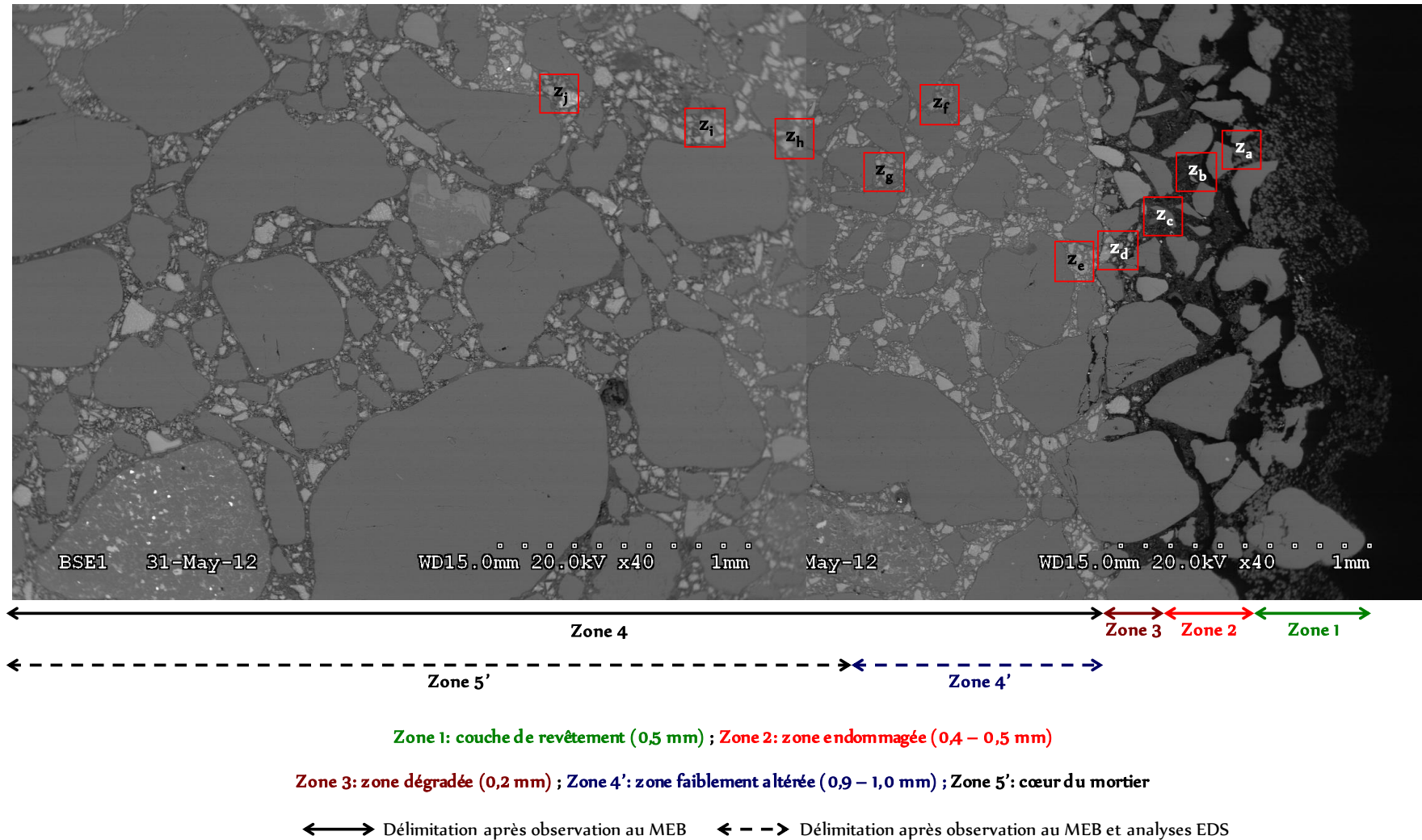


Figure 101 : Observations au MEB du mortier CAC CA2 après 2 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

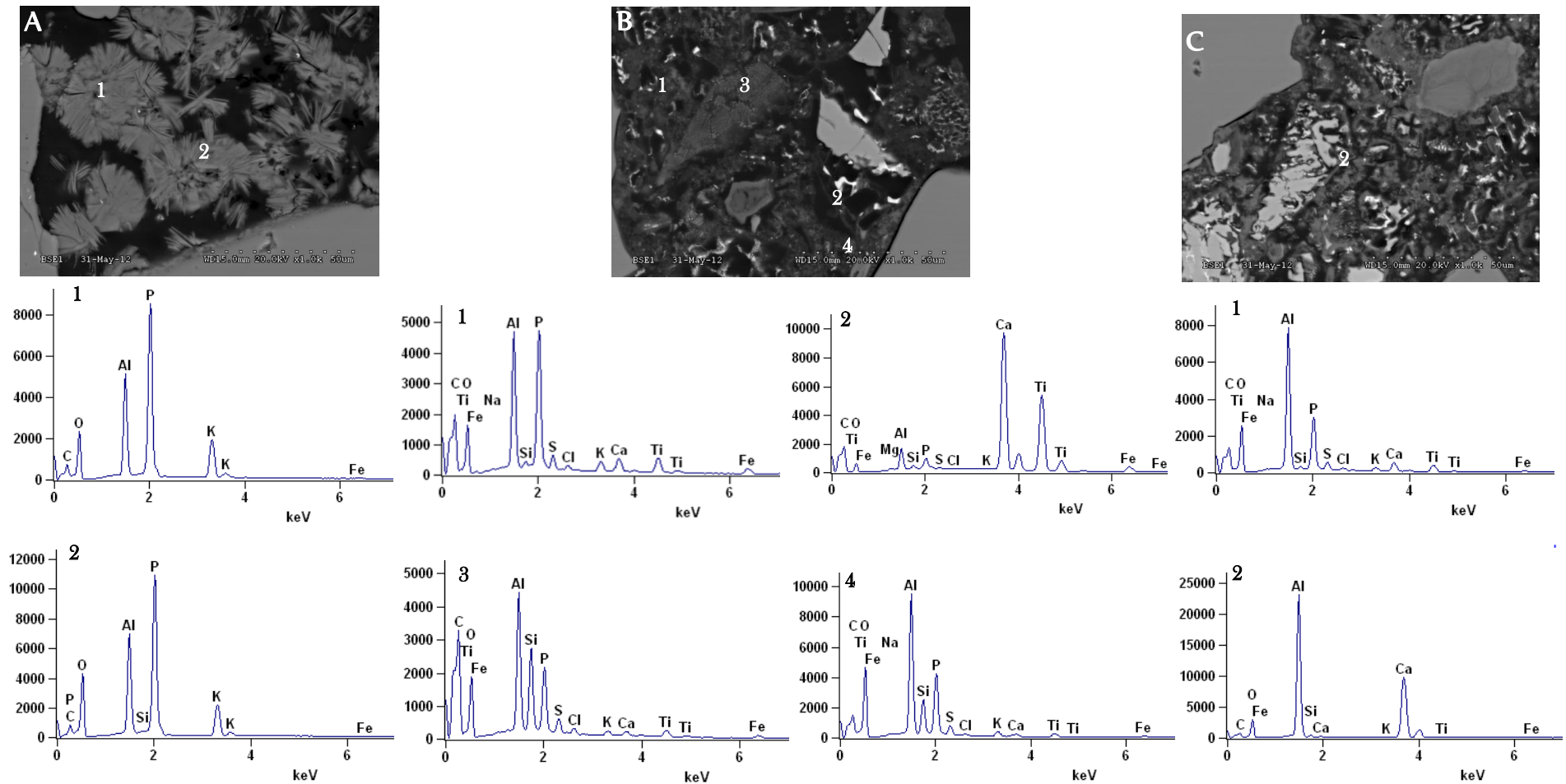


Figure 102 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CA2 après 2 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

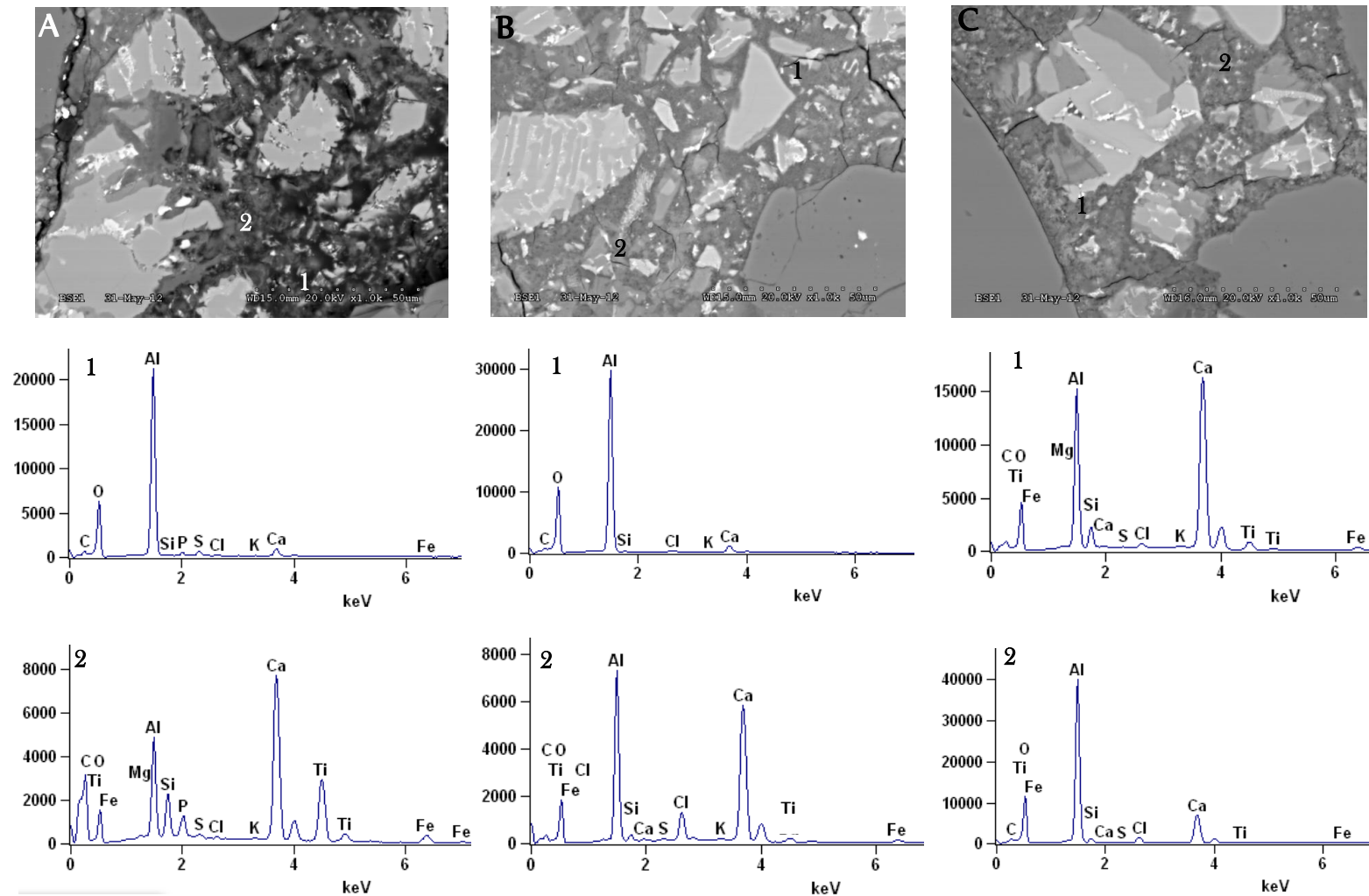


Figure 103 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CA2 après 2 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

L'épaisseur altérée a été estimée à 1,60 mm. L'épaisseur totale attaquée est de $2,4 \pm 0,1$ mm. Elle correspond à l'attaque de 33% du volume initial du mortier CA2 (63 x 29 mm) et à une vitesse d'attaque de $20,4 \pm 0,6$ mm/an. La V_D ou vitesse volumique d'attaque du mortier CA2 ($1,5 \pm 0,1$ mm.an⁻¹.cm⁻³) est environ 2 fois supérieures à celle du mortier CA4y. Ce résultat est similaire à celui trouvé avec le mortier OPC et provient du fait que l'épaisseur dégradée dépend de la vitesse de diffusion et donc évolue en racine du temps. En conséquence, les vitesses d'attaque ne sont pas un bon moyen de comparer les résultats pour des échantillons d'âge différent.

2.2.2.3. L'évolution dans le temps du mortier CAC

Une analyse comparative des sections des mortiers CA4y et CA2 a révélé que le mortier CA4y est à un stade de détérioration plus avancé que le mortier CA2. En effet, l'épaisseur totale attaquée du mortier CA4y est de $3,0 \pm 0,5$ mm tandis que celle du mortier CA2 est de $2,4 \pm 0,1$ mm (Figure 104).

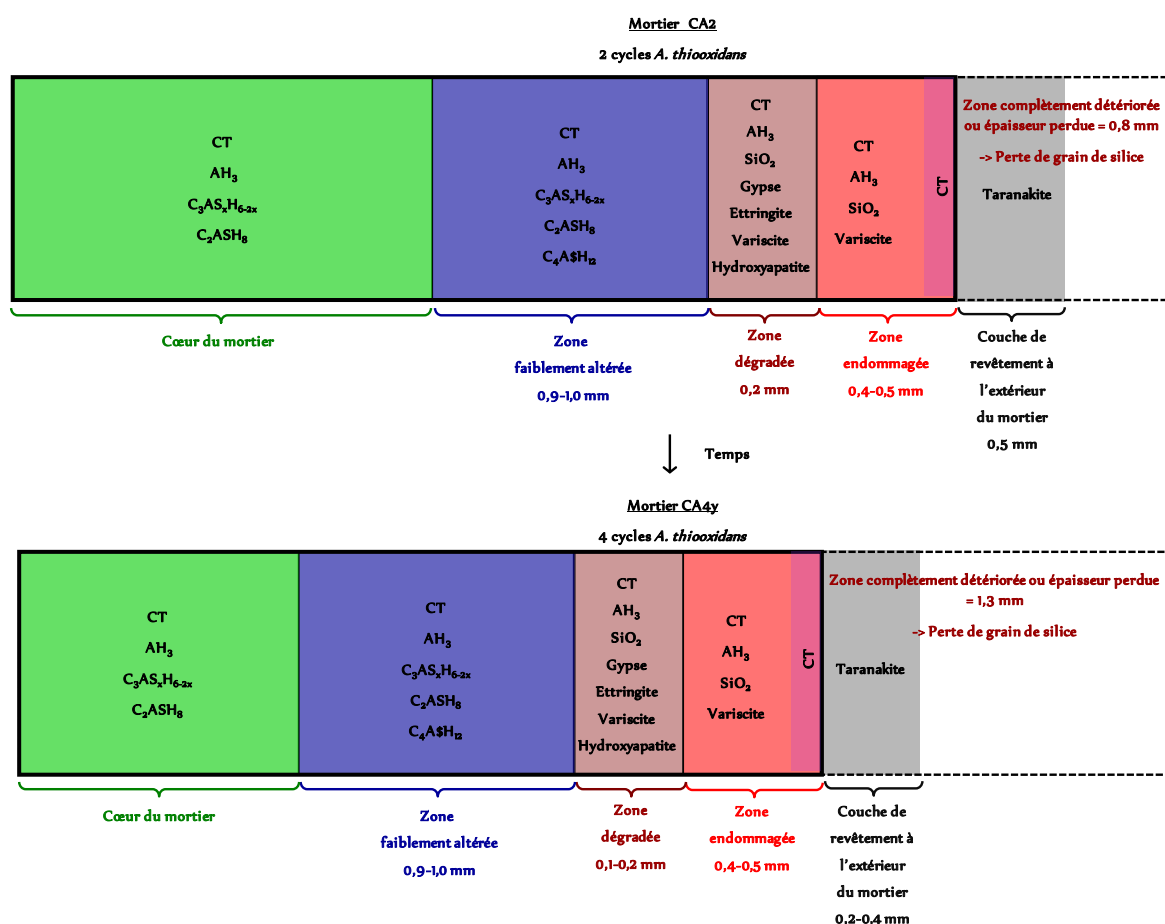


Figure 104 : Représentation schématique de la zonation des mortiers CA4y et CA2 après respectivement 4 cycles et 2 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

Cependant, contrairement aux mortiers OPC, les deux mortiers ont les mêmes zones détériorées, donc les mêmes profils de détérioration (Figure 104). Par ailleurs, les épaisseurs et les compositions des différentes zones détériorées du mortier CAC demeurent constantes au cours des cycles de biodétérioration à l'exception de la taille de la zone complètement détériorée qui augmente. Ainsi, la biodétérioration du mortier CAC semble évoluer dans le temps avec une translation vers le cœur des zones 2, 3 et 4 de même épaisseur alors que la zone totalement biodétériorée augmente. Cependant, l'accroissement de l'épaisseur de la zone totalement détériorée n'est pas directement visible puisque cette dernière s'effrite au cours de l'essai avant de pouvoir la mesurer à la fin. Ainsi, la zone endommagée devrait normalement largement augmenter dans le temps (Figure 105).

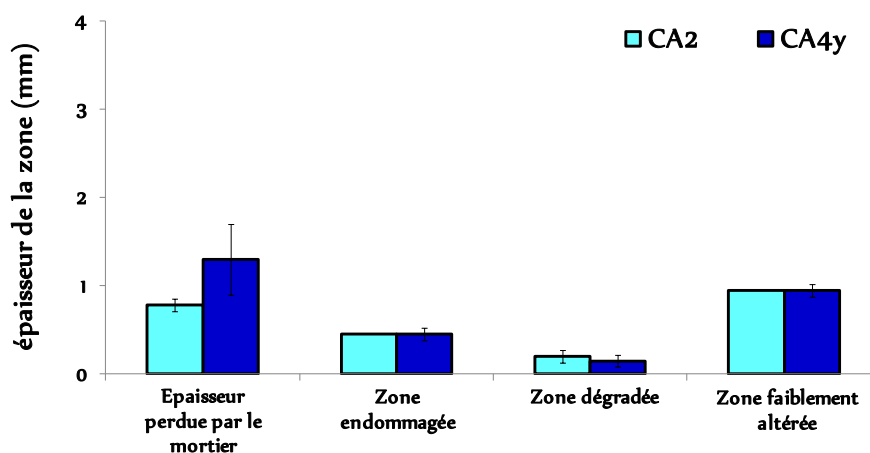


Figure 105 : Évolution dans le temps des épaisseurs des différentes zones composant le mortier CAC soumis à un essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

2.2.3. Conclusion

L'analyse minéralogique du mortier CA4y après les 4 cycles de biodétérioration a révélé la présence d'une couche de taranakite à la surface du mortier (Figure 96 A). Cette dernière n'a pas été observée à la surface des mortiers OPC. Cette différence est liée à la composition chimique élémentaire de la pâte de ciment des deux mortiers. En effet, le mortier CAC, qui contient 10 fois plus d'aluminium (Tableau 4 et 6), relargue 10 à 400 fois plus d'aluminium que le mortier OPC.

Au cours des cycles de biodétérioration, l'acide sulfurique produit par les *A. thiooxidans* dissout les phases alumineuses. Les ions aluminium issus de cette dissolution précipitent dans le mortier et à la surface de ce dernier sous forme de taranakite avec les ions phosphate venant du milieu réactionnel. La précipitation de taranakite explique en majorité la diminution des ions phosphate observée en solution au cours des cycles de biodétérioration (Figure 85, tableau 30). La variscite est également précipitée en plus faible quantité dans les zones superficielles du mortier (zones endommagée et dégradée) : ce minéral contribue également à la diminution des phosphates en solution.

Le gypse identifié dans le mortier au cours des analyses MEB/EDS (Figures 97 B) est responsable de la diminution des ions sulfate en solution observée au cours des cycles de biodétérioration (Figure 84, tableau 29). La précipitation de gypse est également associée à la formation d'ettringite. Toutefois, la quantité de gypse précipitée dans le mortier CAC est bien inférieure à celle précipitée dans le mortier OPC, bien que la précipitation des ions sulfate dans les milieux réactionnels contenant les mortiers OPC ou CAC soit équivalente (Figures 58 et 84, tableaux 24 et 29).

La vitesse d'attaque du mortier CA4y a été estimée à $13,04 \pm 2,9$ mm/an, inférieure à celle du mortier CA2 estimée à $20,4 \pm 0,6$ mm/an alors que la vitesse de relargage moyenne des éléments chimiques du mortier CA4y ($1,3E-01 \text{ mol.j}^{-1}.\text{m}^{-2}$) est quasi équivalente à celle du mortier CA2 ($1,2E-01 \text{ mol.j}^{-1}.\text{m}^{-2}$). Ainsi, la diffusion des éléments du mortier vers le milieu réactionnel est constante au cours des cycles de biodétérioration contrairement au cas du mortier Portland. Ce résultat est à relier avec la constance du volume attaqué si l'on omet la zone complètement détériorée alors que le volume dégradé augmente au cours du temps pour le mortier Portland.

Les analyses MEB/EDS et cartographiques révèlent que les zones 2 – 3 (zone endommagée et zone dégradée), qui ont une porosité importante, sont quasiment dépourvues d'éléments chimiques, car ces dernières ont été intensément attaquées (Figure 98). Les zones 4 et 5 ont une porosité moins importante et la cinétique d'attaque est gouvernée par la diffusion.

3. Synthèse des résultats de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*

Les analyses biologiques et chimiques des milieux réactionnels d'une part et les analyses macroscopiques et microscopiques des mortiers d'autre part ont permis de constater que la procédure expérimentale mise en place pour la réalisation de l'essai de biodétérioration est robuste et répétable. Les conditions expérimentales ont donc permis d'avoir une croissance bactérienne bien reproductible.

Les analyses chimiques ont révélé que l'évolution du pH au contact des mortiers OPC et CAC est sensiblement équivalente (Figure 106) ; ce qui permet de comparer de façon quantitative les deux types de mortiers. La différence de période de latence observée au cours des cycles de biodétérioration, 5 jours pour le mortier OPC contre 1 jour pour le mortier CAC, est très certainement due à la nature des pâtes de ciment. En effet, le mortier OPC a une basicité plus élevée que celle du mortier CAC (des pH de 12,4 et 13,5, respectivement), il a donc une capacité de neutralisation plus importante [Lamberet, 2005 ; Letourneux and Scrivener, 1999 ; Macias *et al.*, 1996].

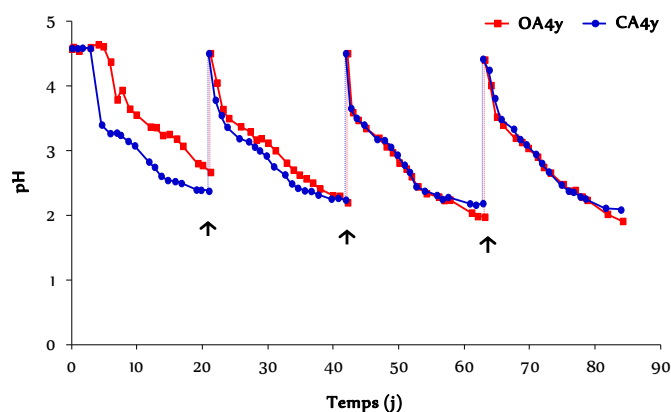


Figure 106 : Évolution du pH des milieux réactionnels en contact des OA4y et CA4y au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans* (↑ renouvellement du milieu réactionnel).

Les analyses chromatographiques des ions sulfate ont révélé qu'hormis pour le cycle 1, la production d'acide sulfurique au contact des mortiers CAC est équivalente à celle produite au contact des mortiers OPC (Figure 107).

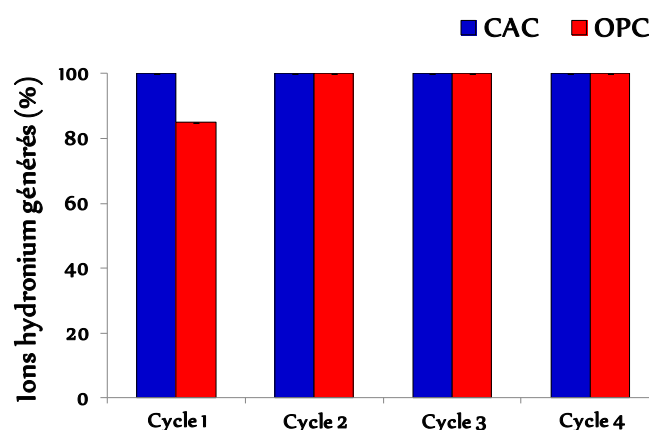


Figure 107 : Production d'ions hydronium dans les milieux réactionnels en contact de mortiers OA4y et CA4y au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

Ainsi, dans les conditions expérimentales de cette étude, le mortier CAC semble n'avoir d'impact ni sur le développement bactérien, ni sur l'activité bactérienne de *A. thiooxidans*.

Les analyses macroscopiques et microscopiques des mortiers ont permis d'évaluer avec exactitude les épaisseurs réellement détériorées et attaquées des mortiers CAC (Tableau 34). Il en ressort que l'épaisseur totale attaquée du mortier OPC est supérieure à celle du mortier CAC (respectivement $4,4 \pm 0,2$ mm et $3,2 \pm 0,2$ mm). Les analyses MEB/EDS des deux types de mortier ont révélé une intensité d'attaque très différente. Le mortier OPC a un gradient d'attaque assez constant conduisant à une petite épaisseur complètement détériorée ou épaisseur perdue ($0,4 \pm 0,1$ mm), tandis que le

mortier CAC est fortement attaqué en surface et beaucoup moins en profondeur. En effet, l'épaisseur complètement détériorée ou épaisseur perdue du mortier CAC est de $1,3 \pm 0,4$ mm.

	Analyse macroscopique		Analyse microscopique		Analyse macroscopique et microscopique		
	Épaisseur totale perdue (mm)	Vitesse de détérioration (mm/an)	Épaisseur altérée (mm)	Vitesse d'altération (mm/an)	Épaisseur totale attaquée (mm)	Vitesse d'attaque (mm/an)	Vitesse d'attaque normalisée au volume attaqué ($\text{mm.an}^{-1}.\text{cm}^{-3}$)
OA4y	$0,4 \pm 0,1$	1,5	$4,0 \pm 0,2$	$17,4 \pm 0,8$	$4,4 \pm 0,2$	$18,3 \pm 1,4$	$0,8 \pm 0,1$
CA4y	$1,3 \pm 0,4$	$5,6 \pm 2,4$	$1,7 \pm 0,1$	$7,5 \pm 0,7$	$3,0 \pm 0,5$	$13,0 \pm 2,9$	$0,8 \pm 0,2$

Tableau 34 : Évaluations macroscopiques et microscopiques des épaisseurs et des vitesses de détérioration, d'altération et d'attaque des mortiers OA4y et CA4y après 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

Ces résultats apportent un éclairage sur la méthodologie la plus adaptée à utiliser pour évaluer la vitesse d'attaque d'un échantillon, surtout dans le cas où l'on veut discriminer différentes formulations de matériaux cimentaires. En effet, en fonction de la méthodologie utilisée, les conclusions sur les performances des différents matériaux peuvent être contradictoires. Dans notre étude par exemple, si l'on considère uniquement l'épaisseur totale complètement détériorée (analyse macroscopique), tel est le cas de Mori *et al.* (1992), De Belie *et al.* (2004) et Gutiérrez-Padilla *et al.* (2010), il apparaît que le mortier CAC (vitesse moyenne de détérioration = $5,62 \pm 2,4$ mm/an) est 4 fois moins performant que le mortier OPC (vitesse moyenne de détérioration = 1,5 mm/an). Par contre si l'on considère uniquement l'épaisseur altérée (analyse MEB/EDS), tel est le cas de Hajj Chehade (2010), le même mortier CAC devient 2 fois plus performant que le mortier OPC. Ce résultat principalement induit par des temps d'essai différents et une évolution non linéaire en fonction du temps à cause d'un mécanisme initialement contrôlé par la diffusion démontre que ce n'est pas un paramètre pertinent pour différencier la performance des formulations. De plus, il est important de considérer des observations macroscopique et microscopique. Ces deux types d'évaluation apportent un éclairage sur le processus de détérioration de chaque nature de mortier. En effet, l'attaque du mortier OPC est profonde et modérée tandis que celle du mortier CAC est superficielle et très intense induisant une perte de grains de silice par l'échantillon de mortier.

Les paramètres physiques n'ont pas permis de quantitativement discriminer les deux types de mortiers. Ainsi, une attention particulière a été reportée à l'évolution des éléments contenus dans les milieux réactionnels en contact des mortiers. Par conséquent, des bilans de matières ont été réalisés sur la composition des milieux de culture afin d'évaluer l'activité bactérienne des BSOA en présence des mortiers. Des bilans de matière ont également été établis sur les échantillons de mortier afin d'évaluer quantitativement l'attaque chimique subie par ces derniers suite à l'activité bactérienne, en l'occurrence la production d'acide sulfurique.

Le bilan de matière a permis de déterminer que d'importantes quantités d'ions phosphate et sulfate ont précipité dans le milieu et/ou le mortier au cours des cycles de biodétérioration. Une plus grande quantité d'ions phosphate a été précipitée dans les réacteurs contenant les mortiers CAC, à la surface desquels une couche de taranakite ($K_3Al_5[HPO_4]_6[PO_4]_2[H_2O]_{18}$) a été identifiée. Contrairement aux ions phosphate, une quantité équivalente d'ions sulfate a précipité dans les réacteurs contenant les mortiers OPC et CAC. Toutefois, la présence de fortes quantités de gypse et d'ettringite n'a été détectée que dans les mortiers OPC. Par contre, dans les mortiers CAC seulement une faible quantité de gypse et d'ettringite a été identifiée. Ceci conduit à une incertitude sur le bilan de matière pour les sulfates.

Par ailleurs, vis-à-vis des conditions *in situ*, on peut légitimement s'interroger sur l'impact des phosphates, qui, certes présents dans les égouts, le seront certainement en concentrations plus faibles. En effet, dans nos essais, la gibbsite est déstabilisée par les faibles valeurs de pH et la présence de phosphates pour former de la variscite puis de la taranakite. Ces minéraux conduisent à des zones très poreuses sans cohésion et limitent l'accumulation des ions aluminates en solution lors de l'essai.

Les analyses chimiques des éléments relargués dans les milieux réactionnels au cours des cycles de biodétérioration révèlent que les mécanismes contrôlant la cinétique de biodétérioration des mortiers OPC et CAC varient en fonction des zones attaquées entre la diffusion (dans les zones peu poreuses) et la dissolution des phases (dans les zones très poreuses). Ainsi, la vitesse de relargage des éléments varie en fonction de la composition minéralogique des zones constituant le mortier.

La zonation observée lors des essais est complexe ; les mortiers OA4y et CA4y présentent respectivement 6 et 4 zones plus ou moins détériorées allant de la zone la plus attaquée ou zone endommagée à la zone saine ou cœur de mortier (Figure 108). On constate également des différences entre mortiers OPC et CAC au niveau de la solubilité des minéraux dans nos conditions d'attaques acides. Dans le cas du mortier OPC, il se forme un gel de silice en grande quantité dans la zone endommagée. Ce dernier est très peu soluble et maintient encore une certaine cohésion des grains de quartz du mortier. De façon opposée, la zone endommagée du mortier CAC n'a plus de cohésion ; cette dernière se disloque durant l'essai libérant ainsi les grains de quartz du sable qui tombent au fond du réacteur. La dislocation est due au fait que cette zone contient principalement de la variscite et de la taranakite qui ne sont pas des phases cohésives. Par contre, les analyses macroscopiques et MEB/EDS ont permis de constater que les deux types de mortiers avaient des mécanismes de dégradation différents. En effet, le mortier CAC subit une attaque très intense, mais néanmoins superficielle alors que l'attaque est moins intense, mais plus profonde pour le mortier OPC. Ainsi, pour pouvoir comparer la performance des deux types de mortier, les indices d'attaque (*IA*) ont été normalisés au volume attaqué de chaque échantillon de mortier.

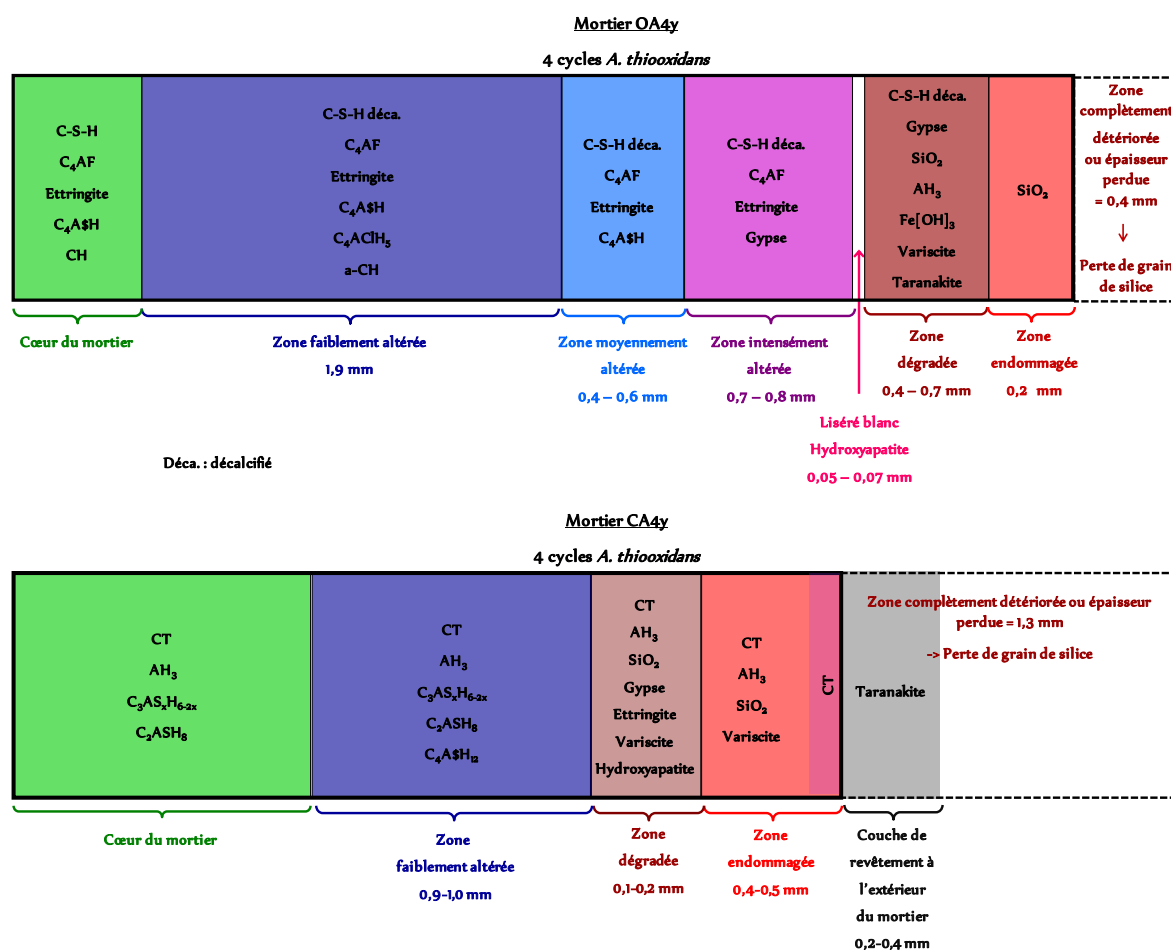


Figure 108 : Représentation schématique de la zonation des mortiers OA4y et CA4y après 4 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

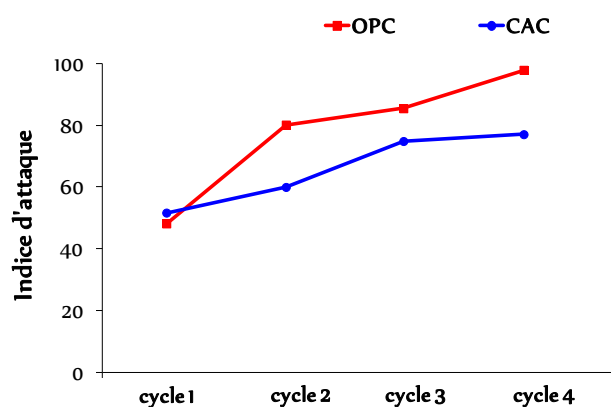
Les paramètres physiques n'ont pas permis de discriminer les deux types de formulation de mortier, d'où l'utilisation de l'indice d'attaque (*IA*) (Tableau 35). Les indices d'attaque *IA* et *IA,v* permettent bien de discriminer les deux mortiers : le mortier CAC obtient des indices d'attaque plus faibles, signe d'une moindre détérioration que le mortier OPC. Ce résultat est cohérent avec la littérature [Alexander and Fourie, 2011 ; Lamberet, 2005 ; Ehrich et *al.*, 1999 ; Hajj Chehade 2010], qui souligne la meilleure performance des matériaux cimentaires réalisés à base de ciment alumineux. Ainsi, contrairement aux paramètres physiques, les paramètres chimiques, en l'occurrence l'*IA,v*, semblent être de bons outils pour discriminer les deux types de mortier (OPC et CAC). En effet, l'*IA,v* prend en compte les modifications aussi bien physiques que chimiques intervenant dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

		Eléments relargués (mole)	H ⁺ générés (mole)	Eléments dans mortier (mole)	% d'éléments relargués	% d'éléments relargués normalisés à 100	% normalisé / mole de H ⁺	Indice d'attaque (IA)	IA rapporté au ratio volume attaqué / volume initial (IA, V)	IA, V essai Hajj Chehade (2010)
OPC	Ca	1,07E-01	4,29E-01	2,20E-01	49	42	99	107	58,2	65,3
	Si	4,29E-03	4,29E-01	5,61E-02	8	0	1			
	Al	8,22E-03	4,29E-01	2,03E-02	41	3	6			
	Fe	3,02E-03	4,29E-01	1,09E-02	28	1	2			
CAC	Ca	5,00E-02	4,36E-01	1,42E-01	35	15	34	75	30,1	49,0
	Si	1,63E-03	4,36E-01	1,64E-02	10	0	0			
	Al	6,68E-02	4,36E-01	2,10E-01	32	18	41			
	Fe	1,27E-03	4,36E-01	4,71E-03	27	0	1			

Tableau 35 : Indices d'attaque de l'essai de biodétérioration des mortiers OPC et CAC.

Toutefois, la meilleure performance relative du mortier CAC par rapport au mortier OPC pourrait diminuer avec des essais plus longs puisqu'il a été démontré que dans les zones très altérées tous les hydrates du mortier CAC sont dissous alors qu'un gel de silice très peu soluble est formé avec le mortier OPC. Il est donc intéressant de comparer l'évolution de l'IA de chaque cycle (calculé à partir de la quantité d'éléments relargués durant le cycle considéré) et de l'IA global à chaque cycle (calculé à partir de la quantité d'éléments relargués depuis le début de l'essai jusqu'au cycle considéré).

Si l'on considère individuellement chaque cycle de biodétérioration, on observe qu'en général, quel que soit le mortier considéré, l'indice d'attaque augmente au cours des cycles de biodétérioration (Figure 109).

Figure 109 : Évolution des Indices d'attaque des mortiers OPC et CAC au cours des cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

La production d'acide est relativement constante au cours des cycles de biodétérioration mais la chute du pH est de plus en plus rapide au fur et à mesure que l'essai avance. Ainsi, l'augmentation de l'IA est due à l'impact grandissant du pH rapidement plus faible et de l'augmentation du volume

dégradé notamment pour le mortier OPC. Ceci pourrait être corrigé si l' IA_v pouvait être calculé pour chaque cycle, ce qui serait possible en sacrifiant des échantillons.

Les IA_v des mortiers OPC (58,2) et CAC (30,1) sont respectivement en moyenne 11% et 39% moins important que ceux déterminés dans l'étude de Hajj Chehade (2010) (65,3 mortier OPC ; 49,0 mortier CAC). Cette différence illustre bien l'impact du pH sur le relargage des éléments chimiques même pour des quantités totales d'ions hydronium semblables. En effet, dans le cas de l'essai de Hajj Chehade, le pH augmente en partant de 1,8 à des valeurs supérieures à 3 suite à la lixiviation du mortier, la majorité des ions hydronium étant apportés par le milieu. Dans notre essai, le pH part de 4,5 et va progressivement diminuer suite à la production d'ions hydronium par l'activité bactérienne.

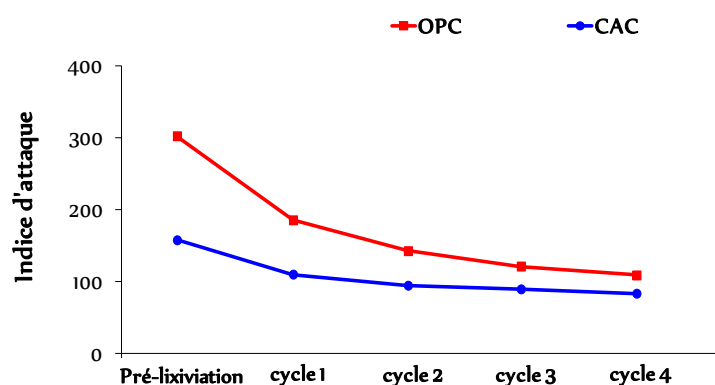


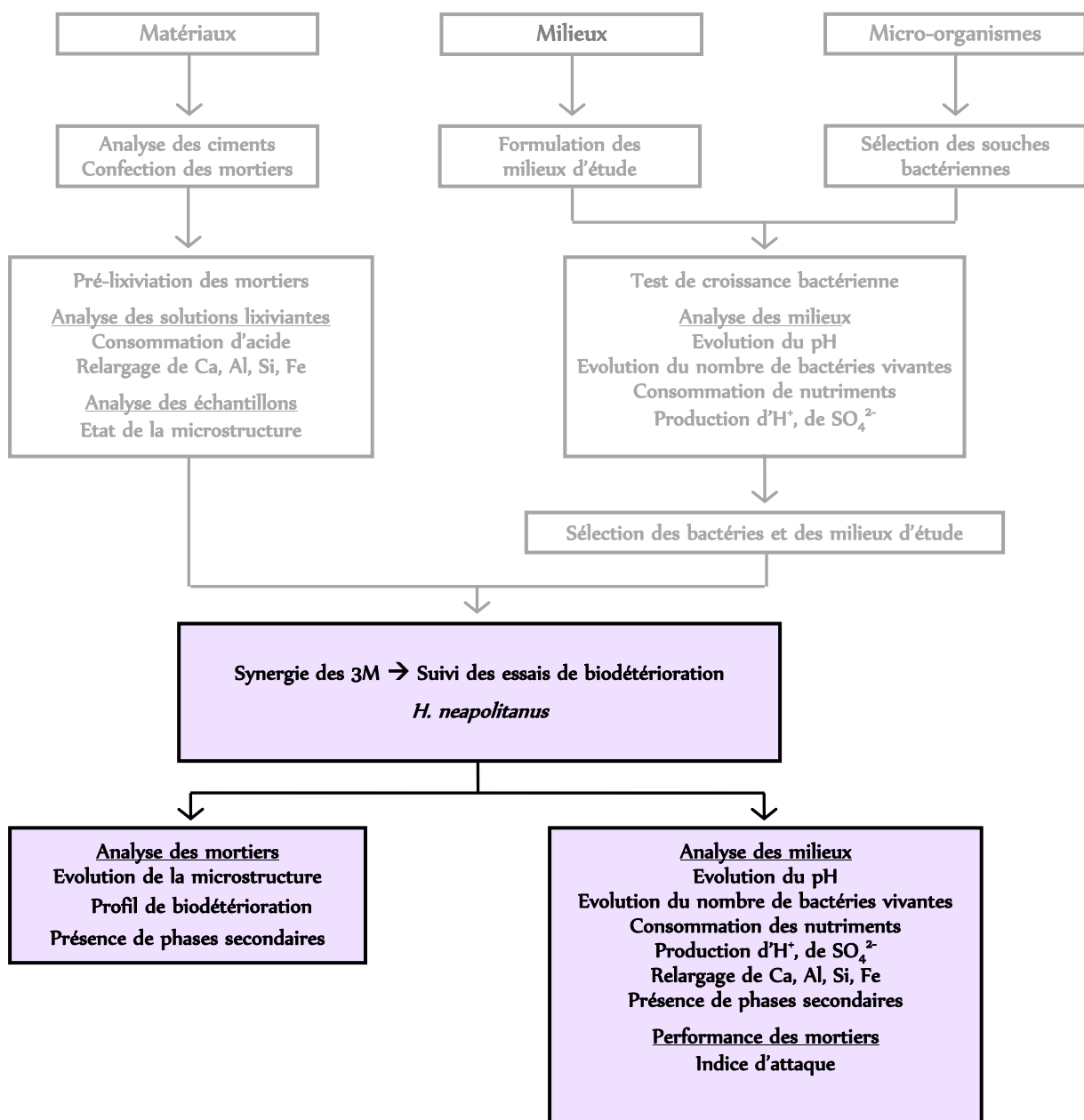
Figure 110 : Évolution des Indices d'attaque globaux des mortiers OPC et CAC au cours de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

L'effet du pH est aussi important lors de l'étape de pré-lixiviation à pH=1, qui, dans le cas présent, conduit à un IA nettement plus fort que celui des cycles de biodétérioration (figure 110). En effet, une pré-lixiviation intense à pH inférieur à celui de l'essai induit un effet « mémoire » sur le comportement du mortier lors des 1 à 2 cycles suivants. Il s'en suit un faible relargage d'éléments chimiques puisque les phases facilement solubles ont été lixiviées sur une épaisseur significative. Il faudra donc un certain temps pour que le mécanisme de diffusion conduise à nouveau à dissoudre ces phases situées plus en profondeur de l'échantillon. L'essai pourrait donc être amélioré en utilisant une pré-lixiviation à pH=2 comme pour les autres essais présentés dans les chapitres suivants.

CHAPITRE 5 : ESSAI DE BIODÉTERIORATION

AVEC

H. neapolitanus



1. Analyse de l'essai de biodétérioration du mortier OPC

1.1. L'évolution du milieu réactionnel

1.1.1 L'évolution du pH

L'évolution du pH des milieux réactionnels en contact des mortiers OPC montre une répétabilité des essais (Figure III). Cette dernière est moins bonne que pour l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans* et devient meilleure quand le nombre de cycles augmente.

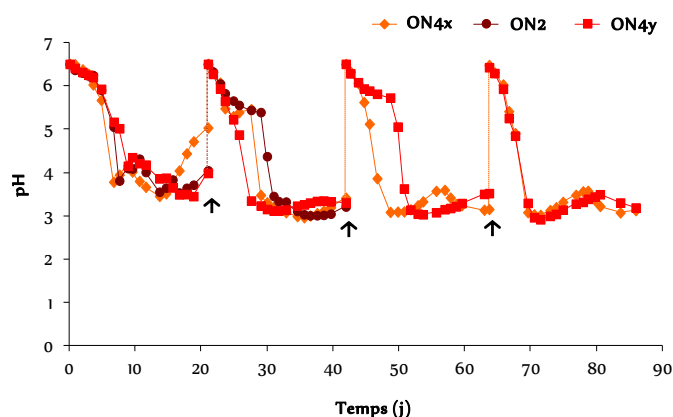


Figure III : Évolution du pH des milieux réactionnels en contact de mortier OPC (ON4x, ON2, ON4y) au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* (↑ renouvellement du milieu réactionnel).

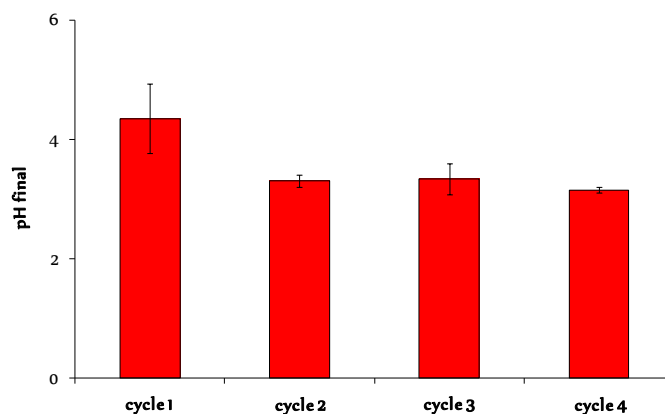


Figure II2 : pH moyens finaux des milieux réactionnels en contact de mortiers OPC au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

Le pH du milieu réactionnel diminue globalement après chaque renouvellement du fait du développement de *H. neapolitanus*. Cependant, au cours des cycles de biodétérioration, pour chaque mortier, une chute de pH est initialement observée, suivie d'une faible remontée de pH avant une nouvelle chute du pH pour certains mortiers. Ces descentes et remontées de pH observées au cours de l'essai de biodétérioration mettent bien en évidence la compétition entre la diminution du pH due

à la production d'acide sulfurique en relation avec l'activité bactérienne et l'augmentation du pH due à la lixiviation du mortier. Ainsi, la remontée du pH à la fin du cycle 1 est plus importante qu'à la fin des cycles suivants. En conséquence, les pH atteints par les milieux réactionnels à la fin de chaque cycle sont de plus en plus bas au cours de l'essai de biodétérioration (Figure 112).

1.1.2 Évolutions des concentrations des constituants du milieu de croissance et estimation de la quantité d'acide sulfurique biogénérée

Au cours de l'essai de biodétérioration, aucun précipité n'a été observé dans le milieu réactionnel. Ce dernier est juste devenu progressivement trouble durant chaque cycle à cause de la croissance des BSO (Figures 113).

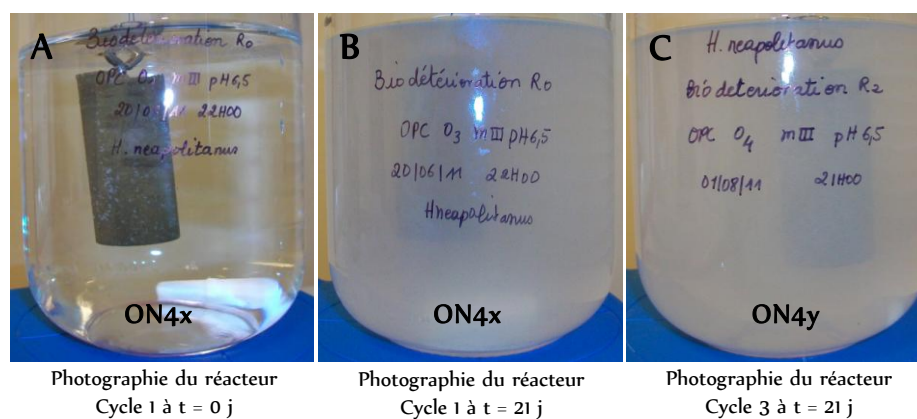


Figure 113 : Etat du milieu réactionnel avant et après un cycle de biodétérioration de mortier OPC avec *H. neapolitanus*.

L'analyse chromatographique de la consommation du thiosulfate par *H. neapolitanus* montre également une répétabilité des essais (ON4x, ON2, ON4y) (Figure 114 A). Cependant, contrairement à l'essai avec *A. thiooxidans*, tout le thiosulfate disparaît après 7 jours de croissance au lieu des 14 jours précédemment observés. Cette différence est liée à la croissance plus rapide de *H. neapolitanus* dans le milieu III (Figure 42, tableau 15).

L'évolution des quantités de sulfates montre également une très bonne répétabilité des essais (ON4x, ON4y, ON2) (Figure 114 B). Par contre, contrairement à l'essai avec *A. thiooxidans*, la quantité maximale d'ions sulfate à la fin d'un cycle diminue avec le nombre de cycles. La baisse de la quantité de sulfates en solution peut avoir pour origine une diminution de la production d'acide sulfurique par les bactéries à cause de la formation de tétrathionate. En effet, la stabilité de ce dernier dépend du pH comme démontré lors de nos expériences de croissance et celles réalisées par Parker et Prisk (1953) (Figure 43 A, tableau 17). Toutefois, la consommation des sulfates par la précipitation de

minéraux secondaires comme le gypse peut également conduire à la diminution de la quantité de sulfates en solution.

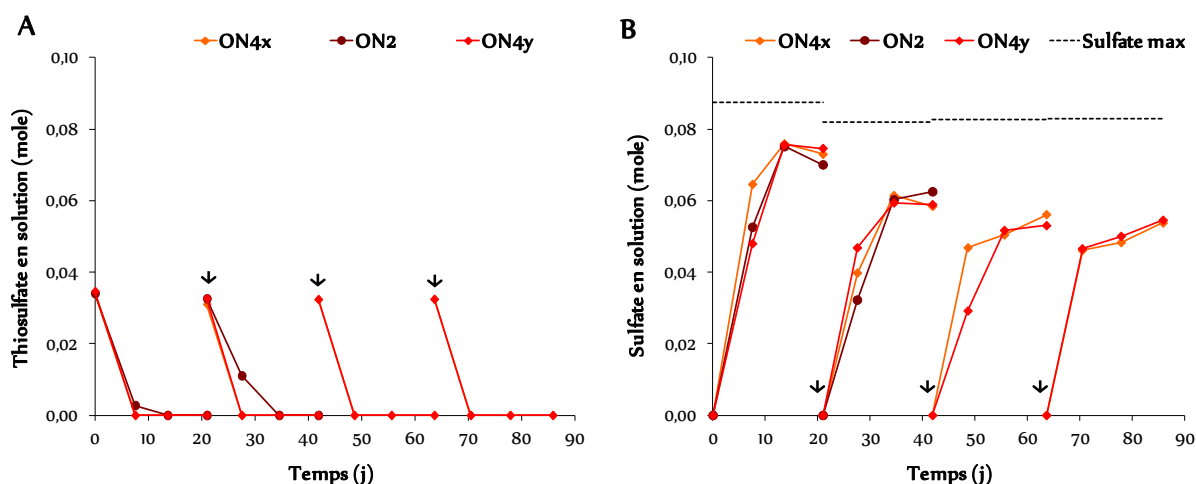


Figure 114 : Évolution des ions thiosulfate (A) et sulfate (B) en solution dans les milieux réactionnels en contact des mortiers OPC (ON4x, ON4y, ON2) au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* (↓ renouvellement du milieu réactionnel).

Le bilan de matière sur le soufre permet de constater qu'en dehors du cycle 1, au cours duquel la production d'acide sulfurique est maximale, la quantité de tétrathionate accumulée en solution augmente au cours des cycles de biodétérioration. Ainsi, la source de soufre disponible à la croissance de *H. neapolitanus* diminue induisant un déficit maximal de 22,8% dans la production d'ions hydronium par *H. neapolitanus* bien qu'une diminution du pH du milieu réactionnel soit observée à la fin de chaque cycle (Figure 115 A, tableau 36). La diminution progressive de la production d'acide sulfurique est directement liée à l'augmentation de la quantité de tétrathionate accumulée et indirectement liée à la diminution de la capacité de neutralisation du mortier OPC. En effet, d'après Parker et Prisk, le tétrathionate est stable pour les pH inférieurs à 4,7. Or au cours des cycles de biodétérioration, le mortier OPC relargue des ions hydroxyde qui contribuent à maintenir le pH à des valeurs supérieures à 4,7, en moyenne 8 jours pour le cycle 1, 7 jours pour le cycle 2, 6 jours pour le cycle 3 et 4 jours pour le cycle 4. Ainsi, on peut constater que plus la capacité de neutralisation du mortier est importante, plus la production d'acide sulfurique est importante et moins le tétrathionate est accumulé en solution (Figure 115 A, tableau 36, Chapitre 3) [Ehrich *et al.*, 1999]. Par ailleurs, l'accumulation de tétrathionate au cours de l'essai est 2 à 4 fois moins importante que celle se produisant au cours des cultures bactériennes. Elle correspond à 2,2 – 12,2% de la quantité initiale de thiosulfate contenu dans le réacteur (Figure 115 A, tableau 37).

La quantité de sulfates précipitée dans le mortier diminue en valeur absolue, car la quantité globale de sulfates produite diminue. Toutefois, le pourcentage de sulfates consommé pour former ces

précipités reste voisin de 16% pour chaque cycle (Figure 115 B, tableau 36). Cette quantité est généralement moindre que celle observée au cours de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*. Ainsi, la proportion de phases soufrées secondaires (gypse et ettringite) précipitée dans le mortier OPC au cours de l'essai de biodétérioration par la BSO *H. neapolitanus* devrait être moins importante que celle précipitée au cours de l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*.

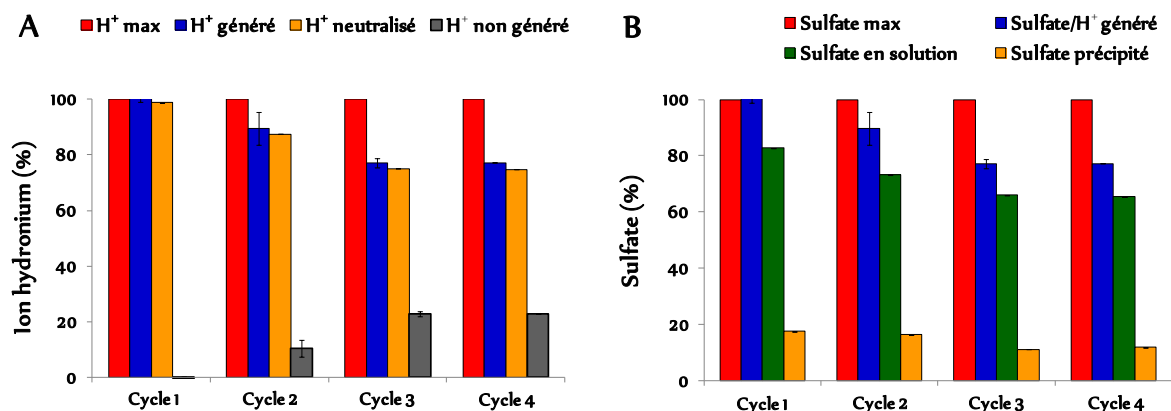


Figure 115 : A – Quantité d'ions hydronium générés par *H. neapolitanus* et neutralisés par le mortier au cours de l'essai de biodétérioration. B - Quantité d'ions sulfate générés par les bactéries, présents en solution et précipités dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration. Les ions hydronium non générés correspondent au tétrathionate accumulé.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Sulfate/H ⁺ attendu (mole)	8,76E-02 ± 8,21E-04	8,21E-02 ± 2,28E-03	8,28E-02 ± 3,99E-05	8,29E-02 ± 9,12E-05
Thiosulfate non-consommé (mole)	0	0	0	0
Tétrathionate accumulé (mole)	0	2,15E-03 ± 1,23E-03	4,73E-03 ± 3,26E-04	4,72E-03 ± 1,88E-05
Thiosulfate correspondant (%)	0	5,23 ± 3,01	11,42 ± 0,79	11,39 ± 0,05
Sulfate correspondant (%)	0	10,42 ± 5,84	22,84 ± 1,59	22,79 ± 0,07
Sulfate/H ⁺ généré (mole)	8,80E-02 ± 1,83E-03	7,35E-02 ± 4,56E-03	6,39E-02 ± 1,34E-03	6,40E-02 ± 1,59E-05
Sulfate/H ⁺ généré (%)	100,00	89,58 ± 5,84	77,16 ± 1,59	77,21 ± 0,07
Sulfate en solution (mole)	7,26E-02 ± 2,32E-03	6,00E-02 ± 2,23E-03	5,46E-02 ± 2,18E-03	5,42E-02 ± 5,62E-04
Sulfate en solution (%)	82,46 ± 1,00	81,71 ± 3,00	85,53 ± 5,21	84,62 ± 0,86
Sulfate précipité dans mortier (mole)	1,54E-02 ± 6,09E-04	1,35E-02 ± 2,88E-03	9,28E-03 ± 3,52E-03	9,85E-03 ± 5,46E-04
Sulfate précipité dans mortier (%)	17,54 ± 0,86	18,29 ± 0,14	14,47 ± 5,21	15,38 ± 0,86
H ⁺ calculé à partir du pH (mole)	6,79E-05 ± 5,12E-05	5,01E-04 ± 1,17E-04	5,05E-04 ± 2,85E-04	7,01E-04 ± 6,95E-05
ΔH ⁺ [H ⁺ généré - H ⁺ calculé - H ⁺ neutralisé par le milieu] ou H ⁺ neutralisé par le mortier (mole)	8,67E-02 ± 1,84E-03	7,17E-02 ± 4,50E-03	6,21E-02 ± 1,63E-03	6,21E-02 ± 8,54E-05
H ⁺ neutralisé par le mortier (%)	98,49 ± 0,07	97,60 ± 0,14	97,23 ± 0,50	96,94 ± 0,11

Tableau 36 : Quantités de composés soufrés produits, accumulés et des quantités d'ions hydronium neutralisés par le milieu et le mortier au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

Par ailleurs, l'analyse des ions phosphate indique une légère précipitation d'ions phosphate au cours des cycles de biodétérioration à l'exception du dernier cycle (Figure 116, Tableau 37).

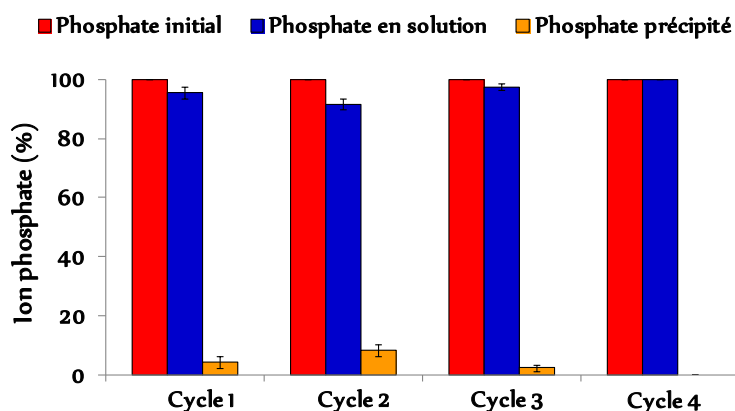


Figure 116 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution à la fin de cycle et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 3
Phosphate initiale (mole)	4,79E-02 ± 4,49E-04	4,49E-02 ± 1,25E-03	4,53E-02 ± 2,18E-05	4,54E-02 ± 4,99E-05
Phosphate en solution (mole)	4,59E-02 ± 1,39E-03	4,12E-02 ± 2,78E-04	4,42E-02 ± 5,26E-04	4,64E-02 ± 1,11E-03
Phosphate en solution %	95,69 ± 2,08	91,74 ± 1,97	97,58 ± 1,11	100
Phosphate précipité (mole)	2,06E-03 ± 9,83E-04	3,73E-03 ± 9,74E-04	1,10E-03 ± 5,04E-04	0
Phosphate précipité %	4,31 ± 2,08	8,27 ± 1,97	2,42 ± 1,11	0

Tableau 37 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de chaque cycle de l'essai de biodétérioration.

1.1.3. Le dénombrement bactérien

Le dénombrement des populations bactériennes montre également une répétabilité des essais (Figure 117). Le nombre de bactéries actives en présence de mortiers OPC est voisin de 10^{+9} bactéries/mL à la fin de tous les cycles.

Ainsi, la présence du mortier OPC ne semble pas affecter le développement bactérien de *H. neapolitanus*. Elle semble au contraire augmenter l'activité bactérienne de *H. neapolitanus*, car la génération d'acide sulfurique est 26 - 46 % plus importante en présence du mortier OPC comparé au milieu III seul (Figures 43 A, tableaux 17 et 36).

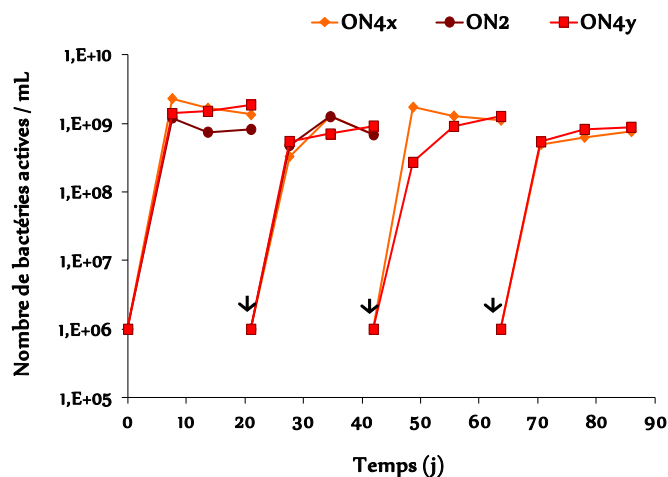


Figure 117 : Évolution du nombre de bactéries actives dans les milieux réactionnels en contact des mortiers OPC (ON4x, ON4y, ON2) au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* (↓ renouvellement du milieu réactionnel).

1.1.4 Évolution des éléments chimiques relargués en solution par le mortier

Les quantités de Ca, Si et Al relarguées au cours de la pré-lixiviation sont respectivement, 2, 8 et 27 fois inférieures à celles relarguées au cours des cycles de biodétérioration (Figure 118). En effet, la concentration de la solution lixiviante (acide chlorhydrique à 10^{-2} mole/L) est moins importante que celle de l'acide sulfurique produit par les BSO *H. neapolitanus* au cours de chaque cycle de biodétérioration (entre $6,4 \cdot 10^{-2}$ et $8,8 \cdot 10^{-2}$ mole/L). Par ailleurs, la pré-lixiviation n'a duré que 5 heures alors que les cycles de biodétérioration ont duré 21 jours chacun. Le Fe relargué en solution est inférieur à la limite de détection (10^{-5} mole/L), à cause des pH élevés des milieux réactionnels ($3,2 < \text{pH} < 4,4$) qui sont supérieurs au pH induisant une dissolution des phases ferriques ($\text{pH} < 2$) [Alexander and Fourie, 2011].

Ces résultats sont différents de ceux obtenus au cours de l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans* (Figure 61), dans lequel les quantités des éléments Ca, Fe et Al relargués en solution pendant la pré-lixiviation sont respectivement, 7, 8 et 8 fois supérieures à celles relarguées au cours des cycles de biodétérioration. En effet, la solution lixiviante d'acide chlorhydrique dans le cas de *A. thiooxidans* a une concentration de 10^{-1} mole/L alors que la production d'acide sulfurique au cours de chaque cycle de biodétérioration est moindre, entre $7,5 - 8,3 \cdot 10^{-2}$ mole/L (Tableau 24). En outre, dans l'essai présent, contrairement à l'essai avec *A. thiooxidans*, Si est relargué en solution au cours de la pré-lixiviation (Figures 118 et 119). En effet, au cours de la pré-lixiviation, le pH de la solution lixiviante monte très rapidement de 2 à 9 (en 4h). Il devient par conséquent, supérieur au point isoélectrique de la silice ($1,7 < \text{pHi} < 3,5$), d'où la dissolution de la silice, expliquant le relargage du Si en solution.

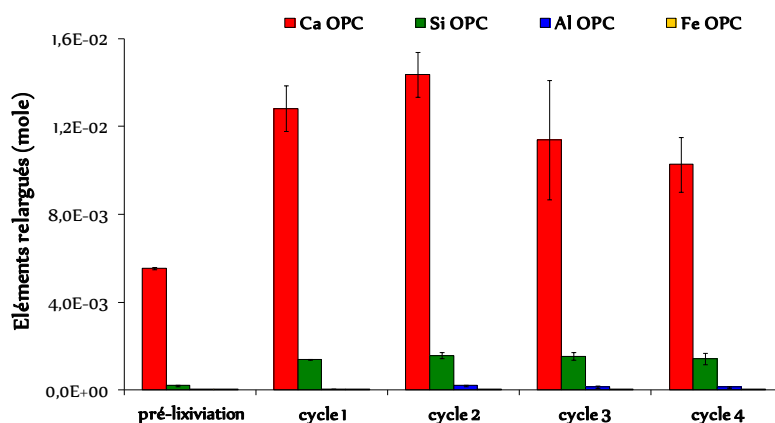


Figure 118 : Quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC au cours de la pré-lixiviation et des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

Au cours des cycles de biodétérioration, le relargage du Si par le mortier dans les milieux réactionnels contenant les BSO *H. neapolitanus* ($3,2 < \text{pH} < 4,4$) est 20% plus important que celui se produisant dans les milieux contenant les BSO *A. thiooxidans* ($1,9 < \text{pH} < 2,7$).

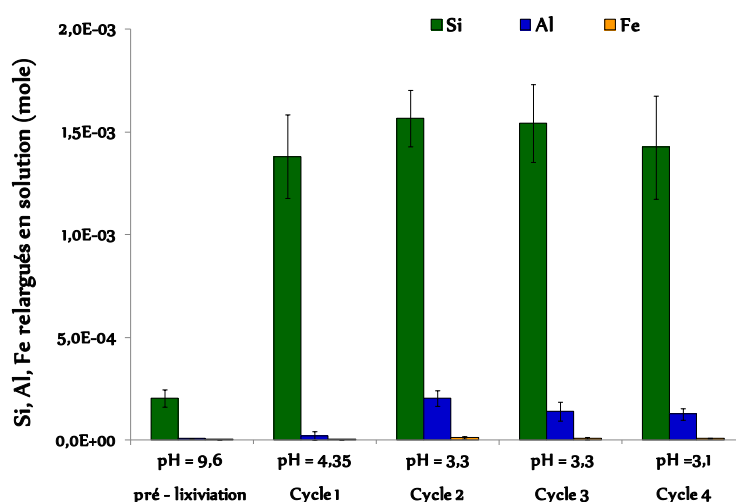


Figure 119 : Évolution des quantités de Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC en fonction des pH des milieux réactionnels (agrandissement de la figure précédente).

L'élément Al n'a pas été relargué en solution au cours de la pré-lixiviation et uniquement très faiblement lors du cycle 1 (Figure 119). Le relargage de cet élément augmente lors des cycles suivants, mais reste plus faible comparativement à l'essai avec *A. thiooxidans* (Tableaux 26 et 38).

L'élément Ca, comme au cours de l'essai avec *A. thiooxidans*, est intensément relargué quel que soit le pH du milieu réactionnel. Cependant, au cours des cycles de biodétérioration, le relargage de ce dernier est plus important dans les milieux contenant *H. neapolitanus*, bien que la production d'acide sulfurique soit généralement plus faible (Figures 58 et 115, tableaux 24 et 36). Ce relargage moins important de Ca au cours de l'essai avec *A. thiooxidans* est lié à l'effet mémoire de la pré-lixiviation

qui a été très intense. Toutefois, au cours des essais avec *H. neapolitanus*, la vitesse de relargage du Ca diminue au cours des cycles de biodétérioration car la production d'acide sulfurique est de moins en moins importante (Figures 120 et 115 A, tableaux 24 et 36). L'analyse de la composition minéralogique des différentes zones dégradées pourra apporter une réponse à cette observation.

La réduction de la vitesse de relargage du Si au cours des cycles de biodétérioration peut également être associée à la diminution du pH de la suspension qui se rapproche ainsi du point isoélectrique du gel de silice (Figure 120). La vitesse de relargage de l'Al est très faible au cours des cycles de biodétérioration, liée aux pH des milieux réactionnels qui sont supérieurs ou très proches du pH induisant une dissolution des phases alumineuses ($\text{pH} < 3,5$). La vitesse de relargage du Fe au cours des cycles de biodétérioration est pratiquement nulle (Figure 120), car les pH des milieux réactionnels, variant entre 3,2 – 4,4, sont largement supérieurs au pH induisant une dissolution des phases ferriques ($\text{pH} < 2$).

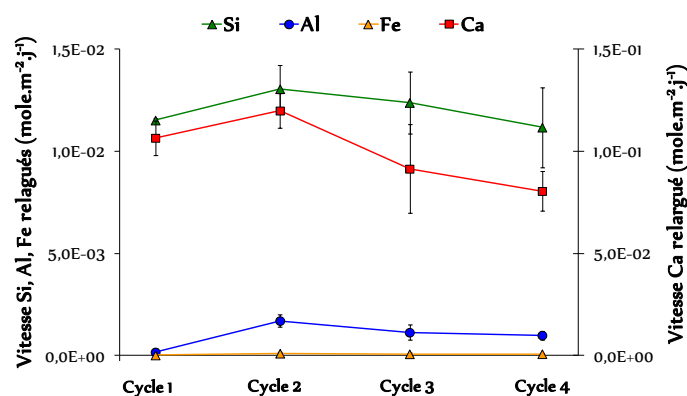


Figure 120 : Vitesses moyennes de relargage en solution des éléments Si, Al, Fe et Ca par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

En outre, si on considère les quantités de Ca et Si relarguées en solution (Tableau 38), on constate que, comme au cours de l'essai avec *A. thiooxidans*, les ratios molaires Ca/Si des éléments passés en solution sont supérieurs au rapport initial Ca/Si du mortier après pré-lixiviation, qui est de 3,8. Au cours des cycles de biodétérioration, les ratios Ca/Si diminuent progressivement et sont globalement inférieurs à ceux obtenus au cours de l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans* (Figures 64 et 121, tableaux 26 et 38). Cette différence de tendance est certainement due au fait qu'une dissolution de moins en moins importante des phases calciques est globalement observée au cours de l'essai avec *H. neapolitanus*. La diminution de la quantité de Ca relargué en solution est liée à la production de moins en moins importante d'acide sulfurique (Figures 118).

Ainsi, quelle que soit la souche bactérienne, *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans*, le relargage en solution des éléments Al, Fe et Si au cours de l'essai de biodétérioration est fonction de la valeur de pH atteinte par le milieu, respectivement $\text{pH} < 3,3$, $\text{pH} < 2$ et $\text{pH} > 1,3$ (Figure 122). Par contre, le relargage du

Ca est fonction de la quantité d'acide apportée au contact du mortier OPC quelque soit le pH des essais réalisés dans les essais présentés.

Moyennes des quantités des éléments relargués en solution (mole)					
	Ca	Si	Al	Fe	Ca/Si
Cycle 1	1,28E-02 ± 1,03E-03	1,38E-03 ± 2,04E-04	1,99E-05 ± 2,13E-05	193E-06 ± 4,64E-07	9,67 ± 0,25
Cycle 2	1,44E-02 ± 1,01E-03	1,56E-03 ± 1,385E-04	2,04E-04 ± 3,68E-05	1,23E-05 ± 7,60E-06	9,20 ± 0,32
Cycle 3	1,14E-02 ± 2,71E-03	1,54E-03 ± 1,89E-04	1,41E-04 ± 4,60E-05	9,28E-06 ± 5,33E-06	7,33 ± 0,86
Cycle 4	1,03E-02 ± 1,24E-03	1,43E-03 ± 2,51E-04	1,26E-04 ± 2,69E-05	9,98E-06 ± 1,67E-06	7,24 ± 0,41

Tableau 38 : Moyennes des quantités d'éléments chimiques relargués en solution par les mortiers OPC au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

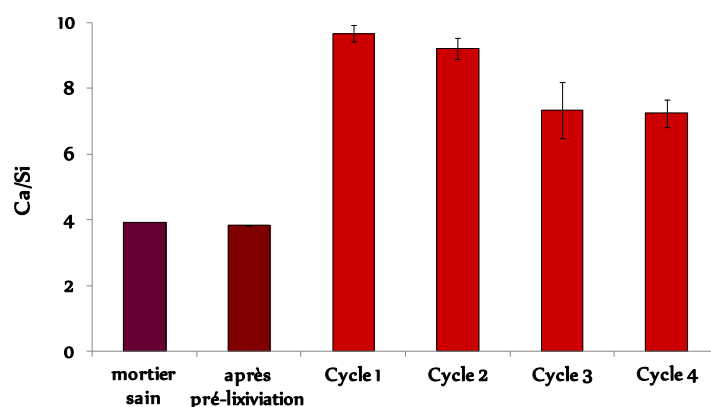


Figure 121 : Ratio molaire Ca/Si calculé à partir des quantités moyennes des éléments Ca et Si relargués en solution par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

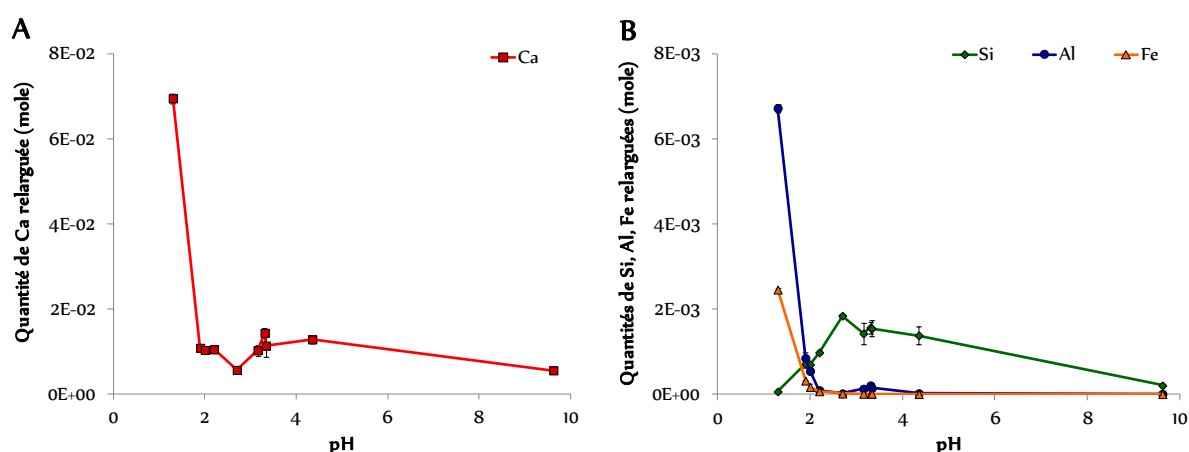


Figure 122 : Évolution des quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC au cours des essais de biodétérioration de *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* représentées en fonction des pH des solutions pré-lixiviantes et des milieux réactionnels.

A titre indicatif, comme pour l'essai avec *A. thiooxidans*, les mécanismes gouvernant le relargage des différents éléments ont été déterminés. Globalement, les courbes de relargage des éléments Ca, Si et Al sont compatibles avec une loi d'évolution linéaire des fractions cumulées lixivées en fonction du temps et de la racine carrée du temps (Figure 123). Ainsi, dans cette étude, le relargage des éléments Ca, Si et Al au cours des cycles de biodétérioration a certainement une cinétique qui dépendra à la fois de mécanismes de dissolution et de diffusion en fonction des différentes zones dégradées.

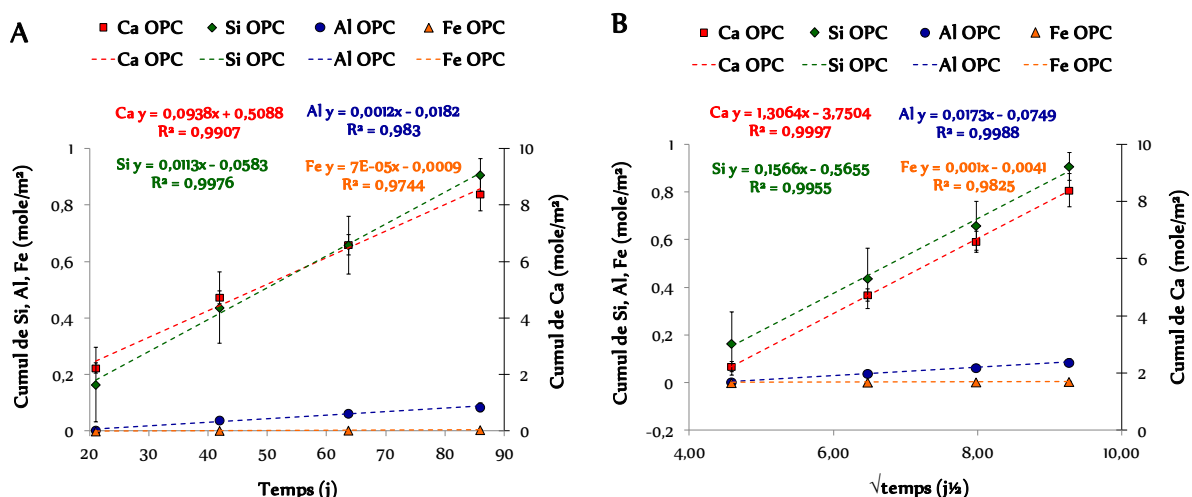


Figure 123 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relargués en solution par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction du temps (A) et de la racine carrée du temps (B) ; les droites sont les régressions linéaires des courbes.

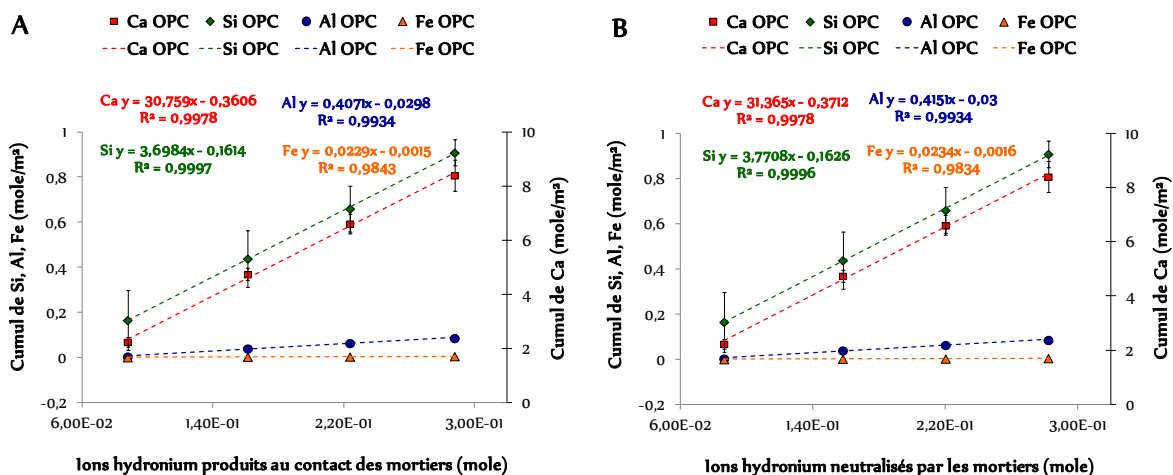


Figure 124 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relargués en solution par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium générés par *H. neapolitanus* (A) ou neutralisés par le mortier (B).

Les relargages des éléments chimiques Ca, Si et Al dans les milieux réactionnels sont proportionnels aux quantités d'ions hydronium générés par *H. neapolitanus* ou neutralisés par le mortier OPC

(Figure 124). Toutefois, il est constaté que les vitesses de relargage des éléments représentées en fonction des quantités d'ions hydronium neutralisés par le mortier sont en moyenne identiques à celles représentées en fonction des quantités d'ions hydronium générées par *H. neapolitanus*. Ce résultat est lié au fait que seule une très faible quantité de l'acide sulfurique produit par les BSON est utilisée pour neutraliser le milieu et donc que la plus grande partie des ions hydronium générés vont réagir avec le mortier (Tableau 36).

1.1.5. Conclusion

Au cours de l'essai de biodétérioration, la présence du mortier OPC n'a aucun impact sur le développement bactérien de *H. neapolitanus*. Cependant, du fait de sa capacité de neutralisation, le mortier OPC semble indirectement avoir un effet activateur sur l'activité bactérienne de *H. neapolitanus*, donc induit une production d'acide sulfurique plus grande. Ces résultats sont différents de ceux obtenus au cours de l'essai avec *A. thiooxidans* au cours duquel la présence du mortier OPC n'a eu aucun impact sur l'activité bactérienne.

1.2. L'évolution du mortier

1.2.1. L'analyse macroscopique

L'analyse macroscopique des mortiers n'a révélé aucun biofilm à la surface des mortiers comme au cours de l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans* (Figure 125), grâce aux conditions optimales de croissance de l'essai. Comme pour l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*, les mortiers ayant subi 4 cycles de biodétérioration (ON4x, ON4y) sont plus altérés que celui ayant subi 2 cycles de biodétérioration (ON2) (Figure 125). Toutefois, ces mortiers sont moins altérés que ceux ayant été attaqués par *A. thiooxidans* car dans ce dernier cas, l'essai de biodétérioration, surtout la pré-lixiviation conduit à une attaque très intense (Figures 67 et 125).



Figure 125 : Mortier OPC après 2 cycles et 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

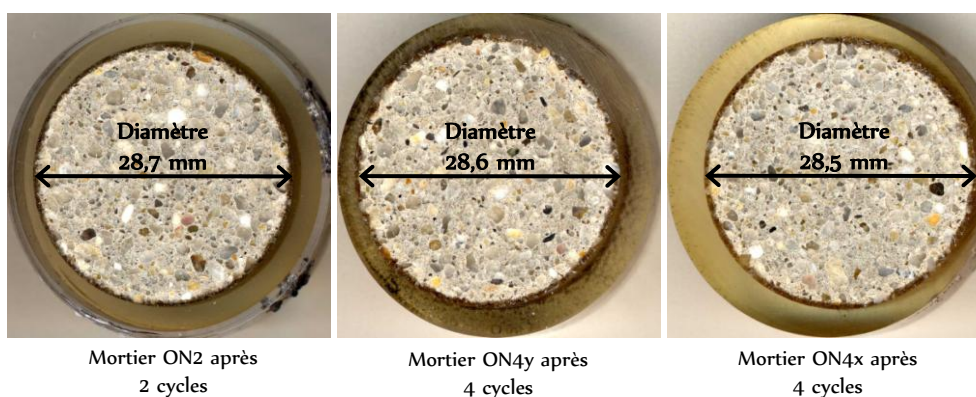


Figure 126 : Coupes transversales des mortiers OPC ON2, ON4y et ON4x après 2 ou 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

L'observation des sections transversales des mortiers a également indiqué, comme pour *A. thiooxidans*, la présence de deux zones : une fine zone sombre à la surface du mortier (d'environ 0,6 mm) et le cœur du mortier (d'environ 2,7 – 2,8 cm), respectivement beaucoup moins épaisse et plus importante que ceux des mortiers ayant été attaqués par *A. thiooxidans* (Figure 126). De plus, dans l'essai de biodétérioration par *H. neapolitanus*, la fine zone à la surface des mortiers ON4 ne s'est pas détachée du cœur du mortier après l'inclusion dans la résine. Cette dernière est certainement moins attaquée que dans les mortiers OA4.

Après les cycles de biodétérioration, l'épaisseur complètement détériorée, par la pré-lixiviation d'une part et par l'acide sulfurique biogénique d'autre part, a été déterminée comme réalisé pour l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans* (Tableau 39).

	Diamètre après pré-lixiviation (mm)	Epaisseur détériorée (mm)	Diamètre après biodétérioration (mm)	Epaisseur biodétériorée (mm)	Epaisseur perdue par le mortier (mm)	Vitesse de détérioration (mm/an)
ON2	28,60	0,20	28,70	nd	0,15	1,30
ON4y			28,64 ± 0,05	nd	0,18 ± 0,04	0,79 ± 0,23
ON4x			28,54 ± 0,14	0,03 ± 0,07	0,23 ± 0,10	1,00 ± 0,61

Tableau 39 : Mesures des diamètres, des épaisseurs perdues et des vitesses de détérioration des mortiers OPC après l'essai de biodétérioration par *H. neapolitanus*. Le diamètre initial du mortier est de 29 mm. Nd = non déterminé.

De façon analogue aux mortiers biodétériorés par *A. thiooxidans*, les diamètres des mortiers ON4y et ON2 après biodétérioration sont quasiment équivalents et leurs diamètres sont plus importants que ceux mesurés sur les mortiers après la pré-lixiviation (Tableau 39). Cette augmentation de diamètre est certainement due à l'imprégnation de résine qui conduit à l'agrandissement de l'épaisseur de la zone superficielle.

1.2.2 L'analyse microscopique

1.2.2.1 Le mortier ON4y (4 cycles de biodétérioration / 3 mois)

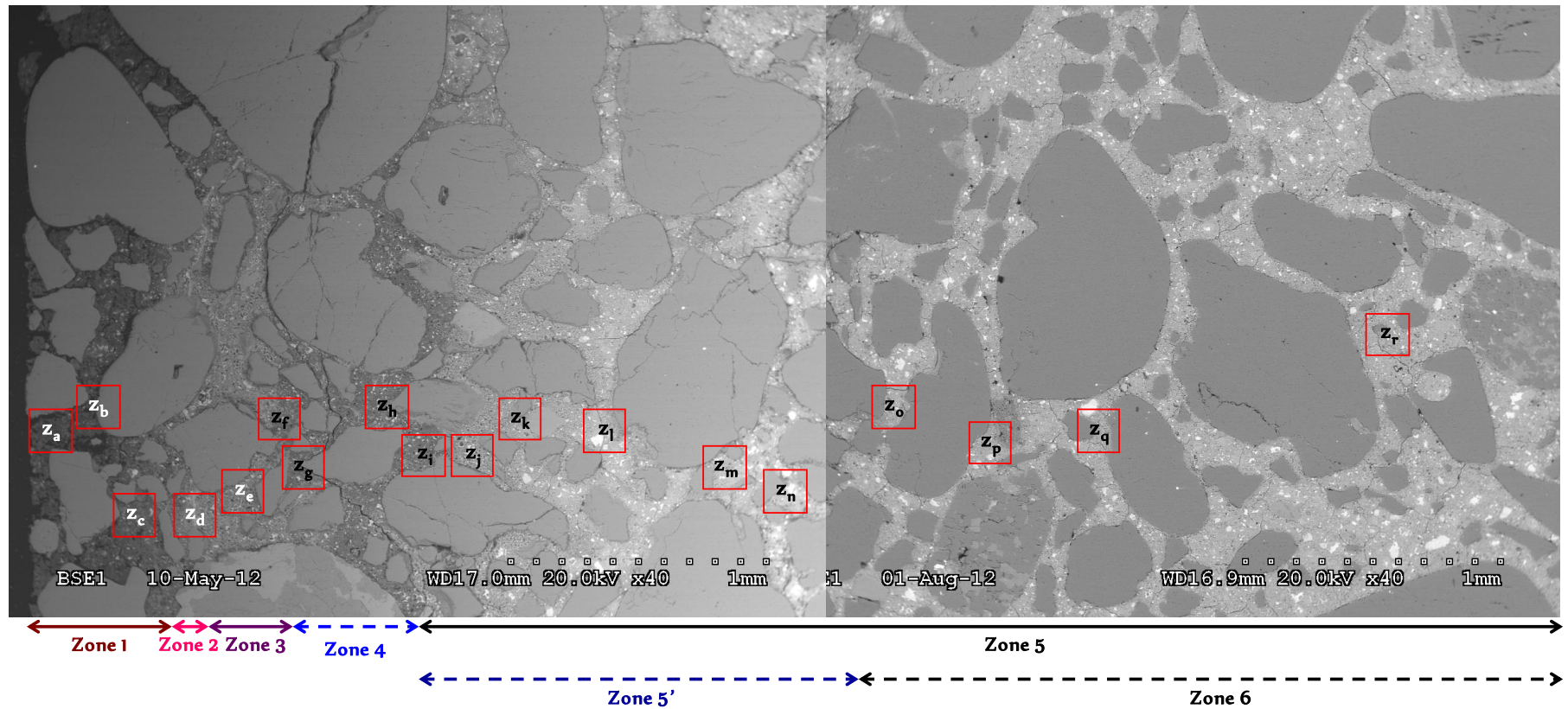
Les analyses MEB/EDS et les cartographies réalisées sur le mortier ON4y semblent indiquer la présence de 6 zones allant de la surface au cœur du mortier (Figure 127) :

- La zone 1 : poreuse, a une épaisseur qui varie entre 0,6 et 0,8 mm (Figure 127 – z_{a-c}). Elle a été appelée zone dégradée car a une composition relativement semblable à celle du mortier OA4y. En effet, les analyses EDS ont révélé que la pâte de ciment est riche en P et K (éléments chimiques provenant du milieu réactionnel) et contient une quantité importante d'Al et de Fe. Des gradients de concentration ont été observés pour chacun des éléments qui sont plus concentrés dans la zone superficielle du mortier très certainement du à la formation de la taranakite $(K,Na)_3(Al,Fe)_5(HPO_4)_6(PO_4)_2(H_2O)_{18}$ (Figures 128 A ; 130 B et D ; 131 B et C).

La quantité de taranakite formée dans le mortier ON4y est supérieure à celle retrouvée dans le mortier OA4y. Cette différence est très certainement liée à la valeur de pH du milieu réactionnel au contact des mortiers. En effet, le mortier ON4y est au contact de milieux réactionnels dont les valeurs de pH sont comprises entre $3,2 < pH < 4,4$, supérieures au pH induisant une forte dissolution de la taranakite ($pH = 3$) [Taylor and Gurney, 1961]. Le mortier OA4y par contre est au contact de milieux réactionnels dont les valeurs de pH sont comprises entre $1,9 < pH < 2,7$, inférieures au pH induisant la dissolution de la taranakite, d'où sa faible présence dans la zone superficielle du mortier OA4y (Annexe 2).

Des gradients de Ca et de Si plus concentrés en allant vers le cœur ont été observés dans le mortier dû à la dissolution de phases calcaïques et siliceuses en surface suite à l'attaque par l'acide sulfurique produit par *H. neapolitanus* (Figures 130 A et C). Il n'y a pas dans le mortier ON4y une zone superficielle entièrement composée de gel de silice, il n'y a donc pas de zone endommagée. En effet, le gel de silice est dissous au fur et à mesure de sa formation, contrairement au mortier OA4y où il est précipité dans le mortier et constitue la zone endommagée (Figures 69 et 127). Toutefois, un gel de silice a tout de même été identifié dans la zone dégradée (Figure 128 A).

Les mesures EDS ont également indiqué la présence de phases alumineuses et ferriques, certainement du AlH_3 et $Fe[OH]_3$. En effet, l'Al a un peu été mesuré dans les milieux réactionnels tandis que le Fe n'a pas du tout été détecté (Figures 118 et 128 A).



Zone 1: zone dégradée (0,6 – 0,8 mm) ; Zone 2: liseré blanc (0,02 mm) ; Zone 3: zone intensément altérée (0,4 – 0,6 mm)

Zone 4: zone moyennement altérée (0,3 – 0,6 mm) ; Zone 5': zone faiblement altérée (1,5 – 1,8 mm) ; Zone 6: cœur du mortier

←→ Délimitation après observation au MEB <-----> Délimitation après observation au MEB et analyses EDS

Figure 127 : Observations au MEB du mortier OPC ON4y après 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

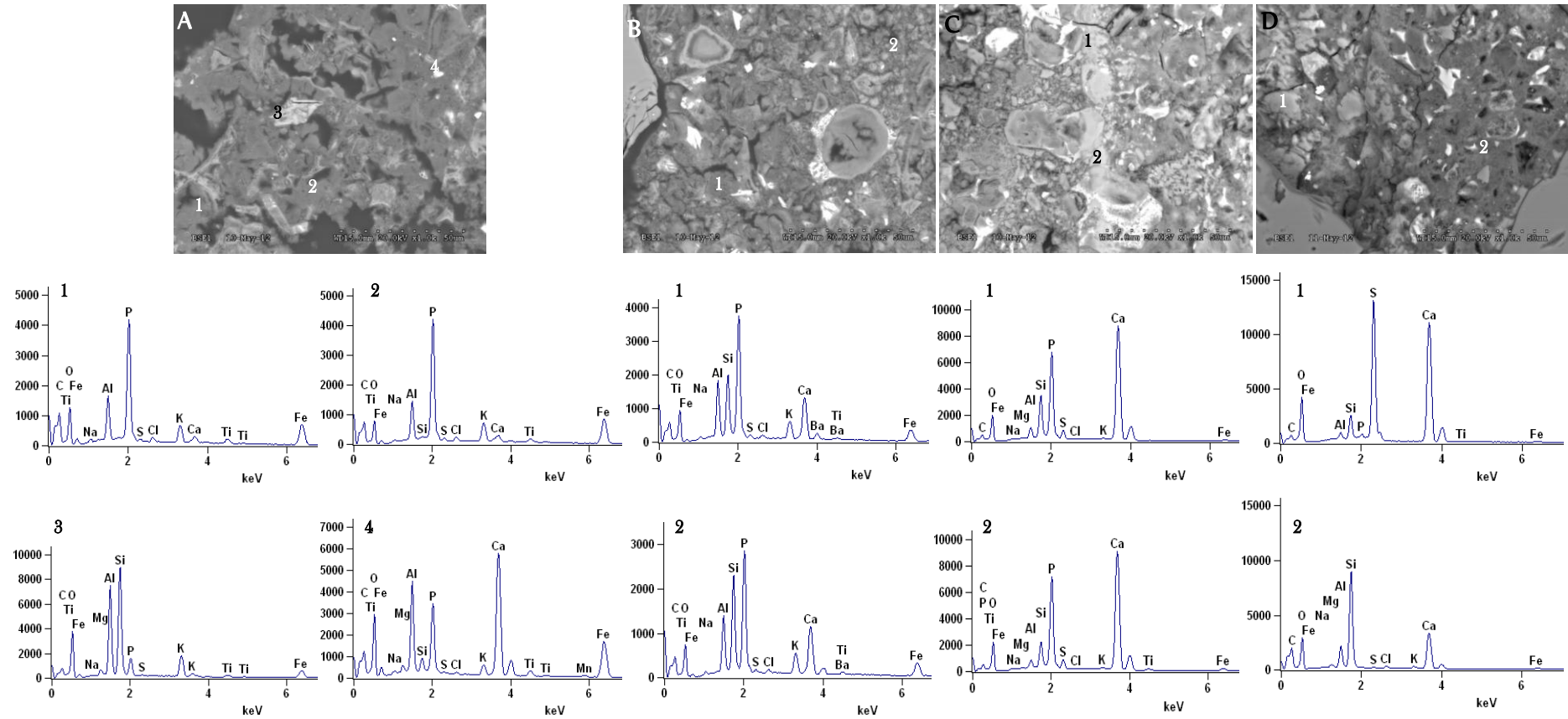


Figure 128 : Analyses EDS de certaines zones du mortier ON4y après 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

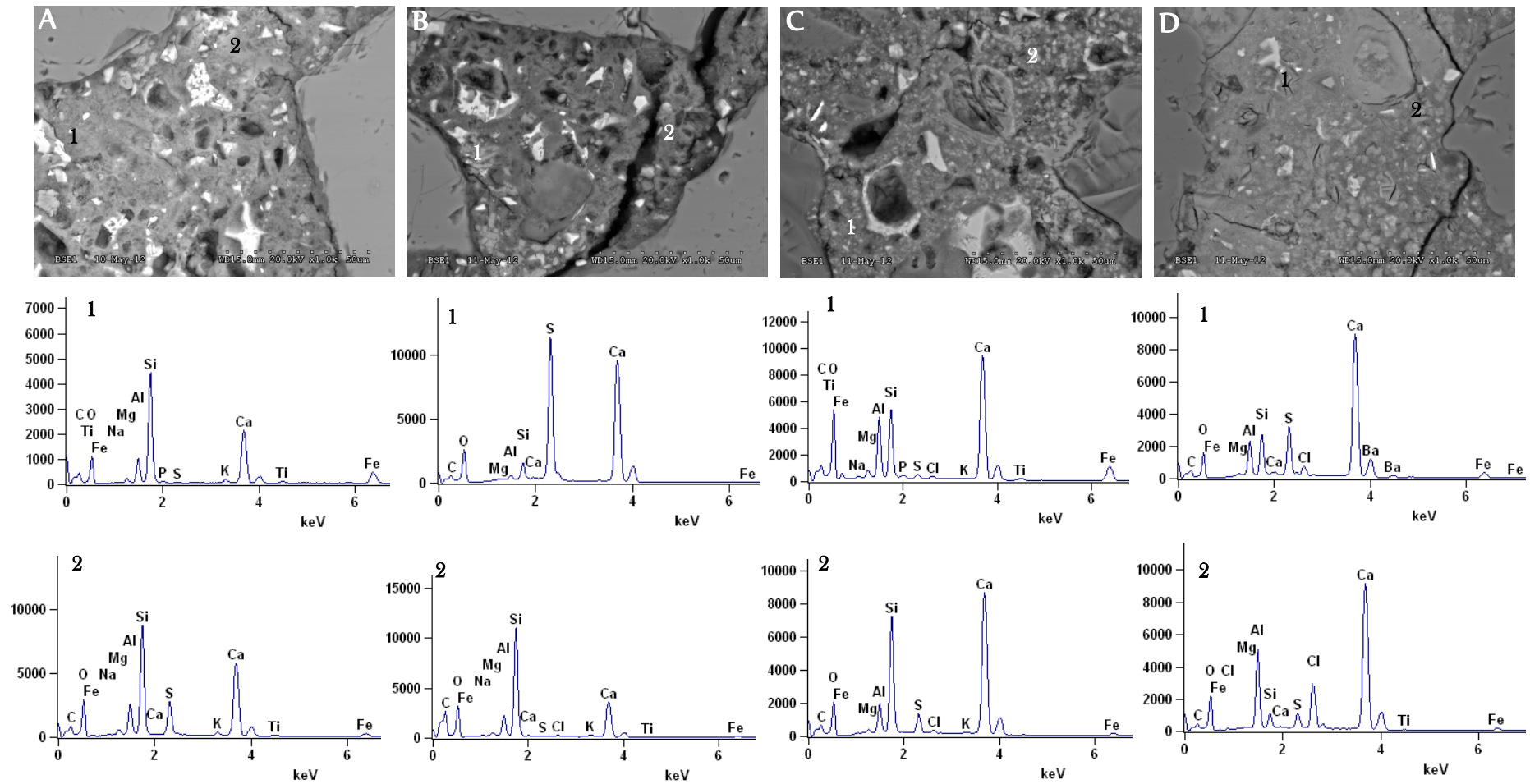


Figure 129 : Analyses EDS de certaines zones du mortier ON4y après 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

Par ailleurs, les analyses EDS ponctuelles réalisées dans la pâte de ciment révèlent des rapports Ca/Si faibles de l'ordre de 1 (comme dans la zone dégradée du mortier OA4y) alors que ceux d'un mortier sain est de l'ordre de 3,7 (Figure 37). De même, la présence d'une plus grande quantité de Ca dans la partie juxtaposant la zone 2 semble indiquer la présence de C-S-H décalcifié de bas rapport Ca/Si (Figures 127– z_c et 128 B).

Contrairement au mortier OA4y, la zone dégradée du mortier ON4y ne semble pas contenir de la variscite ni du gypse. Ainsi, la zone 1 est constituée d'un mélange de phases, telles que la taranakite, l'hydroxyde de fer, l'hydroxyde d'aluminium, le gel de silice et les C-S-H décalcifiés de bas rapport Ca/Si.

- La zone 2 ou liséré blanc (0,02 mm) riche en Ca et P est constituée d'hydroxyapatite ($\text{Ca}_5[\text{PO}_4]_3[\text{OH}]_{18}$) (Figures 127 – z_d ; 128 C). Ce dernier ainsi que la taranakite retrouvée dans la zone 1 sont responsables de la diminution des ions phosphate mesurée dans le milieu réactionnel (Figure 116, tableau 37).
- La zone 3 ou zone intensément altérée, plus dense, semble recouverte par un voile gris claire. Son épaisseur varie entre 0,4 mm et 0,6 mm (Figure 127 – z_{e-f}). Elle est riche en Ca, Si, Al et S mais est dépourvu de P et de K (Figures 130 A, B et C ; 131 A, B et C). Les analyses EDS de certains points indiquent la présence de gypse surtout autour des grains de quartz (Figure 128 D). Par ailleurs, les analyses EDS ont également permis d'identifier : du C-S-H décalcifié (Figure 128 D) et de l'alumino-ferrite tétracalcique (C_4AF) (Figure 129 A). Les rapports Ca/Si sont du même ordre que ceux de la zone 1 (~ 1). Ainsi, la zone 3 est constituée d'alumino-ferrite tétracalcique, de C-S-H décalcifiés de bas rapport Ca/Si et de gypse.
- La zone 4 ou zone moyennement altérée, peu poreuse, a une épaisseur qui varie entre 0,3 et 0,6 mm (Figure 127 – z_{g-i}). Elle est riche en Ca, en Si, en Al et en S (Figures 130 A, B et C ; 131 A). Les rapports Ca/Si varient entre 1 et 1,3, plus importants que ceux de la zone 2. Cette augmentation traduit un enrichissement de la pâte de ciment en Ca. Les analyses EDS ponctuelles ont indiqué la présence de gypse (Figure 129 B), du C-S-H décalcifié de bas rapport Ca/Si (Figure 129 B), d'ettringite (Figure 129 C) et d'alumino-ferrite tétracalcique (Figure 129 C). En outre, des quantités négligeables de Cl (entre 0,3 et 1,1%) ont été mesurées dans la pâte de ciment (Figure 129 C). Ainsi, la zone 4 est constituée d'alumino-ferrite tétracalcique, de C-S-H décalcifiés de bas rapport Ca/Si, d'ettringite et de gypse.

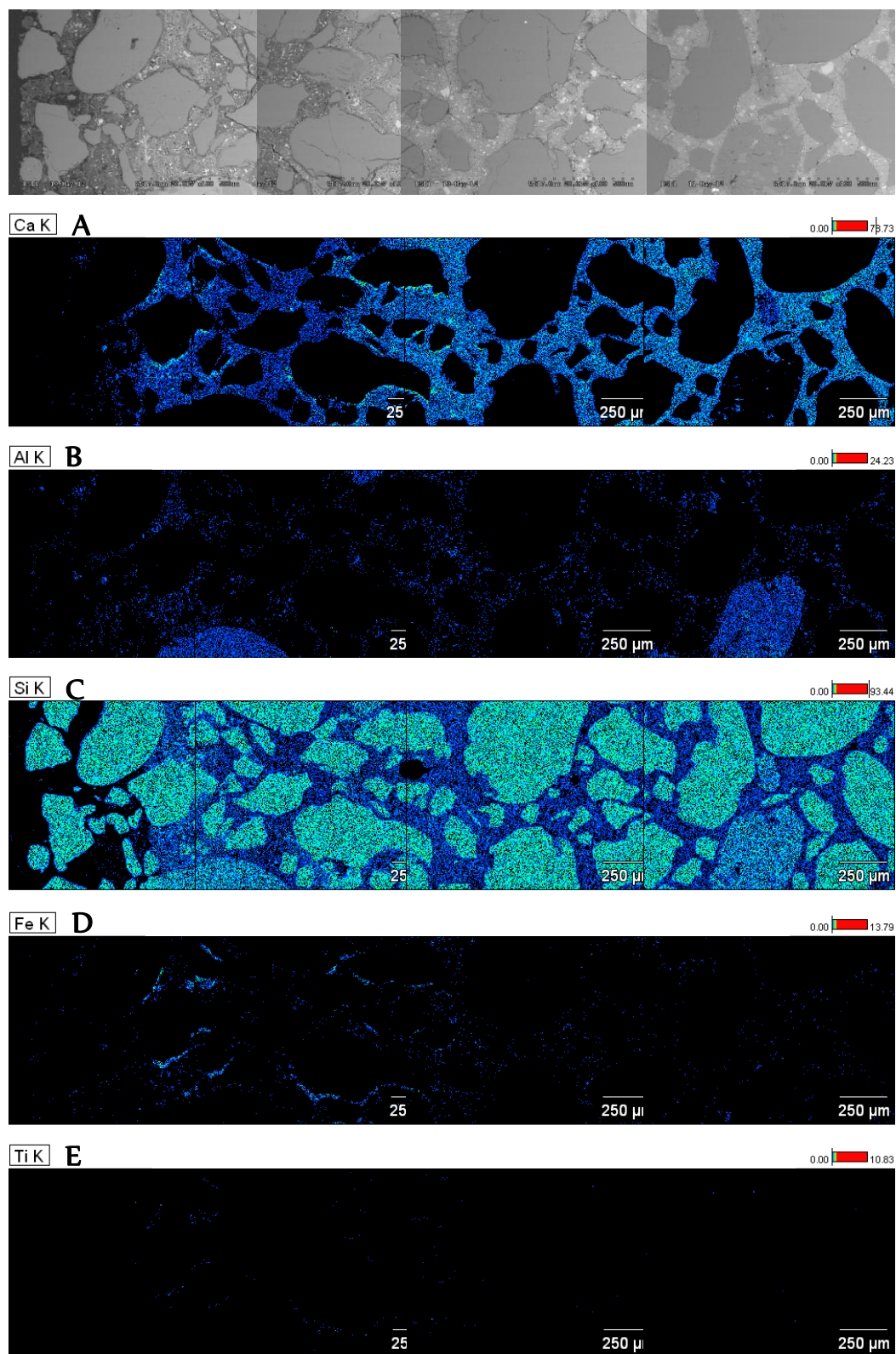


Figure 130 : Analyses EDS des éléments Ca, Si, Al, Fe et Ti contenus dans la bordure du mortier OPC ON4y après 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

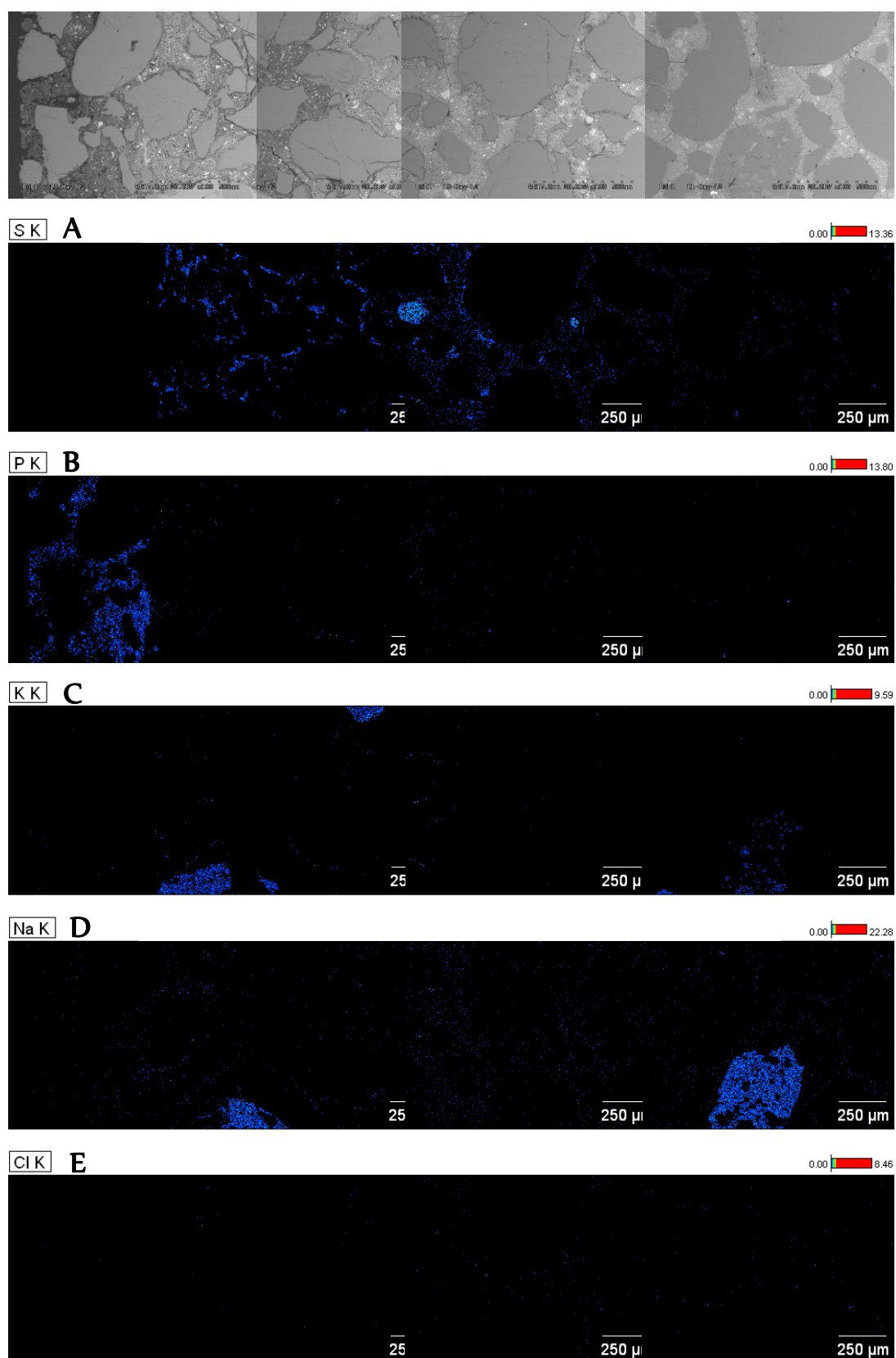


Figure 131 : Cartographies des éléments S, P, K, Na et Cl contenus dans la bordure du mortier OPC ON4y après 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

- La zone 5 ou zone faiblement altérée, non poreuse, a une épaisseur variant entre 1,5 et 1,8 mm (Figure 127 – z_{j-n}). Les analyses EDS révèlent la présence d'alumino-ferrite tétracalcique, de monosulfo-aluminate de calcium, d'ettringite (Figure 129 D) et de C-S-H décalcifié de haut rapport Ca/Si. Des quantités de Cl plus importantes ont été mesurées dans la pâte de ciment (entre 0,2 et 8,6%), certainement liées à la présence de monochloroaluminate de calcium hydraté (Figure 129 D), dû à la valeur plus élevée du rapport Ca/Si (entre 1,8 et 3,2) [Beaudoin *et al.*, 1990]. Toutefois, le Cl ne semble pas participer à l'altération du mortier, car très peu de phases chlorées ont été retrouvées dans le mortier (Figure 131 E). La valeur élevée du rapport Ca/Si pourrait également traduire la présence de portlandite, très certainement en cours de dissolution. Ainsi, la zone 5 est constituée d'alumino-ferrite tétracalcique, de C-S-H décalcifiés de haut rapport Ca/Si, d'ettringite, de monosulfoaluminate de calcium et de portlandite.
- La zone 6 ou « zone saine » est riche en Ca, en Si, en Al et en S (Figure 127 – z_{o-r}). Les analyses EDS dans cette zone indiquent des pourcentages de S variant entre 1 et 3 % du même ordre que celui d'un mortier sain. Par ailleurs, des analyses EDS ponctuelles indiquent des rapports Ca/Si plus importants (entre 3,3 et 4) que ceux de la zone 5 et du même ordre que celui du ciment OPC (3,7) (Figure 37).

L'épaisseur altérée mesurée par MEB/EDS a été estimée à $3,1 \pm 0,2$ mm. L'épaisseur totale attaquée est de $3,3 \pm 0,2$ mm. Elle correspond à l'attaque de 43% du volume initial du mortier ON4y (63 x 29 mm) et à une vitesse d'attaque de $14,3 \pm 1,1$ mm/an. La V_D ou vitesse volumique d'attaque du mortier ON4y ($0,8 \pm 0,1$ mm.an⁻¹.cm⁻³) est quasiment équivalente à celle du mortier OA4y ($0,8 \pm 0,1$ mm.an⁻¹.cm⁻³). A nouveau l'épaisseur dégradée ne semble pas être un bon indicateur des différences d'attaque, car la quantité d'éléments relargués est moindre lors de l'essai avec les BSON. Il faudra avoir une idée de l'intensité de l'attaque de la zone dégradée qui peut être donnée avec l'indice d'attaque volumique (IA_v) qui sera présenté à la fin de ce chapitre.

1.2.2.2 Le mortier ON2 (2 cycles de biodétérioration / 1,5 mois)

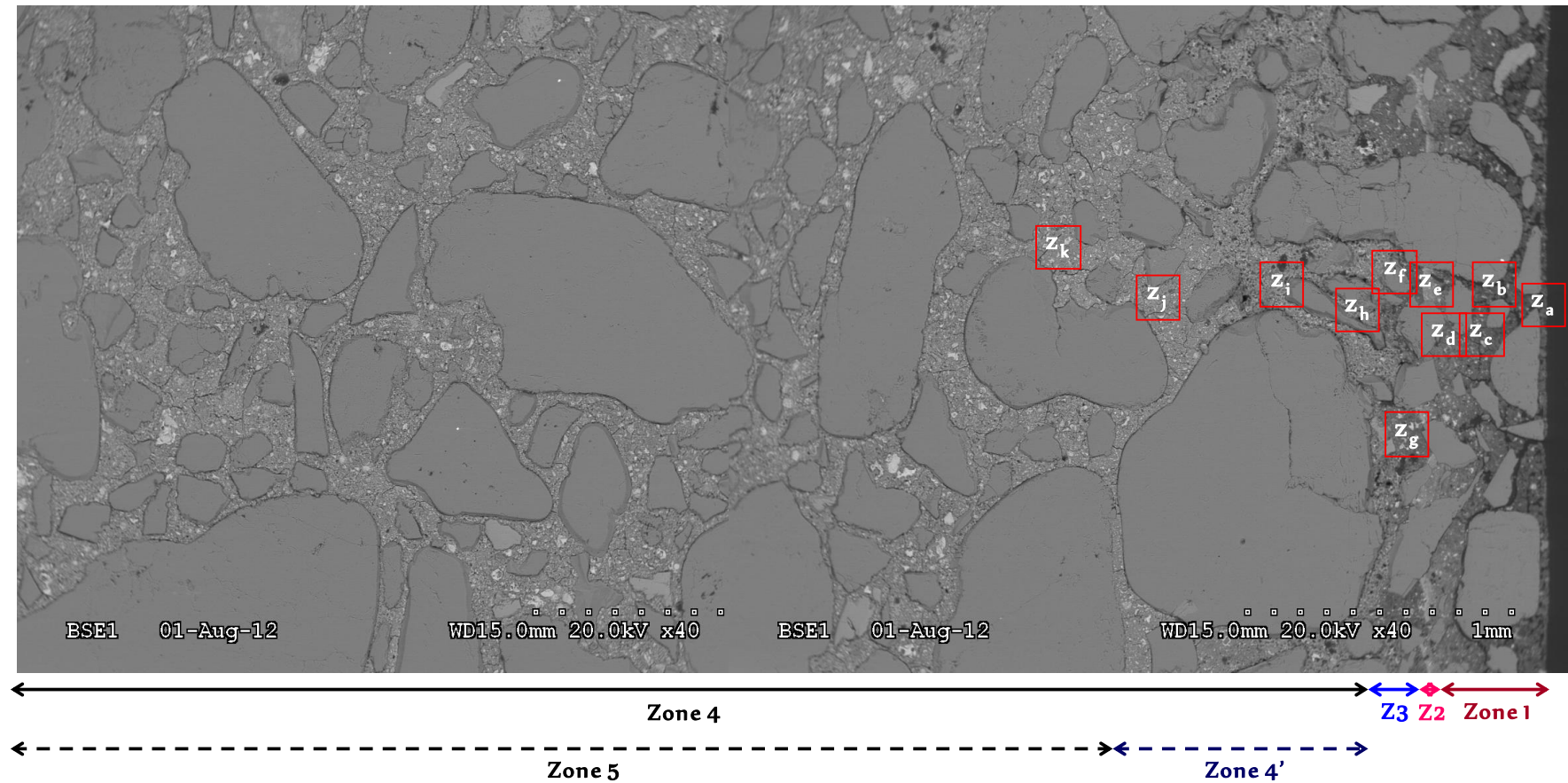
Le mortier ON2, soumis à 2 cycles de biodétérioration, est dépourvu de la zone intensément altérée. Il renferme donc 5 zones détériorées au lieu des 6 retrouvées dans le mortier ON4y soumis à 4 cycles (Figure 132). En allant de la surface au cœur, on y trouve :

- La zone 1 ou zone dégradée identifiée dont l'épaisseur (0,5 mm) est inférieure à celle du mortier ON4y (0,6 – 0,8 mm) (Figure 132 – z_{a-d}). Comme dans le mortier ON4y, elle est composée de taranakite (Figure 133 A), de gel de silice (Figure 133 A) et de C-S-H décalcifiés de bas rapport Ca/Si (~ 1) (Figure 133 B). Par contre, contrairement au mortier ON4y, l'hydroxyde de fer et l'hydroxyde d'aluminium n'ont pas été détectés dans le mortier

ON2. En effet, aucune phase ferrique et très peu de phases alumineuses ont été dissoutes au cours des deux premiers cycles de biodétérioration. De plus, l'Al doit préférentiellement précipiter sous forme de taranakite (Figure 119, tableau 37).

- La zone 2 ou liséré blanc (0,02 mm), comme dans le mortier ON4y, est constituée d'hydroxyapatite (Figures 132 – z_e et 133 B). Contrairement au mortier ON4y, aucune zone intensément altérée n'a été retrouvée après la zone 2 (Figure 127 – z_d). Ainsi, 2 cycles de biodétérioration sont insuffisants pour induire la formation de la zone intensément altérée.
- La zone 3 ou zone moyennement altérée a une épaisseur (0,2 - 0,3 mm) inférieure à celle du mortier ON4y (0,3 - 0,6 mm) (Figure 132 – z_{f-g}). Elle a une constitution identique à celle du mortier ON4y et renferme des C-S-H décalcifié de bas rapport Ca/Si (Figure 133 C), de l'alumino-ferrite tétracalcique (Figure 133 C), de l'ettringite (Figure 133 C) et du gypse.
- La zone 4 ou zone faiblement altérée a une épaisseur (0,9 - 1,0 mm) inférieure à celle du mortier ON4y (1,5 - 1,8 mm) (Figure 132 – z_{h-j}). Elle a une constitution également identique à celle du mortier ON4y : C-S-H décalcifié de haut rapport Ca/Si (entre 2,2 et 3) (Figure 133 D), alumino-ferrite tétracalcique (Figure 133 D), monosulfo-aluminate (Figure 133 D) et très certainement portlandite (Figure 133 D).
- La zone 5 ou « zone saine » (Figure 132 – z_k) a la même composition que la zone 6 du mortier ON4y.

L'épaisseur altérée mesurée par MEB/EDS a été estimée à $1,62 \pm 0,1$ mm. L'épaisseur totale attaquée est de $1,8 \pm 0,1$ mm. Elle correspond à l'attaque de 26% du volume initial du mortier ON2 (63 x 29 mm) et à une vitesse d'attaque de $15,8 \pm 1,7$ mm/an. La V_D ou vitesse volumique d'attaque du mortier ON2 ($1,5 \pm 0,1$ mm.an⁻¹.cm⁻³) est environ 2 fois supérieure à celle du mortier ON4y ($0,8 \pm 0,1$ mm.an⁻¹.cm⁻³). Ainsi, comme pour l'attaque avec *A. thiooxidans*, la vitesse de l'attaque des mortiers OPC semble diminuer dans le temps. Elle est plus importante au premier stade de l'essai de biodétérioration. Contrairement à l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*, la pré-lixiviation dans l'essai présent est moins intense, donc la diminution de la V_D n'est liée qu'à la progression de la porosité du mortier, donc de l'augmentation de la surface réactionnelle.



Zone 1: zone dégradée (0,5 mm) ; Zone 2: liseré blanc (0,02 mm) ; Zone 3: zone moyennement altérée (0,2 – 0,3 mm)

Zone 4' : zone faiblement altérée (0,9 – 1,0 mm) ; Zone 5 cœur du mortier

—> Délimitation après observation au MEB - - - - -> Délimitation après observation au MEB et analyses EDS

Figure 132 : Observations au MEB du mortier OPC ON2 après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

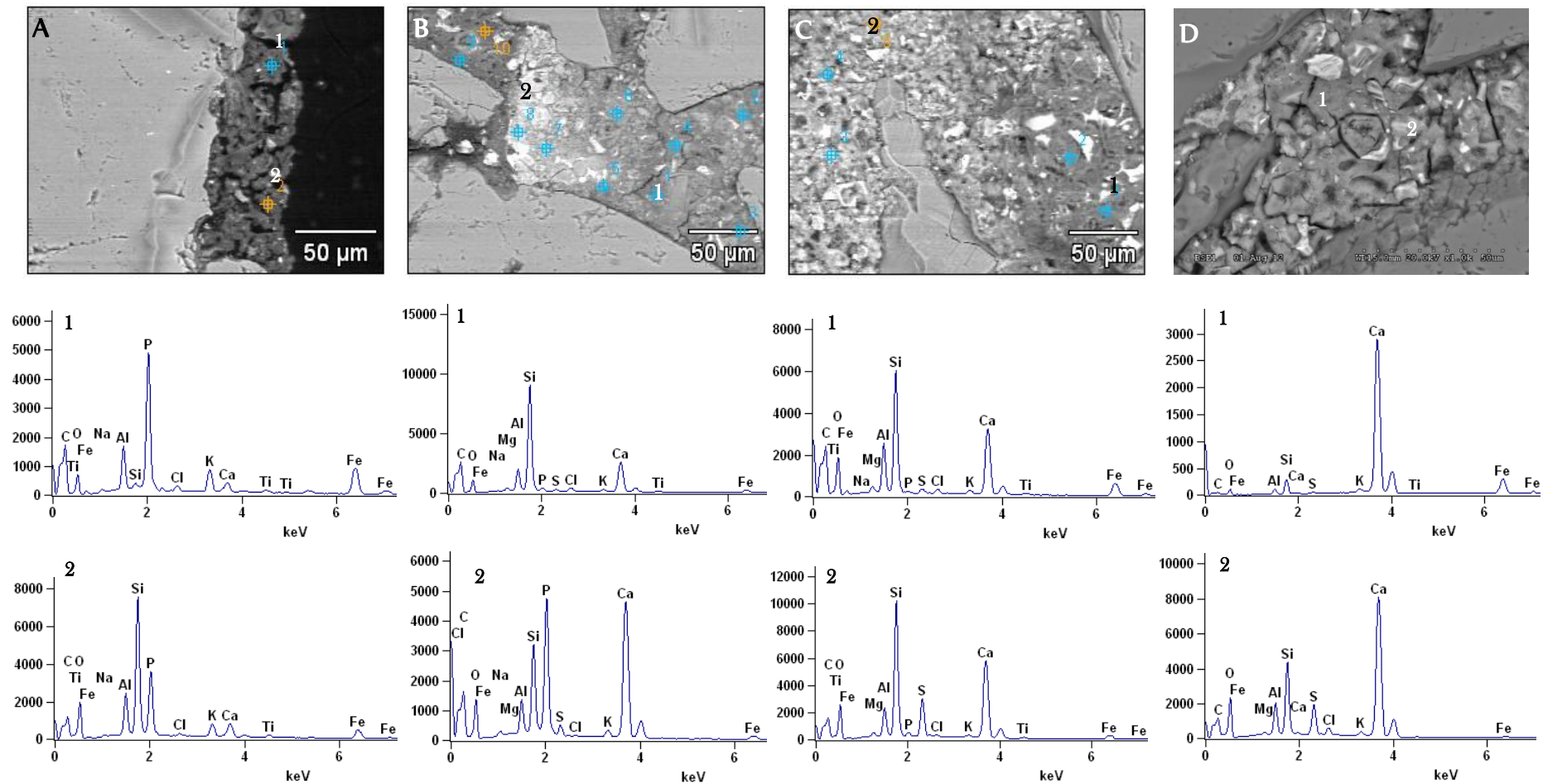


Figure 133 : Analyses EDS de certaines zones du mortier ON2 après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

1.2.2.3 L'évolution dans le temps du mortier OPC

Le mortier ON4y est à un stade de détérioration plus avancé que le mortier ON2. En effet, l'épaisseur attaquée totale du mortier ON4y est de $3,3 \pm 0,2$ mm tandis que celle du mortier OA2 est de $1,8 \pm 0,1$ mm. Comme au cours de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*, une zone intensément altérée, absente après les deux premiers cycles de biodétérioration (ON2), apparaît après 4 cycles de biodétérioration (ON4y) (Figure 134).

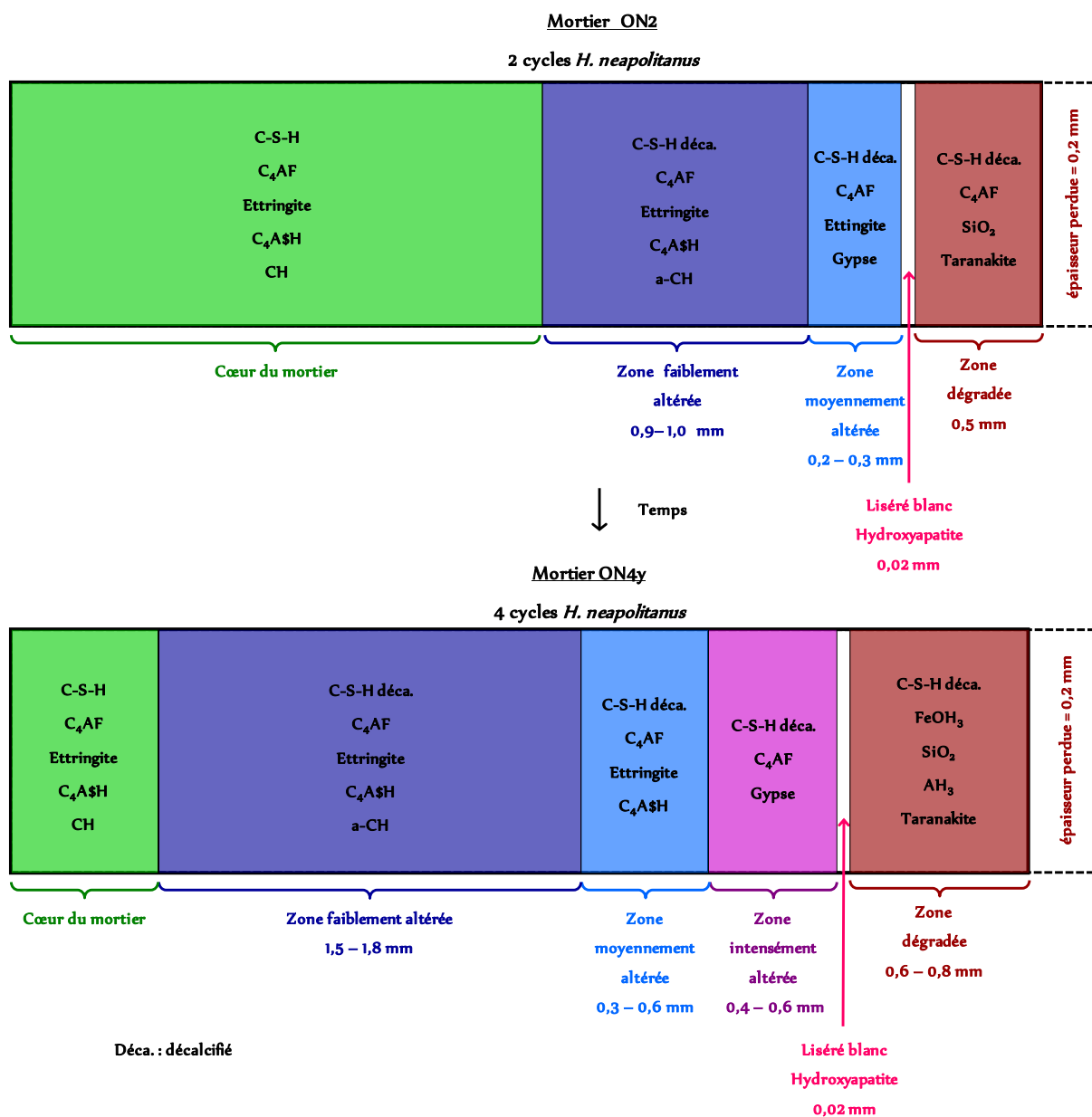


Figure 134 : Représentation schématique de la zonation des mortiers ON4y et ON2 après respectivement 4 cycles et 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*. L'indice « a » indique que les phases ne sont pas stables et donc sont partiellement dissoutes dans la zone.

Ainsi, le profil de détérioration du mortier OPC évolue dans le temps, de 5 zones après les deux premiers cycles de biodétérioration (ON2), il passe à 6 zones après 4 cycles de biodétérioration (ON4y) (Figure 134). Par ailleurs, l'épaisseur des différentes zones détériorées augmente au cours du temps. Elles sont en général 30 – 40 % plus importante que celle du mortier ON4y (Figure 135). Ainsi, au cours de l'essai, la dissolution des phases cimentaires conduit à l'augmentation des épaisseurs des zones détériorées du mortier (Figure 135), d'où l'apparition d'une zone attaquée de plus en plus profonde.

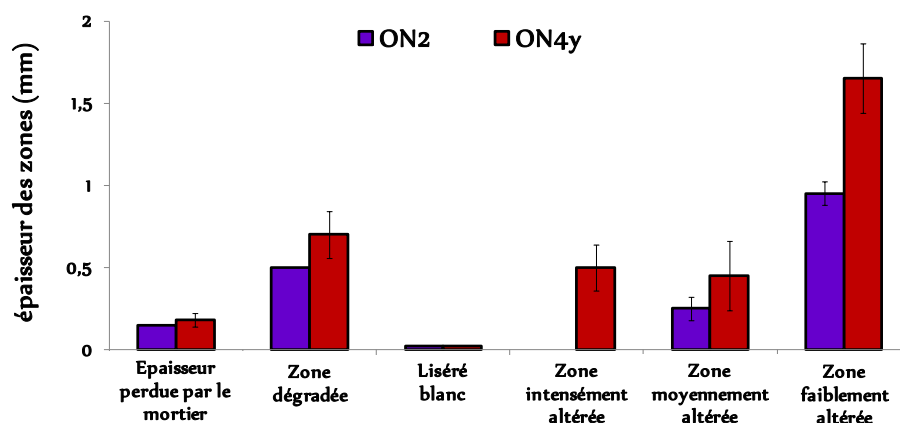


Figure 135 : Évolution dans le temps des épaisseurs des différentes zones composant le mortier OPC soumis à un essai de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

1.3. Conclusions

Le gel de silice n'a pas été retrouvé à la surface du mortier ON4y. En effet, contrairement au mortier OA4y attaqué par *A. thiooxidans*, le gel de silice éventuellement formé est rapidement dissous par la culture de BSO *H. neapolitanus* en contact avec le mortier, d'où la quantité plus importante de Si dans les milieux réactionnels (Tableaux 26 et 38). La diminution du ratio Ca/Si au cours des cycles de biodétérioration est due à une dissolution de moins en moins importante des phases calciques (CH , C-S-H , $\text{C}_6\text{A}\$3\text{H}_{32}$ et $\text{C}_4\text{A}\$2\text{H}_{12}$) liée à la production de moins en moins importante d'acide sulfurique (Figures 116). Par ailleurs, la présence de quantités importantes de phases alumineuses et ferriques dans la zone superficielle du mortier ON4y (zone dégradée) explique les faibles relargages de Fe et Al observés dans les milieux réactionnels au cours des cycles de biodétérioration (Tableau 38).

Au cours des analyses MEB/EDS, des quantités moins importantes de gypse et d'ettringite ont été détectées dans le mortier ON4y comparé au mortier OA4y (Figures 69 et 127). Ces différences sont en accord avec les quantités de sulfates précipités dans le mortier au cours des cycles de

biodétérioration. En effet, la précipitation d'ions sulfate au cours de l'essai avec *A. thiooxidans* est 10% plus importante que celle réalisée au cours de l'essai avec *H. neapolitanus* (Tableaux 24 et 36).

Comme pour l'essai avec *A. thiooxidans*, l'apparition de phases phosphatées (Taranakite et hydroxyapatite) dans la zone dégradée des mortiers est responsable de la diminution d'ions phosphate observée au cours des cycles de biodétérioration (Figure 116, tableau 37). Cependant, les quantités de phosphates précipitées dans les mortiers sont quasiment identiques dans les deux essais de biodétérioration. Ceci est en accord avec l'évolution de la solubilité de ces minéraux et notamment de la taranakite avec le pH : la solubilité de la taranakite augmente fortement pour des pH inférieurs à 2 alors que la taranakite est quasiment insoluble à des pH > 2,5. Ainsi dans nos essais, la formation de phases phosphatées dans le mortier OPC est très peu modifiée par la nature de la BSO.

Comme pour les essais avec les BSOA, les analyses MEB/EDS révèlent de grandes différences de porosité dans les différentes zones : les zones 1 – 4 ont une porosité importante et la zone 5 a une faible porosité. Ceci induit donc des mécanismes limitant la cinétique de relargage des éléments qui seront différents dans les zones.

2. Le mortier CAC

2.1. L'évolution du milieu réactionnel

2.1.1. L'évolution du pH

L'évolution du pH des milieux réactionnels en contact des mortiers CAC révèle, comme pour l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*, une répétabilité des essais. Cette répétabilité est beaucoup plus marquée que dans le cas du mortier OPC (Figures 131 et 136). Le pH du milieu réactionnel diminue rapidement après chaque renouvellement. De faibles remontées de pH sont observées plus particulièrement au cours des deux premiers cycles. Elles mettent en évidence la compétition entre la diminution du pH due à la production d'acide sulfurique et l'augmentation du pH due à la lixiviation du mortier. Toutefois, ces remontées de pH sont moins importantes que celles observées au cours de la biodétérioration du mortier OPC, ce dernier étant plus basique [Macias, *et al.*, 1996].

Comme généralement observé au cours de nos essais, la valeur de pH atteinte par le milieu réactionnel à la fin de chaque cycle de biodétérioration est de plus en plus basse (Figure 137). Cependant, contrairement à l'essai avec *A. thiooxidans*, les milieux réactionnels au contact des mortiers CAC ont des valeurs de pH plus basses que ceux au contact des mortiers OPC (Figure 137). Ces résultats laissent penser que la production d'acide sulfurique par les BSO serait moins importante au contact des mortiers CAC et/ou que la capacité de neutralisation de ce dernier est moins importante.

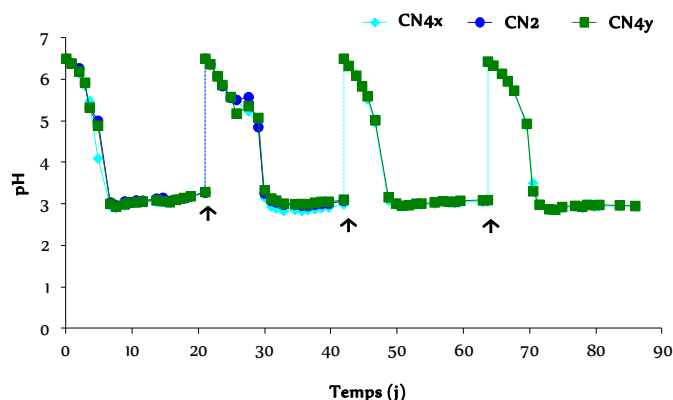


Figure 136 : Évolution du pH des milieux réactionnels en contact de mortier CAC (CN4x, CN2, CN4y) au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* (↑ renouvellement du milieu réactionnel).

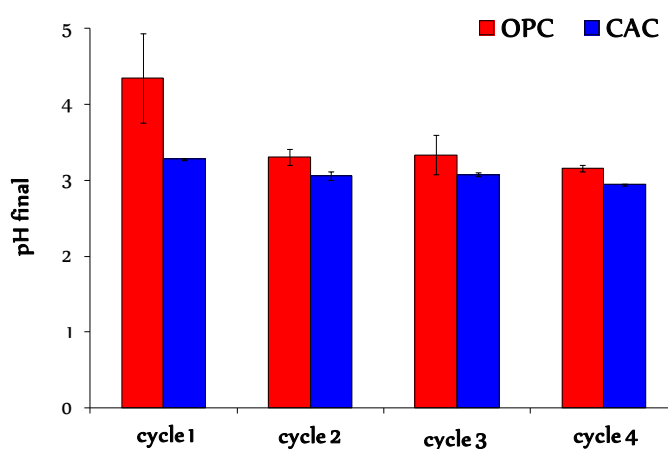


Figure 137 : pH moyens finaux des milieux réactionnels en contact de mortiers CAC et OPC au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

2.1.2. Évolutions des concentrations des constituants du milieu de croissance et estimation de la quantité d'acide sulfurique biogénérée

Au cours de l'essai de biodétérioration, aux premiers jours de chaque cycle, comme pour l'essai avec *A. thiooxidans*, un précipité blanc a été observé dans le milieu réactionnel. Ce dernier a persisté au-delà de 21 jours pour tous les cycles (Figure 138), alors qu'il avait disparu à la fin du cycle 4 pour l'essai avec *A. thiooxidans*.

Le précipité obtenu à la fin des cycles 1, 2 et 3 a été pesé, analysé et identifié par diffractométrie aux rayons X (Figure 139 A) et par analyses MEB/EDS semi-quantitatives (Figure 139 B). A la suite de la DRX, une quantification des phases composant le précipité a été effectuée grâce à la méthode RIETVELD. Les analyses DRX/RIETVELD ont révélé que ce précipité est minoritairement composé de soufre élémentaire (23%) et majoritairement de taranakite (77%) (Figure 139 A). Les analyses MEB/EDS ont également indiqué la présence de taranakite ($K_3Al_5[HPO_4]_6[PO_4]_2[H_2O]_{18}$) et de soufre (Figure 139 B). Cependant, d'après Parker et Prisk (1953), le soufre élémentaire, contrairement à *A.*

thiooxidans, n'est pas un intermédiaire métabolique de croissance de *H. neapolitanus* qui n'accumule que du tétrathionate au cours de sa croissance dans le thiosulfate (Chapitre 1) [Parker et Prisk 1953]. Ainsi, il serait possible que, contrairement aux affirmations de Parker et Prisk (1953), le soufre élémentaire ait été formé dans les conditions spécifiques de notre essai de biodétérioration des mortiers CAC.

La masse de précipité contenue dans la solution diminue au cours des cycles de biodétérioration induisant parallèlement une diminution de la quantité de soufre et de taranakite ($K_3Al_5[HPO_4]_6[PO_4]_2[H_2O]_{18}$) (Tableau 40).

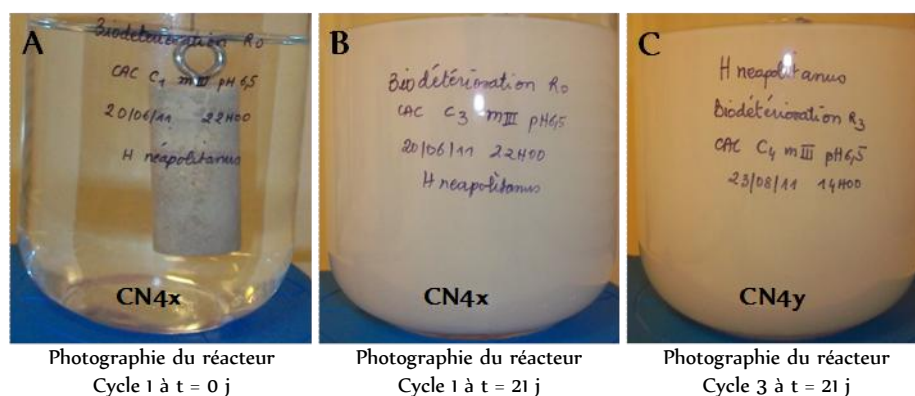


Figure 138 : Etat du milieu réactionnel avant et après la mise en œuvre de cycles de biodétérioration de mortier CAC avec *H. neapolitanus*

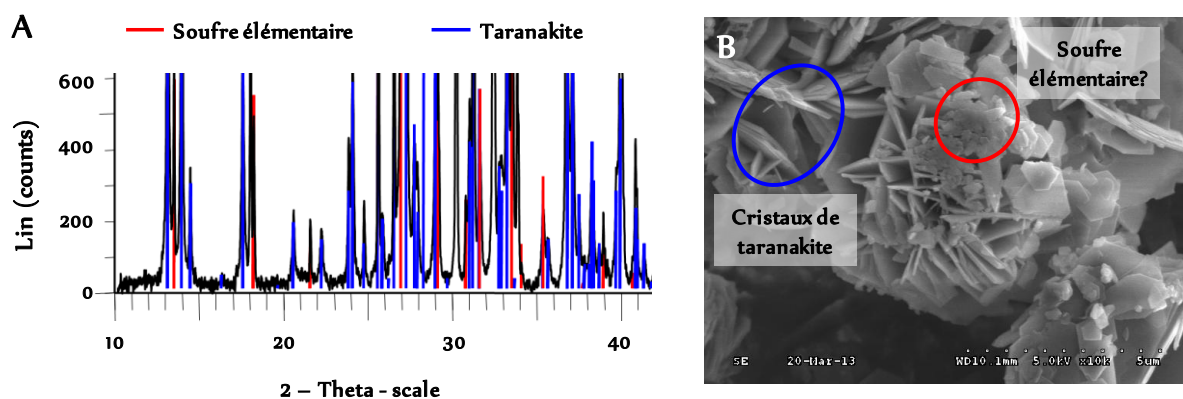


Figure 139 : Analyses DRX et MEB du précipité obtenu dans le milieu réactionnel à la fin du cycle 1 au cours de l'essai de biodétérioration des mortiers CAC par *H. neapolitanus*.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Précipité dans le milieu réactionnel (g)	1,05	1,04	0,86	0,50
Taranakite précipité dans le milieu réactionnel (g)	0,80	0,80	0,66	0,39
S° précipité dans le milieu réactionnel (g)	0,24	0,24	0,20	0,12

Tableau 40 : Évolution de la masse de taranakite précipitée dans le milieu réactionnel au cours des cycles de biodétérioration de mortiers CAC par *H. neapolitanus*.

Parallèlement, une couche de revêtement de couleur blanche apparaît à la surface des mortiers CAC. Cette dernière augmente au cours des cycles de biodétérioration (Figure 140).

Les analyses MEB/EDS de cette couche de revêtement révèlent qu'elle est entièrement constituée de taranakite ($K_3Al_5[HPO_4]_6[PO_4]_2[H_2O]_{18}$) (Figure 141). Elle est donc de la même nature que celle observée à la surface des mortiers CAC au cours de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans* (Figure 93). Par ailleurs, la quantité de taranakite accumulée en solution au cours de l'essai de biodétérioration par *H. neapolitanus* est supérieure à celle accumulée au cours de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans* (Tableaux 28 et 40). Cette différence est très certainement liée à la valeur de pH des milieux réactionnels qui dans le cas de *A. thiooxidans* conduit à une légère augmentation de la solubilité de la taranakite conduisant certainement à fragiliser cette couche dont la majeure partie se retrouve en solution dans le cas de l'essai avec BSO *A. thiooxidans* (Annexe 2).

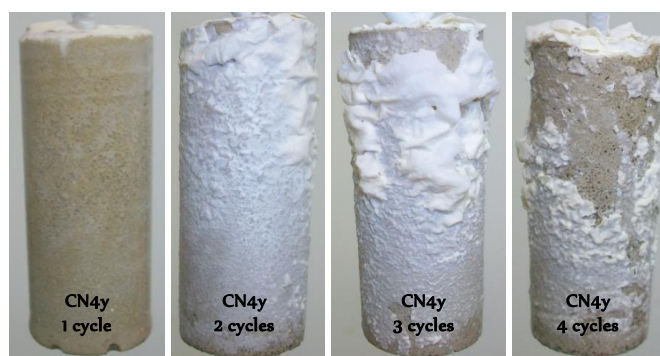


Figure 140 : Analyse visuelle de l'évolution de la couche de revêtement au cours des cycles de biodétérioration du mortier CAC par *H. neapolitanus*.

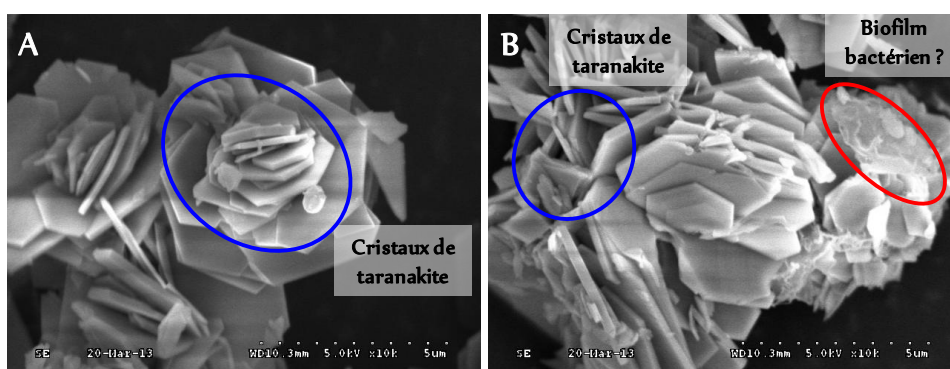


Figure 141 : Analyses MEB du précipité obtenu à la surface des mortiers CAC à la fin du cycle 4 au cours de l'essai de biodétérioration des mortiers CAC par *H. neapolitanus*.

Des analyses chromatographiques des quantités de thiosulfates et de sulfates en solution ont été réalisées sur les milieux de culture (Figure 142). L'évolution de la consommation de thiosulfate par *H. neapolitanus* montre, comme pour le pH, une répétabilité des manipulations (CN4x, CN2, CN4y) (Figure 142 A). Toutefois, contrairement à *A. thiooxidans* et comme pour l'essai avec le mortier OPC

attaqué par *H. neapolitanus*, le thiosulfate est totalement consommé par les bactéries au bout de 7 jours au lieu de 14 jours, du à la croissance plus rapide de *H. neapolitanus* dans le milieu III (Figure 42, tableau 15).

L'évolution des quantités de sulfates montre également une très bonne répétabilité des essais (CN4x, CN4y, CN2) (Figure 142 B). Par contre, contrairement à l'essai avec *A. thiooxidans* et comme pour l'essai avec le mortier OPC attaqué par *H. neapolitanus*, la quantité maximale d'ions sulfate en solution semble diminuer au cours du temps dû à la diminution globale de la production d'acide sulfurique par les BSO (Figure 143 A). Cette diminution est la conséquence de l'accumulation de tétrathionate en solution qui diminue l'activité bactérienne (Figure 143 A et tableau 41).

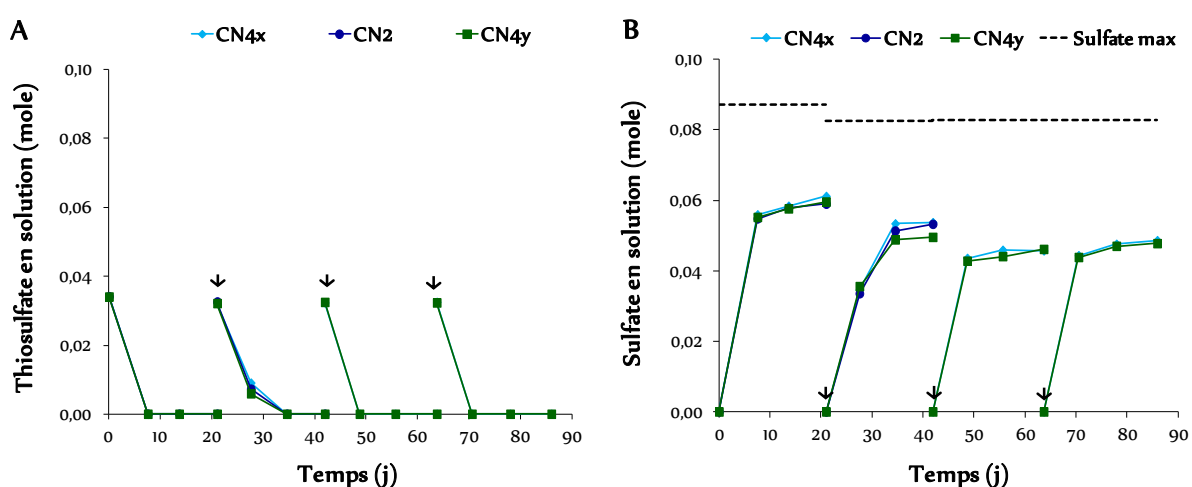


Figure 142 : Évolution des ions thiosulfate (A) et sulfate (B) en solution dans les milieux réactionnels en contact des mortiers CAC (CN4x, CN4y, CN2) au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* (↓ renouvellement du milieu réactionnel).

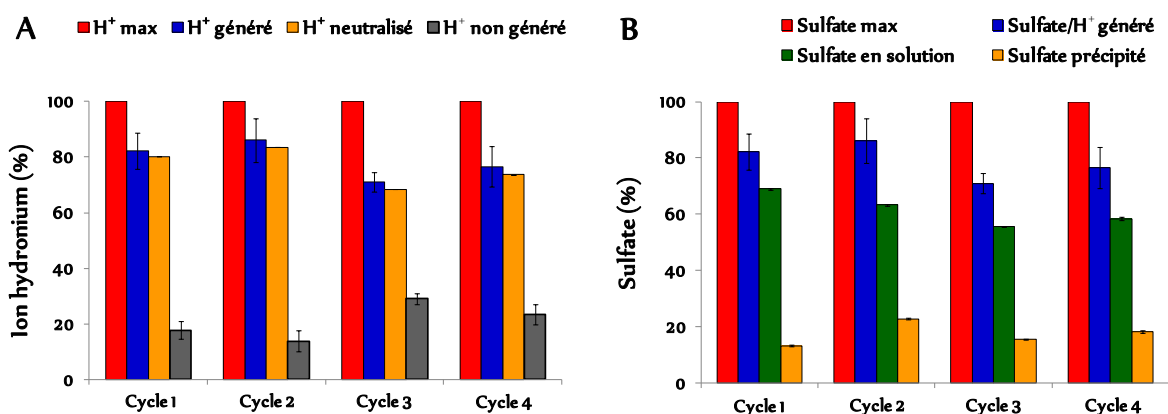


Figure 143 : A – Quantité d'ions hydronium générés par *H. neapolitanus* et neutralisés par le mortier au cours de l'essai. B – Quantité d'ions sulfate générés par les bactéries, présents en solution et précipités dans le mortier. Les ions hydronium non générés correspondent au tétrathionate accumulé.

En effet, hormis pour le cycle 1, la quantité de tétrathionate accumulée en solution augmente au cours des cycles de biodétérioration. La source de soufre disponible à la croissance de *H. neapolitanus* diminue induisant un déficit maximal de 29,0% dans la production d'ions hydronium par *H. neapolitanus* bien que le pH du milieu réactionnel à la fin de chaque cycle soit identique (Figure 137, tableau 41). La diminution de la capacité de neutralisation du mortier CAC est indirectement responsable de la diminution de la production d'acide sulfurique. En effet, le mortier CAC, de façon analogue au mortier OPC, relargue des ions notamment des hydroxydes qui contribuent à maintenir le pH à des valeurs supérieures à 4,7, en moyenne 5 jours pour le cycle 1, 8 jours pour le cycle 2, 5 jours pour le cycle 3 et 6 jours pour le cycle 4. Ainsi, on peut constater que plus la capacité de neutralisation du mortier est importante, moins le tétrathionate est accumulé en solution et plus la production d'acide sulfurique est importante (Figure 143 A, tableau 41, Chapitre 3) [Ehrich *et al.*, 1999]. Toutefois, l'accumulation de tétrathionate est 1 à 3 fois moins importante que celle se produisant au cours des cultures bactériennes et correspond à 3,1 – 16,3% de la quantité initiale de thiosulfate (Figure 143 A, tableau 41).

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Sulfate/H ⁺ attendu (mole)	8,71E-02 ± 1,55E-04	8,26E-02 ± 6,17E-04	8,27E-02 ± 2,91E-04	8,28E-02 ± 3,30E-04
Soufre élémentaire accumulé (mole)	0	0	0	0
Tétrathionate accumulé (mole)	3,87E-03 ± 1,39E-03	2,86E-03 ± 1,60E-03	6,00E-03 ± 7,52E-04	4,84E-03 ± 1,49E-03
Thiosulfate correspondant (%)	8,88 ± 3,18	6,93 ± 3,87	14,51 ± 1,82	11,70 ± 3,59
Sulfate correspondant (%)	17,77 ± 6,39	13,87 ± 7,80	29,02 ± 3,54	23,41 ± 7,28
Sulfate/H ⁺ généré (mole)	7,16E-02 ± 5,66E-03	7,11E-02 ± 6,55E-03	5,87E-02 ± 2,72E-03	6,34E-02 ± 6,28E-03
Sulfate/H ⁺ généré (%)	82,23 ± 6,39	86,13 ± 7,80	70,98 ± 3,54	76,59 ± 7,28
Sulfate en solution (mole)	5,99E-02 ± 1,13E-03	5,21E-02 ± 2,29E-03	4,59E-02 ± 3,06E-04	4,82E-02 ± 6,06E-04
Sulfate en solution (%)	83,84 ± 4,86	73,54 ± 3,89	78,24 ± 4,15	76,29 ± 6,60
Sulfate précipité dans mortier (mole)	1,18E-02 ± 4,55E-03	1,90E-02 ± 4,51E-03	1,28E-02 ± 3,03E-03	1,52E-02 ± 5,67E-03
Sulfate précipité dans mortier (%)	16,16 ± 4,86	26,46 ± 3,89	21,76 ± 4,15	23,71 ± 6,60
H ⁺ calculé à partir du pH (mole)	3,87E-03 ± 8,28E-05	8,81E-04 ± 1,23E-04	8,39E-04 ± 5,05E-05	1,14E-03 ± 3,53E-05
ΔH^+ [H ⁺ généré - H ⁺ calculé - H ⁺ neutralisé par le milieu] ou H ⁺ neutralisé par le mortier (mole)	6,98E-02 ± 5,65E-03	6,90E-02 ± 6,44E-03	5,66E-02 ± 2,67E-03	6,10E-02 ± 6,24E-03
H ⁺ neutralisé par le mortier (%)	97,50 ± 0,18	96,98 ± 0,13	96,42 ± 0,08	96,20 ± 0,32

Tableau 41 : Quantités de composés soufrés produits, accumulés et des quantités d'ions hydronium neutralisés par le mortier au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

Par ailleurs, la quantité de tétrathionate accumulée dans les réacteurs contenant les mortiers CAC est 28 – 30% plus importante que celle accumulée dans les réacteurs contenant les mortiers OPC. D'où la production de 32 – 35 % moins d'acide sulfurique dans l'essai avec le mortier CAC. En effet, au cours des cycles de biodétérioration par une BSO neutrophile (lié au pH final supérieur ou autour de

3), la capacité de neutralisation du mortier CAC est moins importante que celle du mortier OPC (Figure 35) [Lamberet, 2005 ; Letourneux and Scrivener, 1999]. Ainsi, l'activation de *H. neapolitanus* par la présence du mortier CAC est moins intense due à la moindre quantité d'ions hydronium neutralisée par le mortier (Figures 115 A et 143 A ; tableaux 36 et 41 ; Chapitre 3).

Hormis le cycle 1, les ions sulfate sont globalement de moins en moins précipités dans le mortier (Figure 143 B, tableau 41). Toutefois, après l'essai de biodétérioration par *H. neapolitanus*, la quantité d'ions sulfate précipitée dans le mortier CAC semble être 20 – 32% plus importante que celle précipitée dans le mortier OPC. Or, il est surprenant que la quantité de sulfates précipitée dans le mortier CAC soit supérieure à celle précipitée dans le mortier OPC. Donc, ce résultat confirme bien une accumulation de soufre élémentaire dans les milieux réactionnels au cours des essais de biodétérioration des mortiers CAC par *H. neapolitanus*. En effet, du chapitre 3 il a été indiqué que :

$$[\text{Composés soufrés solides}] = [\text{Soufre élémentaire}] + [\text{Sulfate précipité dans mortier}]$$

Ainsi, la quantité de sulfates précipitée dans le mortier, précédemment déterminée, prend également en compte la quantité de soufre élémentaire accumulé dans le milieu. Ainsi, en utilisant les quantités de soufre contenues dans le précipité, on obtient la quantité de sulfates réellement précipitée dans le mortier CAC (Tableau 42). Cette dernière indique bien qu'elle est 1 à 2 fois moins importante que dans le mortier OPC.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
S° précipité dans le milieu réactionnel (g)	0,24	0,24	0,20	0,12
S° précipité dans le milieu réactionnel (mole)	7,49E-03	7,42E-03	6,17E-03	3,59E-03
SO ₄ ²⁻ précipité dans le mortier (mole)	7,74E-03	1,16E-02	6,66E-03	1,16E-02
SO ₄ ²⁻ précipité dans le mortier (%)	10,81	16,25	11,35	18,38

Tableau 42 : Quantités de composés soufrés accumulés dans le milieu et dans le mortier au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

Par ailleurs, au cours des cycles de biodétérioration, les ions phosphate précipitent avec l'aluminium pour former principalement la taranakite (Figure 144, tableau 43, annexe 2). La quantité d'ions phosphate précipitée au cours des cycles de biodétérioration diminue tout comme la quantité de taranakite retrouvée en solution (Tableaux 40 et 43). En outre, la quantité d'ions phosphate précipitée en présence des mortiers CAC est 2 à 4 fois plus importante que celle précipitée en présence des mortiers OPC. Cette différence est due au fait que les mortiers CAC contiennent plus d'Al que les mortiers OPC (Tableaux 4 et 6).

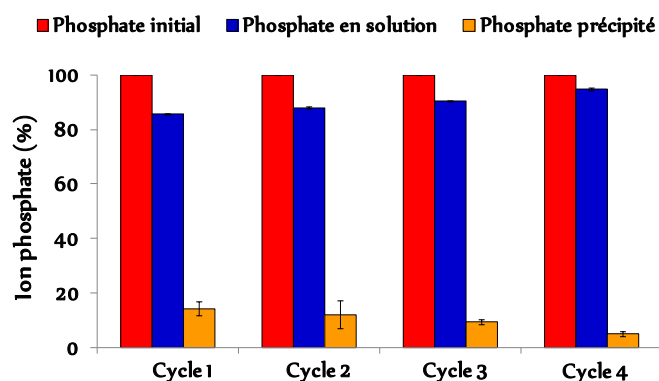


Figure 144 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier et en solution au cours de l'essai de biodétérioration.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Phosphate initiale (mole)	4,77E-02 ± 8,47E-05	4,52E-02 ± 3,38E-04	4,53E-02 ± 1,59E-04	4,53E-02 ± 1,81E-04
Phosphate en solution (mole)	4,09E-02 ± 1,21E-03	3,98E-02 ± 2,42E-03	4,09E-02 ± 5,56E-04	4,30E-02 ± 5,21E-04
Phosphate en solution %	85,74 ± 2,51	88,00 ± 5,11	90,43 ± 0,91	94,93 ± 0,77
Phosphate précipité (mole)	6,79E-03 ± 1,19E-03	5,42E-03 ± 2,29E-03	4,33E-03 ± 3,97E-04	2,30E-03 ± 3,40E-04
Phosphate précipité %	14,26 ± 2,51	12,00 ± 5,11	9,51 ± 0,91	5,07 ± 0,77

Tableau 43 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier et en solution au cours de l'essai de biodétérioration.

Par contre, la quantité d'ions phosphate précipitée au cours de l'attaque des mortiers CAC par *H. neapolitanus* est 1 à 2 fois moins importante que celle précipitée au cours des cycles de biodétérioration du mortier CAC par *A. thiooxidans* (Tableaux 30 et 43). Ce résultat est très certainement dû à l'attaque plus intense des BSO *A. thiooxidans* qui conduit à une dissolution plus importante de phases alumineuses, responsable de la précipitation plus importante de l'Al sous forme phosphatée, notamment la taranakite.

Toutefois, une plus faible quantité de taranakite a été mesurée en solution dans les réacteurs contenant les BSO *A. thiooxidans* (Tableaux 30 et 43). Il semblerait qu'au cours de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*, contrairement à celui réalisé avec *H. neapolitanus*, une plus grande quantité d'ions phosphate ait précipité dans/sur le mortier CAC sous forme de phases phosphatées (Tableau 44). L'analyse MEB/EDS des mortiers CAC attaqués par *H. neapolitanus* devrait révéler une moindre proportion en phases phosphatées comparée aux mortiers CAC attaqués par *A. thiooxidans*.

		Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
<i>H. neapolitanus</i>	Phosphate total moyen précipité (mole)	6,79E-03	5,42E-03	4,33E-03	2,30E-03
	Phosphate en solution (taranakite) (mole)	4,80E-03	4,75E-03	3,95E-03	2,30E-03
	Phosphate dans/sur le mortier (mole)	1,99E-03	6,69E-04	3,82E-04	4,85E-06
	Phosphate dans/sur le mortier (%)	4,18	1,48	0,84	0,01
<i>A. thiooxidans</i>	Phosphate total moyen précipité (mole)	4,85E-03	9,01E-03	8,90E-03	7,41E-03
	Phosphate en solution (taranakite) (mole)	1,49E-03	1,49E-03	1,49E-03	0,00E+00
	Phosphate dans/sur le mortier (mole)	3,36E-03	7,52E-03	7,41E-03	7,41E-03
	Phosphate dans/sur le mortier (%)	6,97	16,64	16,39	16,69

Tableau 44 : Quantité d'ions phosphate en solution, précipitée dans/sur le mortier au cours des essais de biodétérioration.

2.1.3 Le dénombrement bactérien

Le dénombrement des populations bactériennes montre que le nombre de bactéries actives en présence de mortiers CAC reste près de 10^9 /mL après 14 jours pour chacun des cycles (Figure 145). Ainsi, de façon analogue au mortier OPC, la présence du mortier CAC ne semble pas affecter le développement bactérien de *H. neapolitanus*. Elle semble au contraire augmenter l'activité bactérienne de *H. neapolitanus*, car la génération d'acide sulfurique est 20 - 34 % plus importante en présence du mortier CAC comparé au milieu III seul (Figures 43 A, tableaux 17 et 41) tout en restant inférieur à l'essai avec le mortier OPC.

Comme au cours de l'essai de biodétérioration des mortiers CAC par *A. thiooxidans*, le dénombrement des populations bactériennes n'a pas été envisageable à la fin des cycles (à 21 j). En effet, des agrégats de bactéries ont été détectés dans les milieux réactionnels (Figure 146).

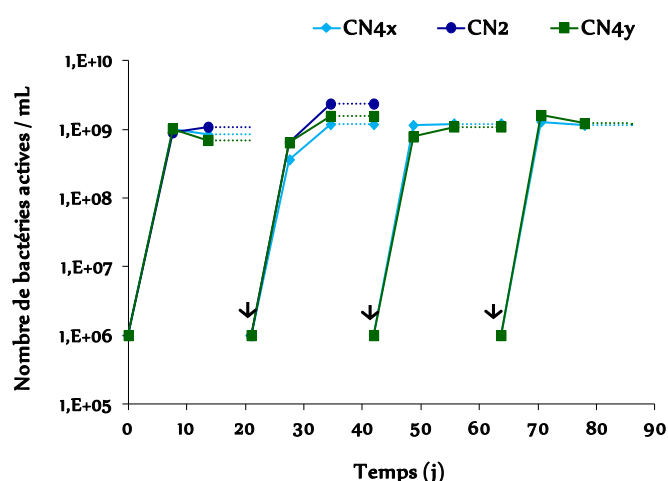


Figure 145 : Évolution du nombre de bactéries actives dans les milieux réactionnels en contact des mortiers CAC (CN4x, CN4y, CN2) au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* (↓ renouvellement du milieu réactionnel).

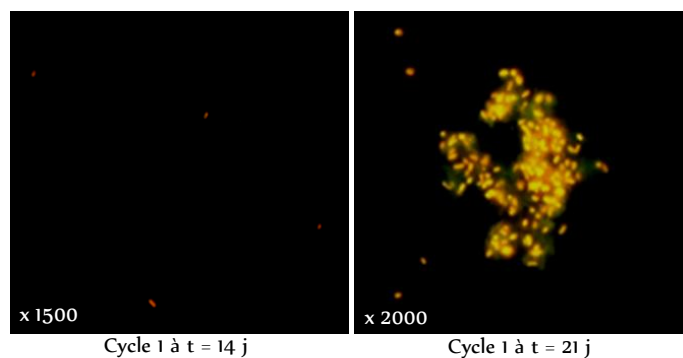


Figure 146 : Formation d'agrégats de *H. neapolitanus* après 21 j de croissance dans le milieu réactionnel en contact des mortiers CAC. Observations sous microscope à épifluorescence après coloration à l'acridine orange.

2.1.4 L'évolution des proportions d'éléments relargués en solution par le mortier

Les quantités d'aluminium relarguées en solution ont été corrigées avec les quantités de taranakite précipitées en solution (Tableau 40) selon la relation décrite au chapitre 4. Les quantités d'Al réellement relarguées dans le milieu réactionnel correspondent à l'Al.cor.

Contrairement à l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*, les quantités de Ca et d'Al relarguées au cours de la pré-lixiviation sont inférieures à celles relarguées au cours des cycles de biodétérioration (voir Al.cor pour l'aluminium) (Figure 147). Le pH plus élevé et la quantité moins importante d'acide sulfurique de la solution pré-lixivante ($\text{pH}=4,2$; $1\text{E}-02$ mol) par rapport à ceux des milieux réactionnels ($3,0 < \text{pH} < 3,3$; $5,9 - 7,2\text{E}-02$ mol) sont très certainement responsables de ce moindre relargage. Contrairement aux éléments Ca et Al, le Si n'a pas été relargué en solution au cours de la pré-lixiviation. Le Fe n'a quasiment pas été relargué en solution au cours de l'essai de biodétérioration (Figure 147). Ces résultats sont en relation avec le pH de la solution pré-lixivante (supérieur au point isoélectrique de la silice) et celui des milieux réactionnels ($3,0 < \text{pH} < 3,3$) supérieur au pH induisant la dissolution des phases ferriques ($\text{pH}=2$) [Alexander and Fourie, 2011].

Les quantités d'Al réellement relarguées dans le milieu réactionnel (Al.cor) sont 28 à 47 fois plus importantes que celles présentes en solution (Al). Toutefois, elles sont 2 à 4 fois moins importantes que celles relarguées au cours de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans* (Figures 88 et 147). Cette moindre performance du relargage d'Al en solution s'explique par le fait que l'attaque réalisée par la BSO *H. neapolitanus* est moins intense que celle réalisée par la BSO *A. thiooxidans*. En effet, la BSO *H. neapolitanus* produit 14 – 30% moins d'acide sulfurique que la BSO *A. thiooxidans*. De plus, au cours de la croissance de *H. neapolitanus* le pH du milieu réactionnel diminue à des valeurs de pH (3,0 – 3,3) proches du pH induisant la dissolution des phases alumineuses ($\text{pH} < 3,5$) [Alexander and Fourie, 2011].

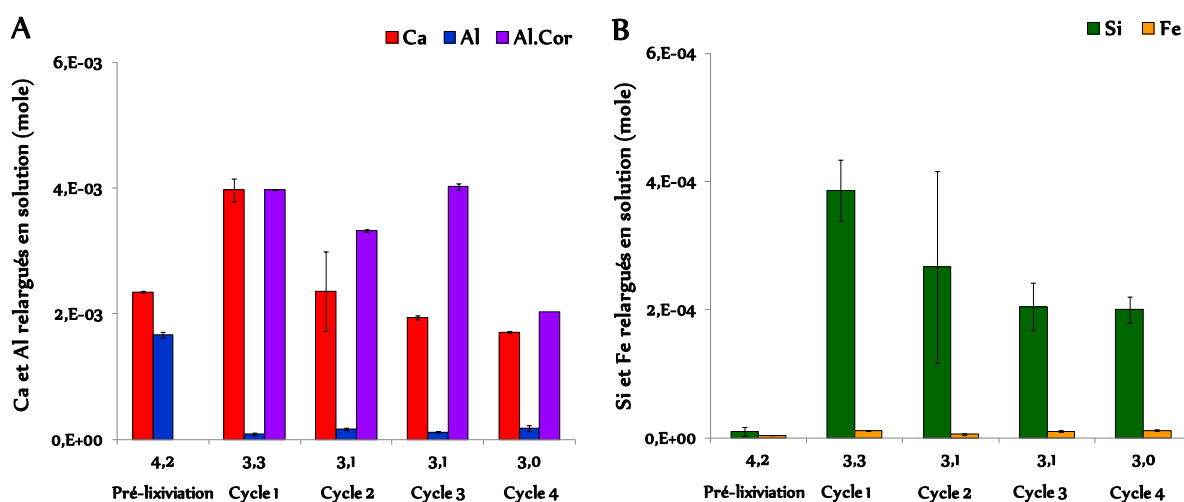


Figure 147 : Évolution des quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC en fonction des pH des milieux réactionnels.

En outre, les concentrations d'Al mesurées en solution dans l'essai avec les BSO *H. neapolitanus*, $0,9 - 1,7 \text{ E-}04 \text{ mol/L}$ (Al dans figure 147 A), ne conduisent pas à une inhibition de la croissance bactérienne.

L'analyse comparative des essais de biodétérioration montre que l'intensité du relargage des éléments Ca et d'Al diminue au cours des cycles pour les essais réalisés avec les BSO *H. neapolitanus*, tandis qu'il augmente légèrement pour ceux réalisés avec les BSO *A. thiooxidans* (Figures 88 et 147). En effet, au cours des cycles de biodétérioration, les BSO *A. thiooxidans* produisent plus d'acide sulfurique ($7,5 - 8,1 \text{ E-}02 \text{ moles}$) que les BSO *H. neapolitanus* ($5,9 - 7,2 \text{ E-}02 \text{ moles}$). De plus, les milieux contenant les BSO *A. thiooxidans* ($1,9 < \text{pH} < 2,7$) sont plus acides, donc plus agressifs que ceux contenant les BSO *H. neapolitanus* ($3,0 < \text{pH} < 3,3$), d'où la moindre dissolution des phases calciques et alumineuses observée au cours de l'essai avec *H. neapolitanus*.

Au cours des cycles de biodétérioration par la BSO *H. neapolitanus*, les quantités de Ca et d'Al.cor relarguées en solution diminuent globalement quand le pH des milieux réactionnels diminue alors que dans le cas de l'essai avec *A. thiooxidans*, ces derniers augmentent avec la diminution du pH (Figures 88 et 147 A). Il semble que dans l'essai de biodétérioration par la BSO *H. neapolitanus*, les relargages du Ca et de l'Al.cor ne soient fonction que de la quantité d'acide sulfurique générée par les BSO au contact des mortiers CAC et non-fonction du pH dans la gamme de pH de l'essai (Figure 147 A). Parallèlement, la quantité d'Al mesurée en solution semble augmenter légèrement avec la diminution du pH, certainement en relation avec l'évolution de la solubilité de la taranakite (Figure 147 A). De plus, de façon analogue aux cycles de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*, le relargage de Si diminue quand le pH du milieu réactionnel diminue (Figure 147 B).

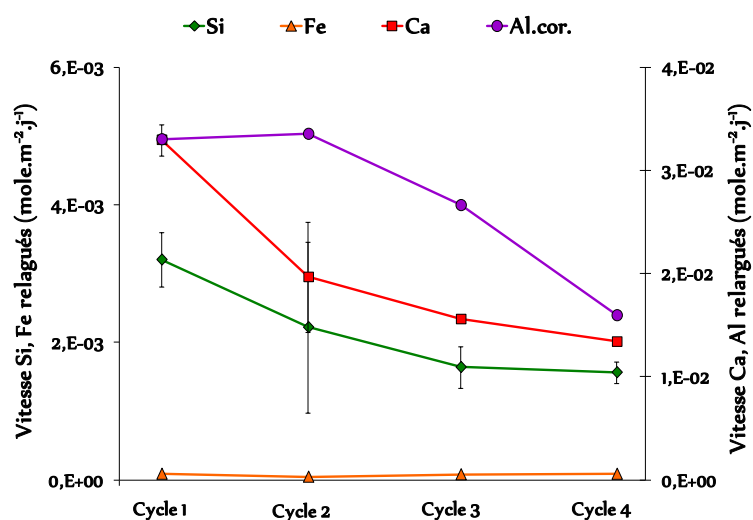


Figure 148 : Vitesses moyennes de relargage en solution des éléments Si, Al, Fe et Ca par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

Au cours des cycles de biodétérioration, comme pour l'essai avec *A. thiooxidans*, les vitesses de relargage de l'Al et du Ca sont plus importantes que celle du Si (Figure 148). Cette différence est liée à la plus grande dissolution des éléments Al et Ca au cours des cycles de biodétérioration et à leur plus grande quantité dans le mortier CAC (Tableau 6). Toutefois, les vitesses de relargage des éléments Al et Ca diminuent au cours des cycles de biodétérioration, due à la diminution de la production d'acide sulfurique (Tableau 41). La diminution de la vitesse de relargage du Si est très certainement due à la diminution du pH du milieu réactionnel ($3,0 < \text{pH} < 3,3$) responsable de la dissolution de plus en plus difficile des phases siliceuses (lié au point isoélectrique).

Par ailleurs, si on considère les quantités relarguées en solution (Tableau 45), on constate que le ratio molaire Ca/Al des éléments passés en solution diminue au cours de l'essai de biodétérioration avant de subitement augmenter au 4^{ème} cycle de biodétérioration (Figure 149).

	Moyennes des quantités des éléments relargués en solution (mole)				
	Ca	Si	Al	Fe	Ca/Al
Cycle 1	3,97E-03 ± 1,82E-04	3,86E-04 ± 2,04E-04	3,98E-03 ± 2,13E-05	1,08E-05 ± 1,03E-06	1,00 ± 0,04
Cycle 2	2,36E-03 ± 6,38E-04	2,66E-04 ± 1,49E-04	4,02E-03 ± 1,60E-05	5,64E-06 ± 1,26E-06	0,59 ± 0,16
Cycle 3	1,95E-03 ± 3,04E-05	2,05E-04 ± 3,76E-05	3,32E-03 ± 1,03E-05	1,02E-05 ± 1,59E-06	0,59 ± 0,01
Cycle 4	1,71E-03 ± 1,40E-04	2,00E-04 ± 2,00E-05	2,04E-03 ± 4,70E-05	1,14E-05 ± 1,04E-06	0,84 ± 0,01

Tableau 45 : Moyennes des quantités d'éléments chimiques relargués en solution par les mortiers CAC au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

De plus, les ratios Ca/Al au cours de l'essai de biodétérioration sont tantôt supérieurs tantôt inférieurs au ratio initial Ca/Al du mortier après pré-lixiviation, qui est de 0,7. La diminution globale

du ratio Ca/Al est due à la moindre dissolution des phases alumineuses au cours des cycles de biodétérioration, liée à la faible production d'acide sulfurique, mais surtout aux valeurs de pH des milieux réactionnels ($3,0 < \text{pH} < 3,3$) qui sont proches du pH minimum induisant la dissolution des phases alumineuses (AH_3) ($\text{pH}=3,5$). Les variations observées sont aussi dues à l'hétérogénéité spatiale de la pâte de ciment relativement aux grains de quartz qui ne seront pas attaqués, mais qui peuvent ralentir la diffusion et donc l'attaque en protégeant certaines portions de pâte de ciment.

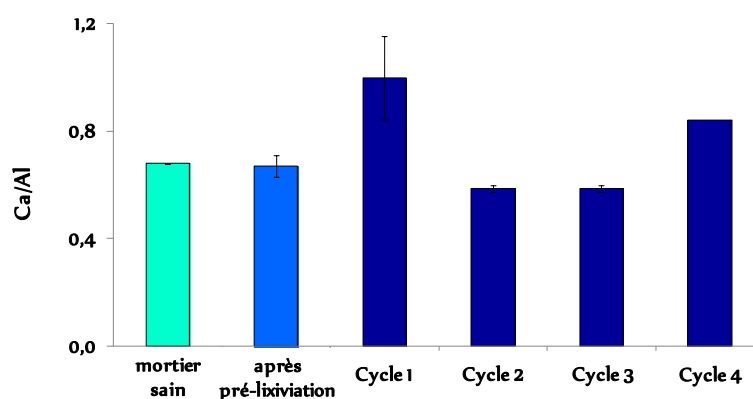


Figure 149 : Ratio molaire Ca/Al calculé à partir des quantités moyennes des éléments Ca et Al relargués en solution par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

Ainsi, au cours de l'attaque du mortier CAC, le relargage en solution de l'élément Si est fonction du pH du milieu quelle que soit la souche bactérienne : *H. neapolitanus* ou *A. thiooxidans*. Les relargages en solution des éléments Ca et Al par contre sont fonction de la souche bactérienne considérée. En effet, ils sont fonction du pH au cours de l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*, tandis qu'ils sont proportionnels à la quantité d'acide sulfurique générée au cours de l'essai avec la BSO *H. neapolitanus* (Figure 150).

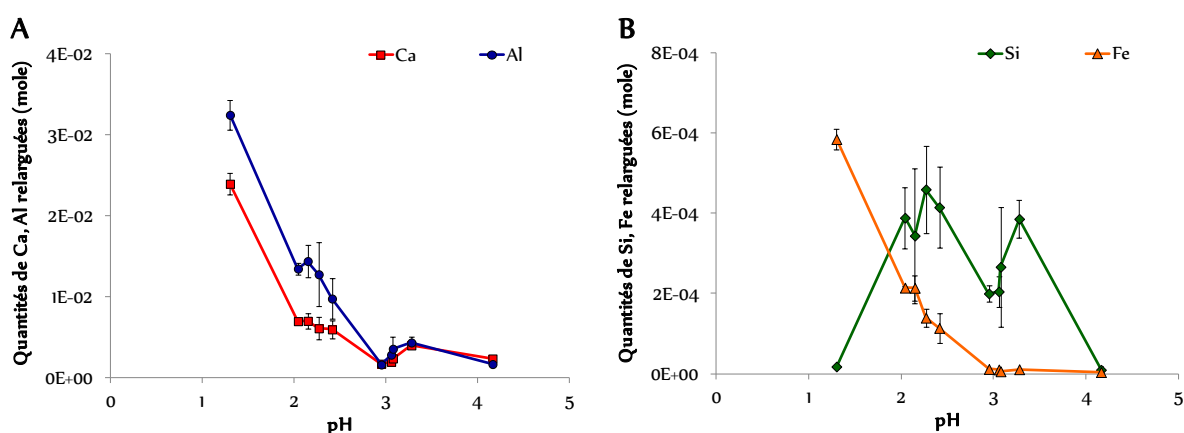


Figure 150 : Évolution des quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC au cours des essais de biodétérioration de *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* en fonction du pH des solutions prélixivantes et des milieux réactionnels.

A titre indicatif, comme pour l'essai avec *A. thiooxidans*, les mécanismes gouvernant le relargage des différents éléments ont été déterminés. L'analyse des courbes de relargage révèle que les relargages des éléments Ca, Si et Al se font globalement selon des mécanismes de dissolution et de diffusion en fonction des différentes zones dégradées (Figure 151).

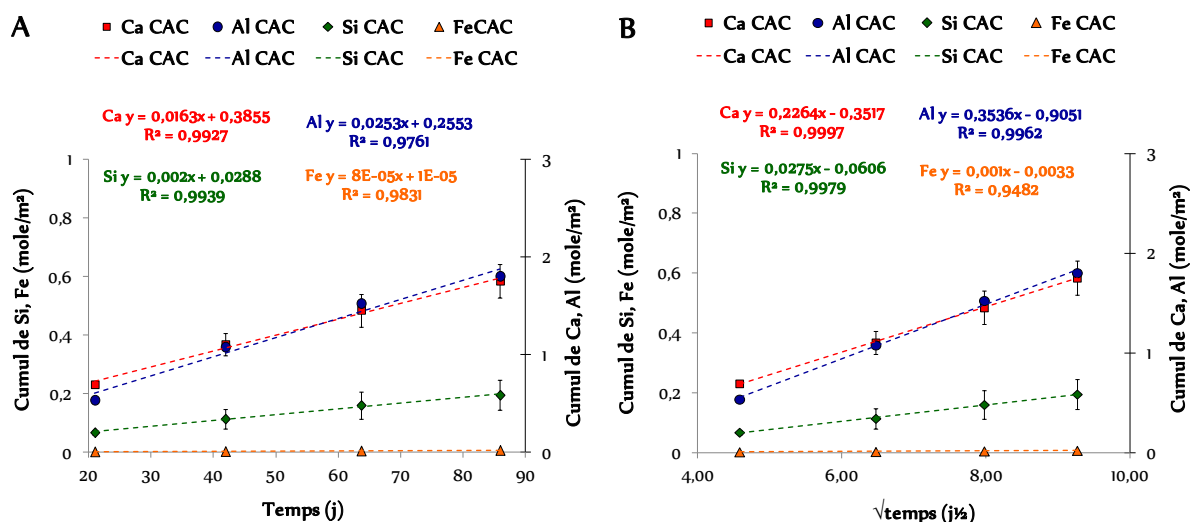


Figure 151 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction du temps (A) et de la racine carrée du temps (B) ; les droites représentent les régressions linéaires des courbes.

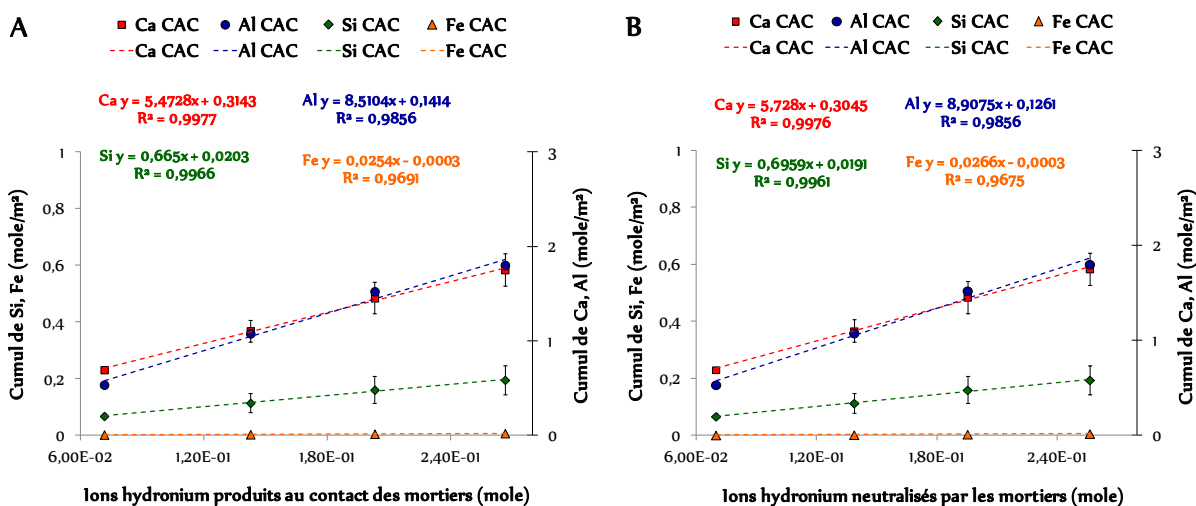


Figure 152 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium générés par *H. neapolitanus* (A) ou neutralisés par le milieu et le mortier (B).

Par ailleurs, on constate que les vitesses de dissolution des phases calciques, alumineuses et siliceuses sont respectivement 4, 3 et 2 fois moins importantes que celles mesurées au cours de l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*. Il en va de même pour les vitesses de diffusion des

éléments Ca, Al et Si (Figures 91 et 151). Ce résultat est dû au fait que l'attaque des mortiers CAC par les BSO *A. thiooxidans* est plus intense que celle réalisée par les BSO *H. neapolitanus* notamment à cause des différences de pH.

Les vitesses de relargage des éléments Ca, Si et Al représentées en fonction des quantités d'ions hydronium neutralisés par le mortier sont en moyenne identiques à celles représentées en fonction des quantités d'ions hydronium générées par *H. neapolitanus*. Ce résultat est lié au fait que pratiquement tout l'acide sulfurique produit par les BSO est neutralisé par le mortier de façon identique au mortier OPC (Tableaux 36 et 41). De même, une forte proportionnalité est observée entre les quantités d'éléments Ca, Al et Si relargués en solution et celles d'acide sulfurique produites. Ce résultat montre bien qu'au cours de l'attaque du mortier CAC par *H. neapolitanus*, le relargage des éléments en solution est fonction de la quantité d'acide sulfurique générée par *H. neapolitanus*.

1.1.5. Conclusion

Comme pour la BSO *A. thiooxidans*, la présence du mortier CAC ne semble affecter ni le développement, ni l'activité bactérienne de la BSO *H. neapolitanus*. De même que dans le cas du mortier OPC, le mortier CAC semble indirectement avoir un effet activateur sur la production d'acide par *H. neapolitanus*. En effet, la présence du mortier diminue l'accumulation du tétrathionate dans les milieux réactionnels et conduit donc à produire plus d'acide sulfurique. Toutefois, cette diminution est plus marquée pour le mortier OPC car ce dernier a une capacité de neutralisation plus importante que celle du mortier CAC pour les pH supérieurs ou autour de 3 (Figure 35) [Lamberet, 2005 ; Letourneux and Scrivener, 1999]. Donc, globalement le mortier CAC subit une attaque moins importante pour le même essai. Il est donc indispensable de bien connaître l'activité bactérienne pour discriminer la performance des deux types de mortiers et à nouveau l'indice d'attaque qui tient compte de la quantité d'ions hydronium totale apportée au système semble être un indicateur pertinent de performance. Toutefois, la quantité d'acide sulfurique générée par la BSO *H. neapolitanus* est suffisamment importante pour attaquer et dissoudre les phases calcaïques et alumineuses. La précipitation des phases secondaires phosphatées et sulfatées dans le mortier CN4y devrait être moins importante que celles précipitées dans le mortier CA4y. Par ailleurs, contrairement à l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*, le Fe n'a pas été relargué en solution dû aux pH plus élevés des milieux réactionnels.

2.2. L'évolution du mortier

2.2.1. L'analyse macroscopique

L'analyse macroscopique des mortiers n'a révélé comme escompté aucun biofilm à la surface des mortiers à la fin des cycles de biodétérioration, grâce aux conditions optimales de croissance de

l'essai. Une couche plus ou moins épaisse de taranakite a été retrouvée à la surface, et, contrairement à l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*, la surface des mortiers est lisse (Figure 140). L'observation des sections transversales des mortiers a révélé, comme pour l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*, la présence de trois zones de coloration différente. Ainsi, on retrouve une très fine couche blanche appelée couche de revêtement. Une deuxième zone de couleur marron plus fine (0,2 mm) que celle des mortiers CA4. La troisième zone claire correspondant au cœur du mortier d'environ 2,8 – 2,9 cm (Figure 153). Toutefois, la couche de revêtement est différente de celle retrouvée à la surface des mortiers CAC biodétériorés par *A. thiooxidans*, car cette dernière était floconneuse alors que dans le cas présent elle est compacte (Figures 93 et 140).

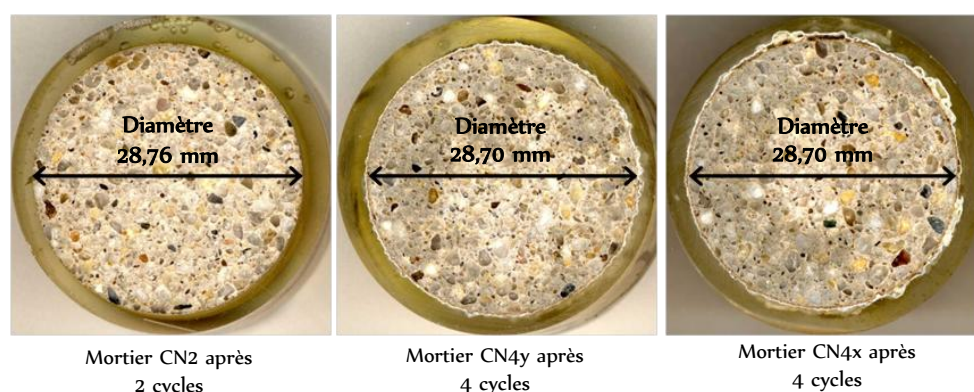


Figure 153 : Coupes transversales des mortiers CAC CN2, CN4y et CN4x après 2 ou 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*. Le diamètre initial des mortiers est de 2,9 cm.

Après les cycles de biodétérioration, les épaisseurs complètement détériorées, par la pré-lixiviation et par l'acide sulfurique biogénique ont été déterminées comme dans le chapitre 4 (Tableau 46).

	Diamètre après pré-lixiviation (mm)	Épaisseur détériorée (mm)	Diamètre après biodétérioration (mm)	Épaisseur biodétériorée (mm)	Épaisseur perdue par le mortier (mm)	Vitesse de détérioration (mm/an)
CN2	28,79 ± 0,13	0,11 ± 0,06	28,76 ± 0,11	0,01 ± 0,06	0,12 ± 0,08	1,03 ± 0,97
CN4y			28,70 ± 0,14	0,04 ± 0,07	0,15 ± 0,10	0,65 ± 0,61
CN4x			28,70 ± 0,14	0,04 ± 0,07	0,15 ± 0,10	0,65 ± 0,61

Tableau 46 : Mesures des diamètres, des épaisseurs perdues et des vitesses de détérioration des mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*. Le diamètre initial du mortier est de 29 mm.

Comme attendu, les mortiers attaqués par *H. neapolitanus* semblent moins altérés que ceux attaqués par *A. thiooxidans*. En effet, l'épaisseur totale complètement détériorée de ces derniers est 9 fois plus importante que celle des essais présents. De plus, contrairement à l'essai avec la BSO *A. thiooxidans*, les grains de silice n'ont pas été retrouvés dans les réacteurs contenant les mortiers attaqués par la BSO *H. neapolitanus*, preuve que l'attaque par cette dernière est beaucoup moins intense.

2.2.2 L'analyse microscopique

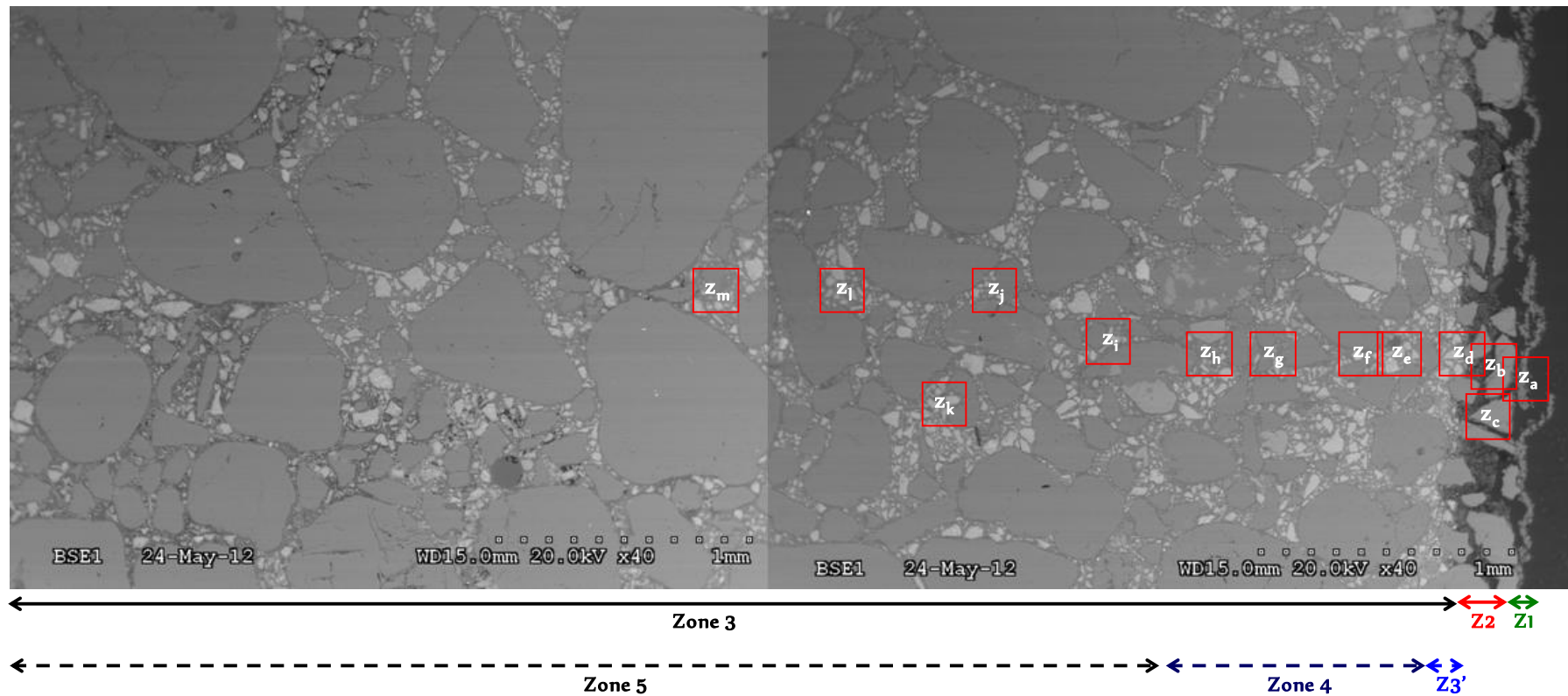
2.2.2.1 Le mortier CN4y (4 cycles de biodétérioration / 3 mois)

Les analyses MEB/EDS et les cartographies réalisées sur le mortier CN4y semblent indiquer la présence de 4 zones allant de la surface au cœur du mortier (Figure 154) :

- La zone 1 ou couche de revêtement, correspond à une couche compacte retrouvée à l'extérieur du mortier. Elle a une épaisseur qui varie entre 0,02 et 0,05 mm (Figure 154 - z_a). Elle est constituée de taranakite ($K_3Al_5[HPO_4]_6[PO_4]_2[H_2O]_{18}$) (Figures 155 A ; 156 B et G) ; d'où sa forte concentration en Al et P.

Ainsi, au cours nos essais, du fait de la forte concentration du milieu en phosphate, il se forme à la surface des mortiers CAC de la taranakite préférentiellement à la gibbsite [Scrivener *et al.*, 1999]. Or, la taranakite est une phase floconneuse et/ou non résistante à l'attaque acide. Donc, contrairement à la gibbsite, elle n'offre aucune protection au mortier. Par conséquent, dans nos essais de biodétérioration, l'attaque des BSO est certainement plus intense que celle intervenant dans les conditions *in situ*.

- La zone 2 ou zone endommagée, relativement poreuse, elle a une épaisseur qui varie entre 0,2 mm et 0,3 mm (Figure 154 - z_{b-c}). Elle est riche en Ca, Ti, Al et P (Figures 156 A, B, E et G). La taranakite n'a pas été identifiée dans la zone endommagée. Cette dernière contient plutôt de la variscite ($AlPO_4 \cdot 2H_2O$) (Figure 155 B). Par ailleurs, comme pour le mortier CA4y, une quantité importante de grains de titanate de calcium, phases quasiment impossibles à dissoudre à $3,0 < pH < 3,3$, a été identifiée dans la zone 2. Les rapports Ca/Al sont de l'ordre de 0,3 – 0,4 nettement inférieurs à ceux de la pâte de ciment d'un mortier sain de l'ordre de entre 0,7 – 0,8. La zone 2 contient également des phases siliceuses, certainement du gel de silice (Figure 155 B) et des phases alumineuses, AlH_3 (Figure 155 B). Ainsi, la zone 2 est constituée de grains de titanate, de variscite, de gel de silice et d'hydroxyde d'aluminium.
- La zone 3 ou zone dégradée, a une épaisseur d'environ 0,1 – 0,2 mm (Figure 154 - z_d). Elle est riche en Al, Ca et en P (Figures 156 A, B et G). Elle renferme du titanate de calcium, du gel de silice, de l'hydroxyde d'aluminium (Figure 155 B), de la variscite (Figure 156 G). Des quantités non négligeables de soufre (jusqu'à 3,4%) ont également été mesurées dans la pâte de ciment indiquant la présence de phases sulfatées telles que le gypse et l'ettringite (Figures 155 B ; 156 F).



Zone 1: couche de revêtement (0,02 – 0,05 mm) ; Zone 2: zone endommagée (0,2 – 0,3 mm)

Zone 3': zone dégradée (0,1 – 0,2 mm) ; Zone 4: zone faiblement altérée (1,0 – 1,1 mm) ; Zone 5: cœur du mortier

←→ Délimitation après observation au MEB <-----> Délimitation après observation au MEB et analyses EDS

Figure 154 : Observations au MEB du mortier CAC ON4y après 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*

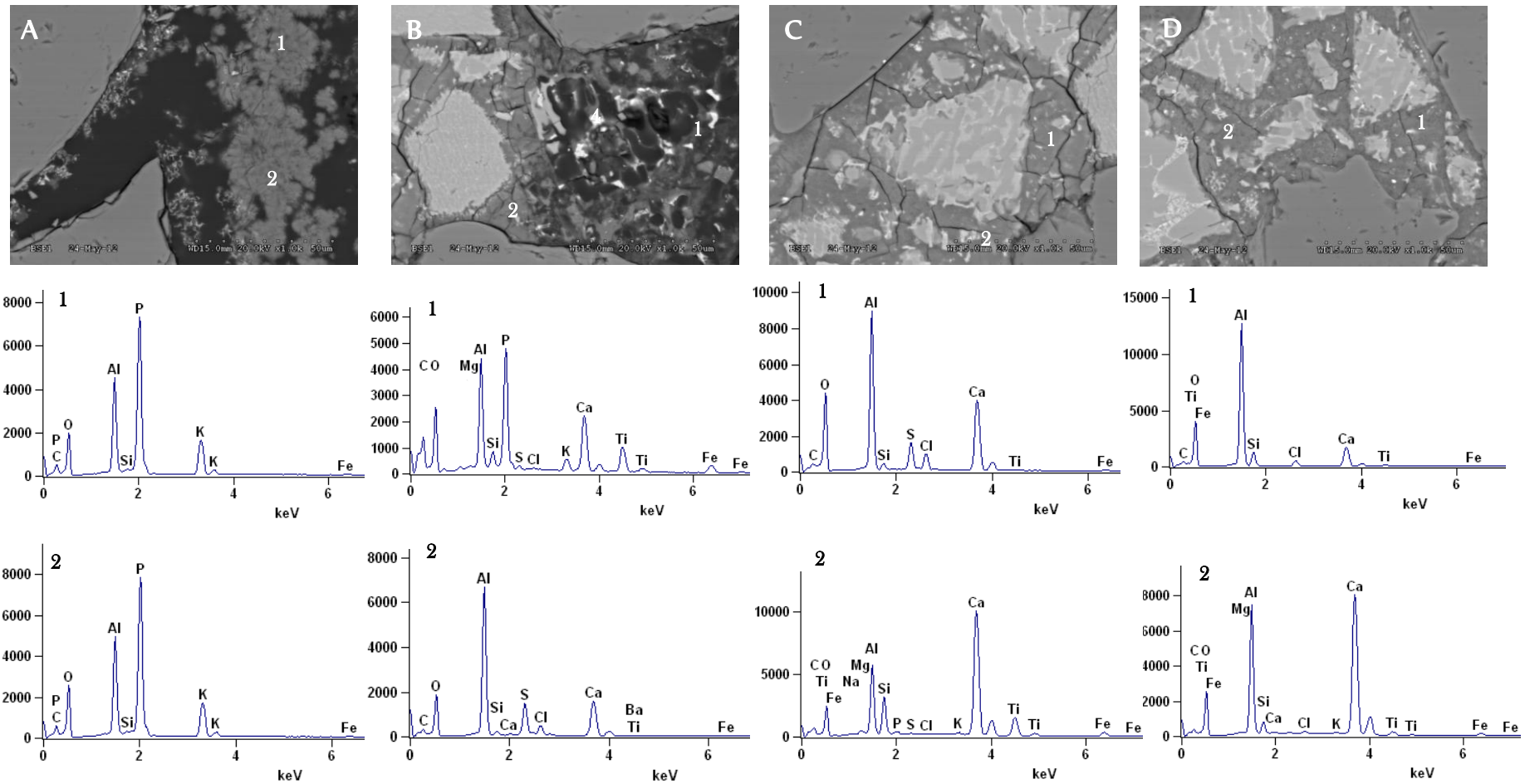


Figure 155 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CN4y après 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

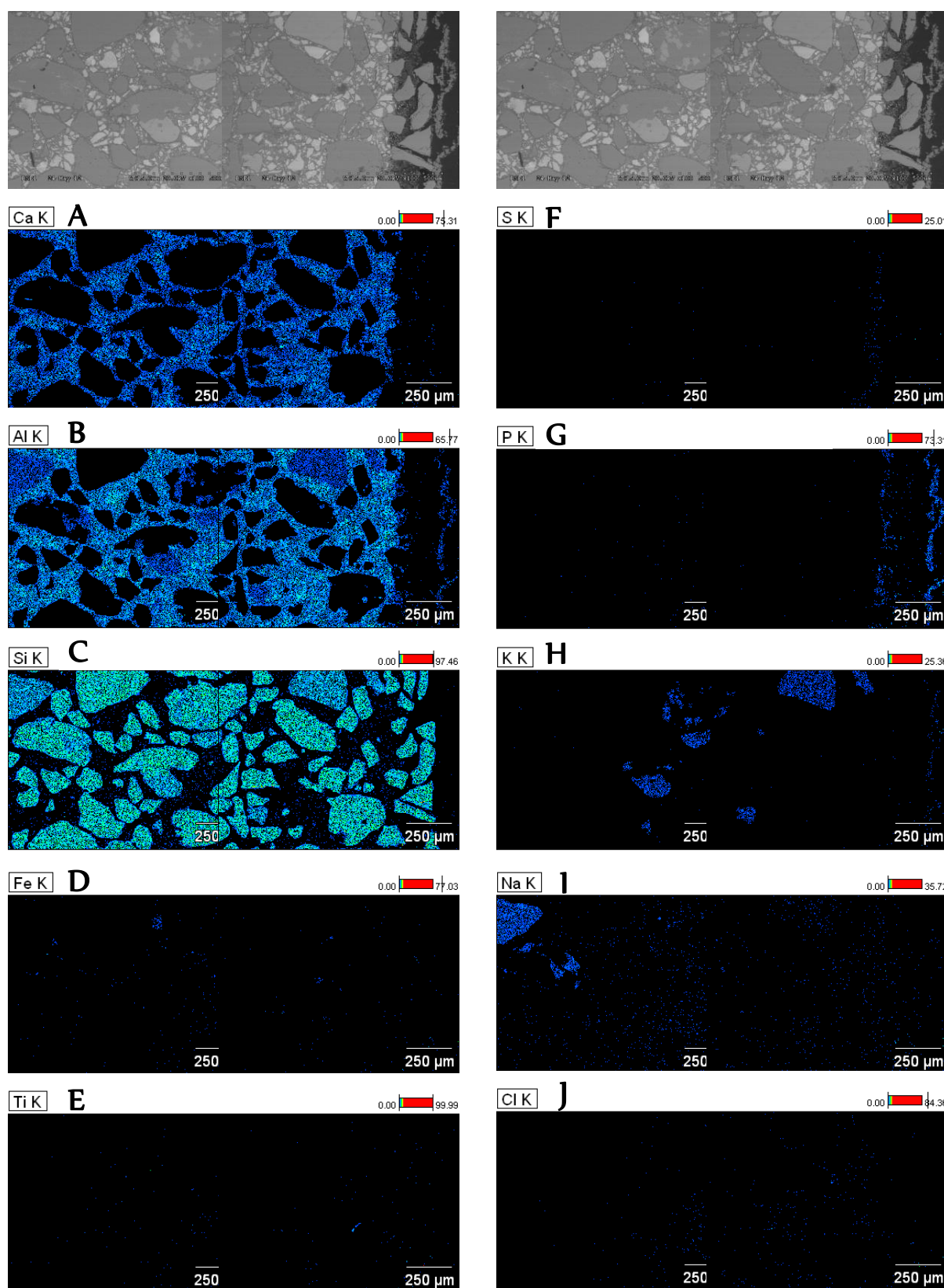


Figure 156 : Cartographies des éléments Ca, Si, Al, Fe, Ti, S, P, K, Na et Cl contenus dans la bordure du mortier CAC CN4y après 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

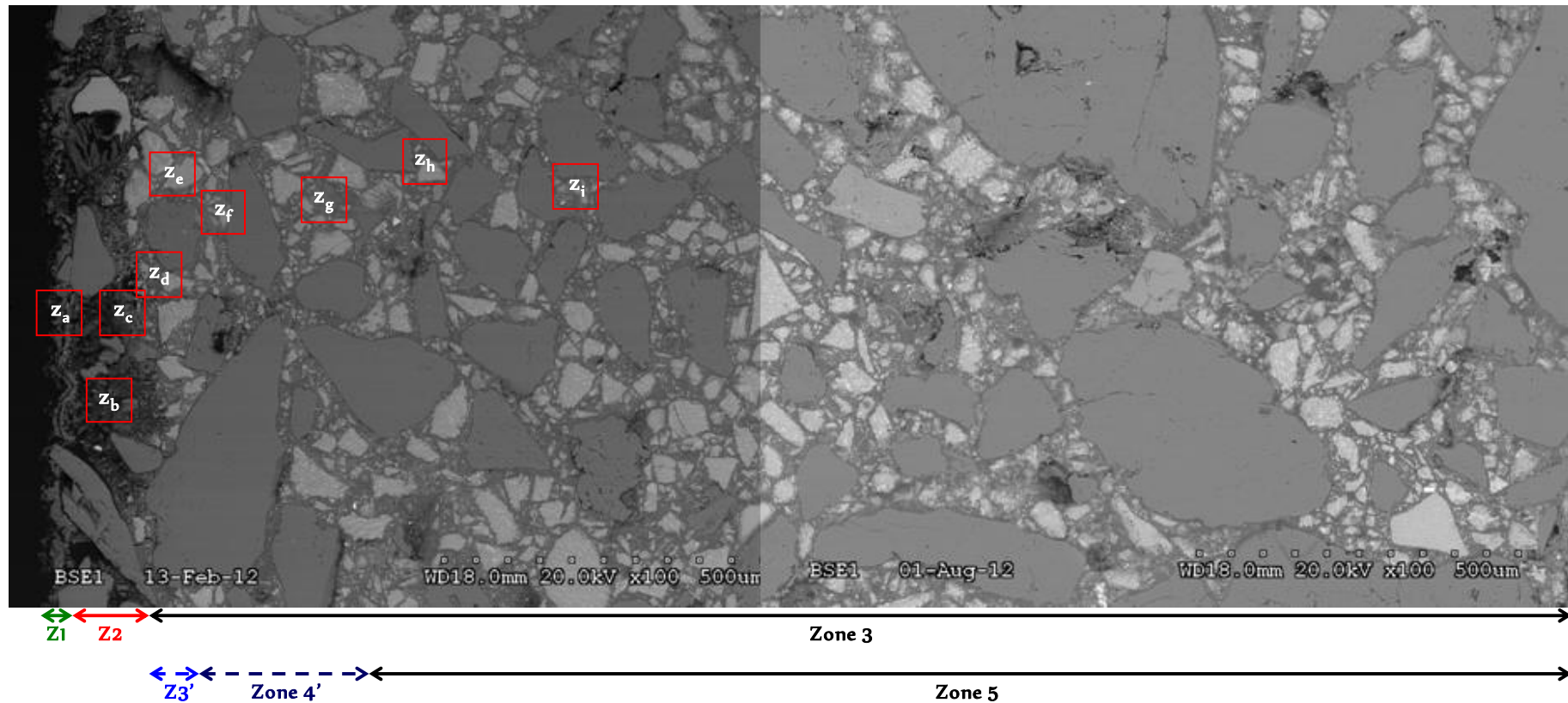
- La zone 4 ou zone faiblement altérée, a une épaisseur d'environ 1,0 – 1,2 mm (Figure 154 – z_{e-h}). Elle est riche en Al et Ca mais complètement dépourvue de P (Figures 156 A, B et G). Les rapports Ca/Al ($\sim 0,7$) sont du même ordre que ceux d'une pâte de ciment de mortier sain, 0,7 – 0,8. Ces rapports élevés laissent penser à une attaque venant juste de débiter, d'où la présence des hydrogénats/stratlingite dans cette zone (Figure 155 C). Elle renferme également du titanate de calcium, de l'hydroxyde d'aluminium. De faibles quantités de soufre (jusqu'à 1,6%) ont également été mesurées dans la pâte de ciment indiquant la présence de phases sulfatées telles que le monosulfoaluminate de calcium (Figures 155 C). Ponctuellement, des quantités de chlore plus importantes ont été mesurées dans la pâte de ciment (entre 0,7 et 5,2 %), laissant penser à l'existence de phases chlorées telles que les monochloroaluminates de calcium hydratés. Ainsi, la zone 3 est constituée de grains de titanate de calcium, d'hydrogénat/stratlingite, d'hydroxyde d'aluminium, de monosulfoaluminate de calcium et très certainement d'ettringite.
- La zone 5 ou cœur du mortier, non poreuse également riche en Ca et en Al et complètement dépourvue de P et de S (Figure 154 – z_{i-m}). Les analyses EDS ponctuelles indiquent des rapports Ca/Al du même ordre que la zone 4 ainsi que la pâte de ciment d'un mortier sain (entre 0,7 et 0,8). Ainsi, la zone saine est constituée de grains de titanate de calcium, d'hydroxyde d'aluminium et d'hydrogénat/stratlingite (Figure 155 D).

L'épaisseur altérée a été estimée à $1,4 \pm 0,1$ mm, 20% moins importante que celle du mortier CAC attaqué par *A. thiooxidans* (CA4y). L'épaisseur totale attaquée a été estimée à $1,5 \pm 0,3$ mm. Elle correspond à l'attaque de 22% du volume initial du mortier CN4y (63 x 29 mm) et à une vitesse d'attaque de $6,6 \pm 1,7$ mm/an. Ainsi, un volume de matériaux moins important semble être attaqué dans le mortier CN4y (volume attaqué = 22%) par rapport au CA4y (volume attaqué = 40%). Or, la V_D ou vitesse volumique d'attaque du mortier CN4y ($0,8 \pm 0,2$ mm.an⁻¹.cm⁻³) est quasiment équivalente à celle du mortier CA4y ($0,8 \pm 0,2$ mm.an⁻¹.cm⁻³) attaqué par la BSO acidophile, *A. thiooxidans*. Il semble donc que, comme le mortier OPC, la vitesse d'attaque ne nous permet pas de discriminer l'action des deux types de BSO.

2.2.2.2 Le mortier CN2 (2 cycles de biodétérioration / 1,5 mois)

Le mortier CN2 renferme les mêmes zones biodétériorées que le mortier CN4y avec toutefois des épaisseurs moins importantes (Figure 157) :

- La zone 1 ou couche de revêtement (0,02 – 0,03 mm) est constituée de taranakite ($K_3Al_5[HPO_4]_6[PO_4]_2[H_2O]_{18}$) (Figures 157 – z_a ; Figure 158 A).



Zone 1: couche de revêtement (0,02 – 0,03 mm) ; Zone 2: zone endommagée (0,1 – 0,2 mm)

Zone 3': zone dégradée 0,1 mm ; Zone 4': zone faiblement altérée (0,2 – 0,3 mm) ; Zone 5 : cœur du mortier

←——→ Délimitation après observation au MEB <-----> Délimitation après observation au MEB et analyses EDS

Figure 157 : Observations au MEB du mortier CAC ON2 après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

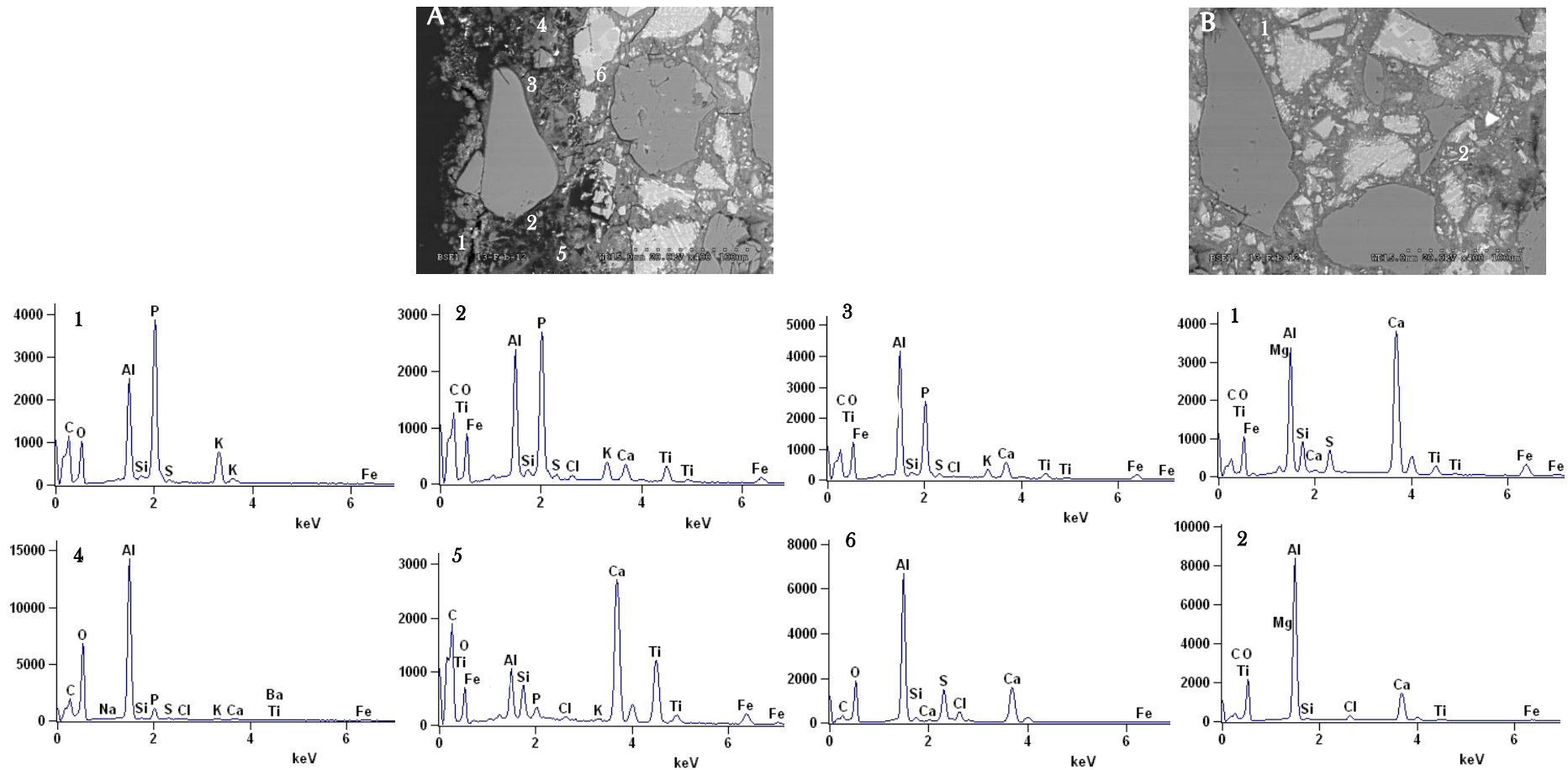


Figure 158 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CN2 après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

- La zone 2 ou zone endommagée a une épaisseur (0,1 - 0,2 mm) inférieure à celle du mortier CN4y (0,2 - 0,3 mm) (Figure 157 – z_{b-c}). Elle est composée de variscite (Figure 158 A), d'hydroxyde d'aluminium (Figure 158 A), de titanate de calcium (Figure 158 A) et de phases siliceuses (gel de silice) (Figure 158 A).
- La zone 3 ou zone dégradée, a une épaisseur d'environ 0,1 mm (Figure 157 – z_d). Elle renferme du titanate de calcium, du gel de silice, de l'hydroxyde d'aluminium (Figure 158 A), de la variscite (Figure 158 A), de gypse et l'ettringite (Figures 158 A).
- La zone 4 ou zone faiblement altérée, a une épaisseur (0,2 – 0,3 mm) inférieure à celle du mortier CN4y (1,0 – 1,2 mm) (Figures 157 – z_{e-g}). Elle se compose d'hydroxyde d'aluminium (Figure 158 B), d'hydrogénats/stratlingite (Figure 158 B) et de grains de titanate de calcium et de monosulfoaluminate de calcium et d'ettringite (Figure 158 B).
- La zone 5 ou cœur du mortier, comme dans le mortier CN4y, est également riche en Ca et en Al et complètement dépourvue de phosphore et de soufre (Figure 157 – z_{h-i}).

L'épaisseur altérée a été estimée à $0,5 \pm 0,1$ mm. L'épaisseur totale attaquée est de $0,6 \pm 0,2$ mm. Elle correspond à l'attaque de 9% du volume initial du mortier CN2 (63 x 29 mm) et à une vitesse d'attaque de $5,1 \pm 2,2$ mm/an. La V_D ou vitesse volumique d'attaque du mortier CN2 ($1,5 \pm 0,6$ mm.an⁻¹.cm⁻³) est environ 2 fois supérieure à celle du mortier CN4y. Ainsi, comme pour l'essai avec la BSO *A. thiooxidans*, la vitesse de l'attaque des mortiers CAC semble diminuer dans le temps. Elle est plus importante au premier stade de l'essai de biodétérioration, dû à l'augmentation de la surface réactionnelle provoquée par la progression de la porosité du mortier.

2.2.2.3 L'évolution dans le temps du mortier CAC

Une analyse comparative des sections transversales des mortiers CN4y et CN2 a révélé que le mortier CN4y, avec une épaisseur attaquée totale de $1,5 \pm 0,3$ mm, est à un stade de détérioration plus avancé que le mortier CN2, dont l'épaisseur attaquée totale est de $0,6 \pm 0,2$ mm (Figure 159). La dissolution des phases cimentaires induit l'augmentation des épaisseurs des zones détériorées du mortier, d'où l'apparition d'une zone attaquée de plus en plus profonde. La couche de revêtement par contre reste plus ou moins constante, car elle s'effrite et la taranakite la constituant passe de la surface du mortier au milieu réactionnel : si elle ne s'effritait pas cette couche devrait augmenter dans le temps.

Par ailleurs, contrairement aux mortiers OPC attaqués par la BSO *H. neapolitanus* (ON4y et ON2), et comme les mortiers CAC attaqués par la BSO *A. thiooxidans* (CA4y et CA2), les deux mortiers ont les mêmes zones détériorées, donc les mêmes profils de détérioration. Toutefois, dans l'essai présent, contrairement à l'essai de biodétérioration par la BSO acidophile *A. thiooxidans*, il n'est réalisé aucune translation des zones attaquées vers le cœur. Ces dernières augmentent juste d'épaisseurs,

notamment la zone faiblement altérée (Figure 160). Ceci démontre bien que contrairement à l'essai avec *A. thiooxidans*, l'attaque est moins sévère et donc le contrôle de la cinétique d'attaque par la diffusion est prépondérant dans la plupart des zones.

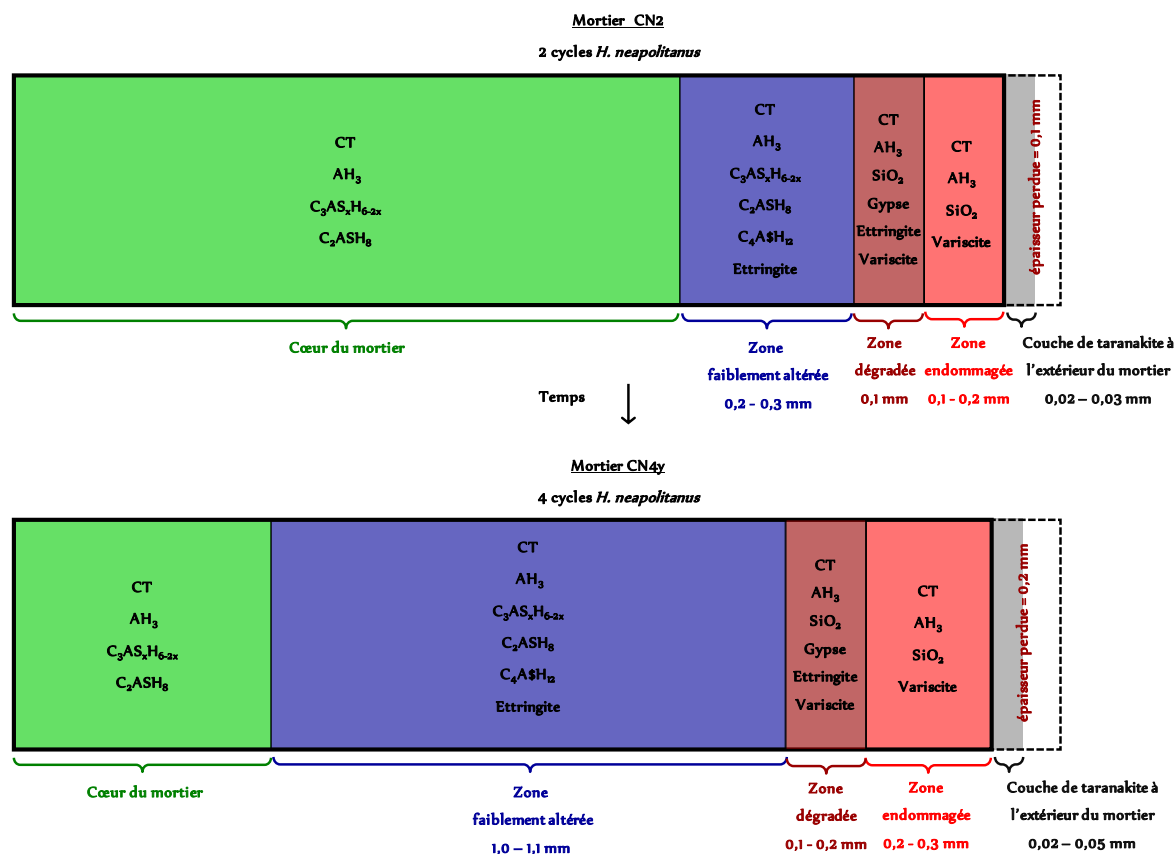


Figure 159 : Représentation schématique de la zonation des mortiers CN4y et CN2 après respectivement 4 cycles et 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

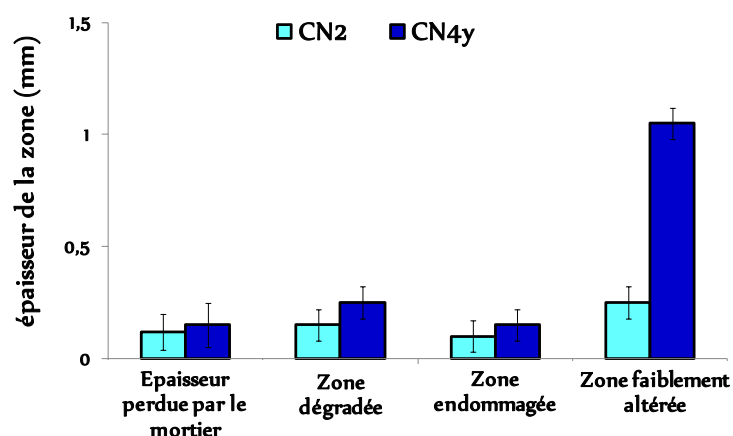


Figure 160 : Évolution dans le temps des épaisseurs des différentes zones composant le mortier CAC soumis à un essai de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

2.3. Conclusion

Comme le mortier attaqué par *A. thiooxidans*, la taranakite a été retrouvée à la surface du CN4y ainsi que dans les milieux réactionnels. Toutefois, la quantité de taranakite en solution au cours de l'essai de biodétérioration des mortiers CN4 est en moyenne 3 fois plus importante que celle retrouvée en solution au cours de la biodétérioration des mortiers CA4 (Tableaux 28 et 40). Cette différence est liée au pH du milieu réactionnel, qui dans le cas de l'essai avec *H. neapolitanus*, compris entre $3,0 < \text{pH} < 3,3$, ne solubilise quasiment pas la taranakite [Taylor and Gurney, 1961, annexe 2].

La précipitation de taranakite et de la variscite (zone endommagée) est en accord avec la diminution d'ions phosphate observée en solution au cours des cycles de biodétérioration (Figure 144, tableau 43). Comme supposé au cours de l'analyse des milieux réactionnels, les mortiers CAC attaqués par la BSO *H. neapolitanus* contiennent bien une quantité moins importante de phases phosphatées comparée aux mortiers CAC attaqués par *A. thiooxidans*.

Le gypse identifié dans le mortier au cours des analyses MEB/EDS est responsable de la diminution d'ions sulfate en solution observée au cours des cycles de biodétérioration (Figure 143, tableaux 41 et 42). Par ailleurs, la quantité de gypse précipitée dans le mortier CAC est bien inférieure à celle précipitée dans le mortier OPC. Ce résultat confirme donc la présence de soufre élémentaire en solution. Par conséquent, il semblerait qu'en présence des mortiers CAC, le soufre élémentaire soit un intermédiaire métabolique de la BSO *H. neapolitanus*.

Les analyses MEB/EDS révèlent que la zone 2 a une porosité importante ($0,3 < \text{Ca}/\text{al} < 0,4$). Il se pourrait que la cinétique de l'attaque dans cette zone soit uniquement gouvernée par des mécanismes de dissolution. Les zones 3 et 4, qui sont non poreuses ont certainement une cinétique d'attaque gouvernée par des mécanismes de diffusion tout comme la zone saine.

3. Synthèse des résultats de l'essai de biodétérioration par la BSO *H. neapolitanus*

Les analyses des milieux réactionnels et des mortiers ont révélé que, même avec *H. neapolitanus* comme BSO, le protocole de l'essai de biodétérioration est robuste et répétable. En effet, une bonne reproductibilité des croissances bactériennes a également été obtenue. Le choix de *H. neapolitanus*, comme BSO neutrophile, a donc été judicieux.

Les analyses chimiques ont révélé qu'hormis pour le cycle 1, l'évolution du pH au contact des mortiers OPC et CAC a globalement la même tendance (Figure 161), rendant possible la comparaison des résultats obtenus. Toutefois, après les 7 premiers jours, quand une chute rapide du pH est observée, le pH remonte légèrement et souvent de façon plus marquée en présence du mortier OPC. Ceci met bien en évidence la capacité de neutralisation plus élevée du mortier OPC pour les pH

supérieurs à 3 – 4 qui est d'autant plus visible à la fin du cycle quand la production d'acide sulfurique par les bactéries est moins conséquente.

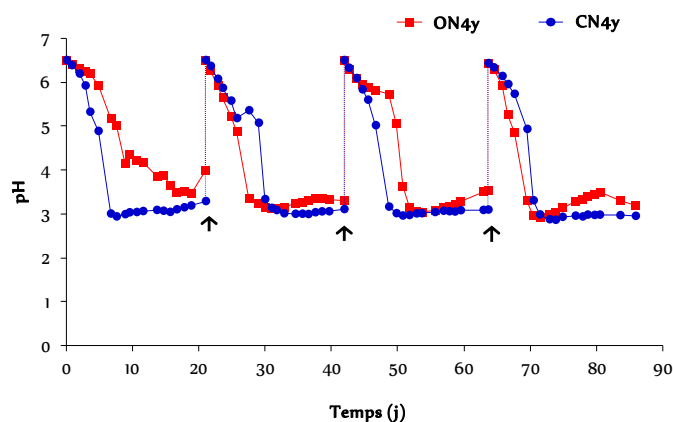


Figure 161 : Évolution du pH des milieux réactionnels en contact des ON4y et CN4y au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* (↑ renouvellement du milieu réactionnel).

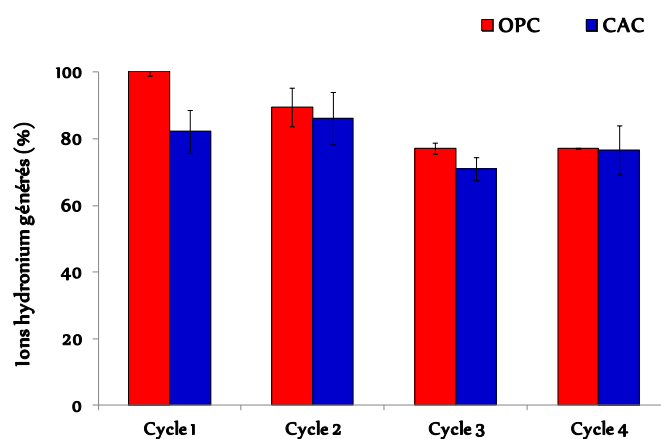


Figure 162 : Production d'ions hydronium dans les milieux réactionnels en contact de mortiers ON4y et CN4y au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

Les analyses chromatographiques des ions sulfate ont montré que la production d'acide sulfurique au contact des mortiers OPC est 8 à 19 % supérieure à celles produites au contact des mortiers CAC bien que le nombre de bactéries au contact des mortiers soit identique (Figure 162). Ce résultat est à mettre en relation avec la capacité de neutralisation plus importante du mortier OPC. Par ailleurs, comme pour les BSO *A. thiooxidans*, le mortier CAC semble n'avoir d'impact direct ni sur le développement bactérien, ni sur l'activité bactérienne de *H. neapolitanus*. Ainsi, comme pour l'essai avec *A. thiooxidans*, la solubilité de la taranakite fixe les concentrations en ions aluminates de la solution. Ces dernières restent très faibles et aucun effet n'a été observé sur la croissance de la BSO *H. neapolitanus* en dépit de l'observation d'agrégats de bactéries à la fin des cycles pour le mortier CAC.

L'analyse des épaisseurs attaquées indique que contrairement à l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*, l'attaque du mortier CAC par *H. neapolitanus* est une attaque légère et superficielle ($1,5 \pm 0,3$ mm pour CN4y) au cours de laquelle peu de phases constituant la pâte de ciment sont dissoutes. L'attaque des mortiers OPC par contre, bien qu'inférieure à celle de l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*, est également une attaque modérée et profonde ($3,3 \pm 0,2$ mm pour ON4y) (Tableau 47).

Par ailleurs, comme au cours de l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*, les vitesses volumiques d'attaque n'ont pas permis de discriminer la résistance des deux mortiers face à l'attaque par *H. neapolitanus* (Tableau 47). En outre, ces vitesses n'ont également pas permis de discriminer les intensités d'attaque des deux types de BSO (*A. thiooxidans* et *H. neapolitanus*) pour une même nuance cimentaire.

	Analyse macroscopique		Analyse microscopique		Analyse macroscopique et microscopique		
	Épaisseur totale perdue (mm)	Vitesse de détérioration (mm/an)	Épaisseur altérée (mm)	Vitesse d'altération (mm/an)	Épaisseur totale attaquée (mm)	Vitesse d'attaque (mm/an)	Vitesse d'attaque normalisée au volume attaqué ($\text{mm}\cdot\text{an}^{-1}\cdot\text{cm}^{-3}$)
ON4y	0,2	$0,8 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,2$	$13,5 \pm 0,8$	$3,3 \pm 0,2$	$14,3 \pm 1,1$	$0,8 \pm 0,1$
CN4y	$0,2 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,6$	$1,4 \pm 0,1$	$6,0 \pm 0,6$	$1,5 \pm 0,3$	$6,6 \pm 1,7$	$0,8 \pm 0,2$

Tableau 47 : Évaluations macroscopiques et microscopiques des épaisseurs et des vitesses de détérioration, d'altération et d'attaque des mortiers ON4y et CN4y après 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

Des bilans de matière ont donc été établis sur les milieux réactionnels et sur les échantillons de mortier, afin d'évaluer quantitativement l'intensité de l'attaque chimique que les mortiers ont subie au cours de l'essai de biodétérioration.

Le bilan de matière a permis de déterminer que, comme au cours de l'essai avec *A. thiooxidans*, une plus grande quantité d'ions phosphate a été précipitée dans les réacteurs contenant les mortiers CAC, à la surface desquels une couche de taranakite ($\text{K}_3\text{Al}_5[\text{HPO}_4]_6[\text{PO}_4]_2[\text{H}_2\text{O}]_{18}$) a été identifiée. Contrairement aux ions phosphate, une quantité importante d'ions sulfate a précipité dans les réacteurs contenant les mortiers OPC dans lesquels la présence de fortes quantités de gypse et d'ettringite a été constatée. Contrairement à ce qu'ont affirmé Parker et Prisk (1953), le soufre élémentaire a été accumulé dans les réacteurs contenant la BSO *H. neapolitanus* en présence du mortier CAC. En effet, une plus faible quantité de gypse et d'ettringite a été identifiée dans les mortiers CAC.

Au cours de l'essai de biodétérioration par la BSO *H. neapolitanus*, la cinétique de biodétérioration des mortiers OPC et CAC est contrôlée par des mécanismes de diffusion des éléments chimiques dans les zones peu poreuses et de dissolution des phases cimentaires dans les zones très poreuses. Ainsi, comme au cours de l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*, la vitesse de relargage des éléments varie en fonction de la composition minéralogique et de la porosité des zones constituant le mortier.

Après l'essai de biodétérioration, les mortiers ON4y et CN4y présentent respectivement 5 et 4 zones plus ou moins détériorées (Figure 163). De façon analogue à l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*, une couche de taranakite a été formée à la surface du mortier CAC. Par contre, le gel de silice n'a pas été retrouvé en grande quantité dans la zone endommagée des mortiers OPC, très certainement à cause d'une attaque moins avancée et du pH plus élevé des milieux réactionnels contenant *H. neapolitanus*.

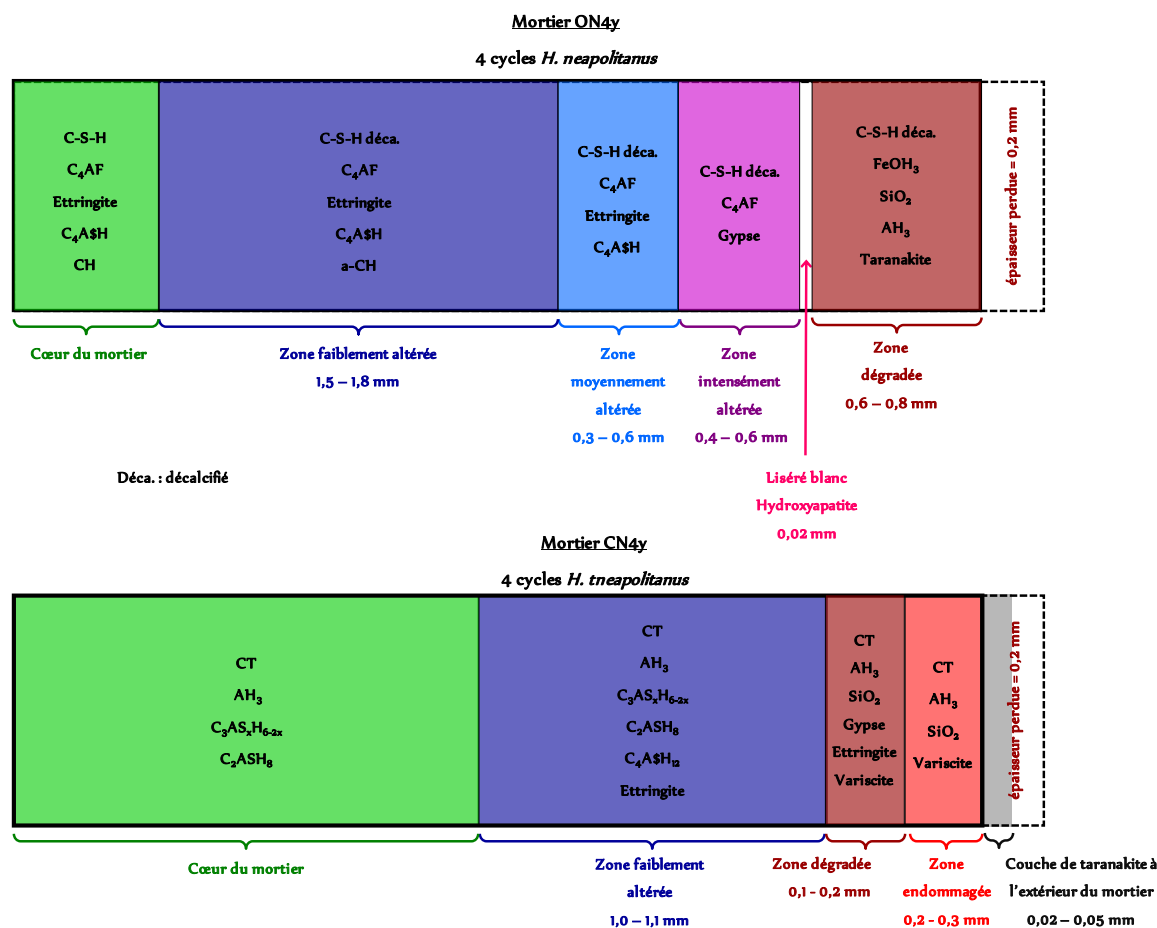


Figure 163 : Représentation schématique de la zonation des mortiers ON4y et CN4y après 4 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus*.

Contrairement aux paramètres physiques (la vitesse volumique d'attaque ou V_D), les indices d'attaque permettent de bien discriminer les deux types de BSO et les deux types de mortiers (Tableau 48). En

effet, pour le mortier OPC, l'attaque avec *A. thiooxidans* ($IA = 107$) est 28 % plus intense que celle réalisée avec *H. neapolitanus* ($IA = 77$). La différence est beaucoup plus marquée pour le mortier CAC car l'attaque avec *A. thiooxidans* ($IA = 75$) est 3 fois plus intense que celle réalisée avec *H. neapolitanus* ($IA = 28$) (Tableaux 35 et 48). Ainsi, comme indiqué dans la littérature scientifique, l'attaque par *A. thiooxidans* est plus intense que celle réalisée par *H. neapolitanus* [Roberts *et al.*, 2002 ; Islander *et al.*, 1999].

Par ailleurs, l'indice d'attaque rapporté au ratio du volume attaqué / volume initial du mortier OPC ($IA_v = 33,6$) est 5 fois plus important que celui du mortier CAC ($IA_v = 6,2$). Ainsi, dans nos conditions expérimentales, l' IA_v met bien en évidence la supériorité du mortier CAC sur le mortier OPC. La différence est encore plus marquée que lors de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans* (Tableau 35). Ainsi, l'essai de biodétérioration par la BSO *H. neapolitanus* est beaucoup plus discriminant que celui réalisé avec *A. thiooxidans*. Ces résultats poussent à nous interroger sur la représentativité des essais de biodétérioration réalisés en laboratoire. En effet, ces derniers utilisent généralement la BSO acidophile *A. thiooxidans*, or nos résultats semblent plutôt orienter l'essai vers l'utilisation d'une BSO neutrophile, en l'occurrence la BSO *H. neapolitanus*.

		Eléments relargués (mole)	H ⁺ générés (mole)	Eléments dans mortier (mole)	% d'éléments relargués	% d'éléments relargués normalisés à 100	% normalisé / mole de H ⁺	Indice d'attaque (IA)	IA rapporté au ratio volume attaqué / volume initial (IA_v)
OPC	Ca	5,44E-02	2,99E-01	2,20E-01	25	22	74	77	33,6
	Si	5,68E-03	2,99E-01	5,61E-02	10	1	3		
	Al	4,98E-04	2,99E-01	2,03E-02	2	0	0		
	Fe	3,44E-05	2,99E-01	1,09E-02	0	0	0		
CAC	Ca	1,23E-02	2,75E-01	1,42E-01	9	4	14	28	6,2
	Si	1,07E-03	2,75E-01	1,64E-02	7	0	1		
	Al	1,50E-02	2,75E-01	2,10E-01	7	4	14		
	Fe	4,18E-05	2,75E-01	4,71E-03	1	0	0		

Tableau 48 : Indices d'attaque de l'essai de biodétérioration des mortiers OPC et CAC.

Toutefois, dans les conditions *in situ*, c'est une succession bactérienne qui est responsable de la biodétérioration des matériaux cimentaires. Ainsi, pour se rapprocher des conditions naturelles, une succession bactérienne de BSO a également été réalisée dans cette étude. Cette dernière est présentée dans le chapitre suivant.

Par ailleurs, au cours des essais de biodétérioration, nous avons noté un effet mémoire des cycles précédents sur les relargages observés dans un cycle. Cet aspect peut être évalué avec l'indice d'attaque de chaque cycle. En effet, au cours de l'essai présent, l'indice d'attaque diminue globalement au cours des cycles de biodétérioration quel que soit le mortier considéré à l'exception du premier

cycle pour le mortier OPC (Figure 164). Ce résultat est l'inverse de celui obtenu au cours de l'essai de biodétérioration avec la BSO *A. thiooxidans*, au cours duquel l'IA augmentait à cause de relargages en solution de plus en plus importants. La diminution de l'IA dans cet essai est due à l'apparition de phases moins solubles dans les zones attaquées des mortiers OPC et CAC (essentiellement les phases alumineuses et ferriques).

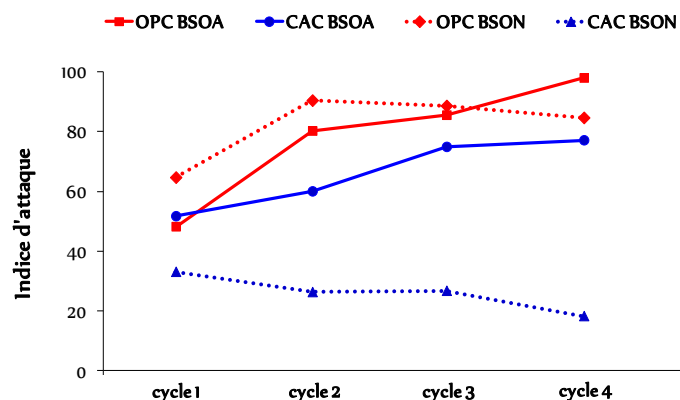


Figure 164 : Évolution des indices d'attaque des mortiers OPC et CAC au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans*.

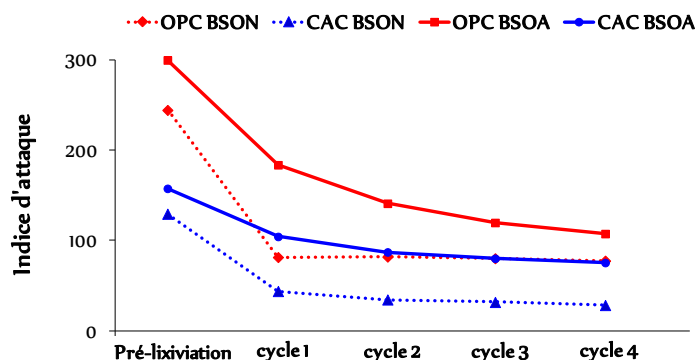
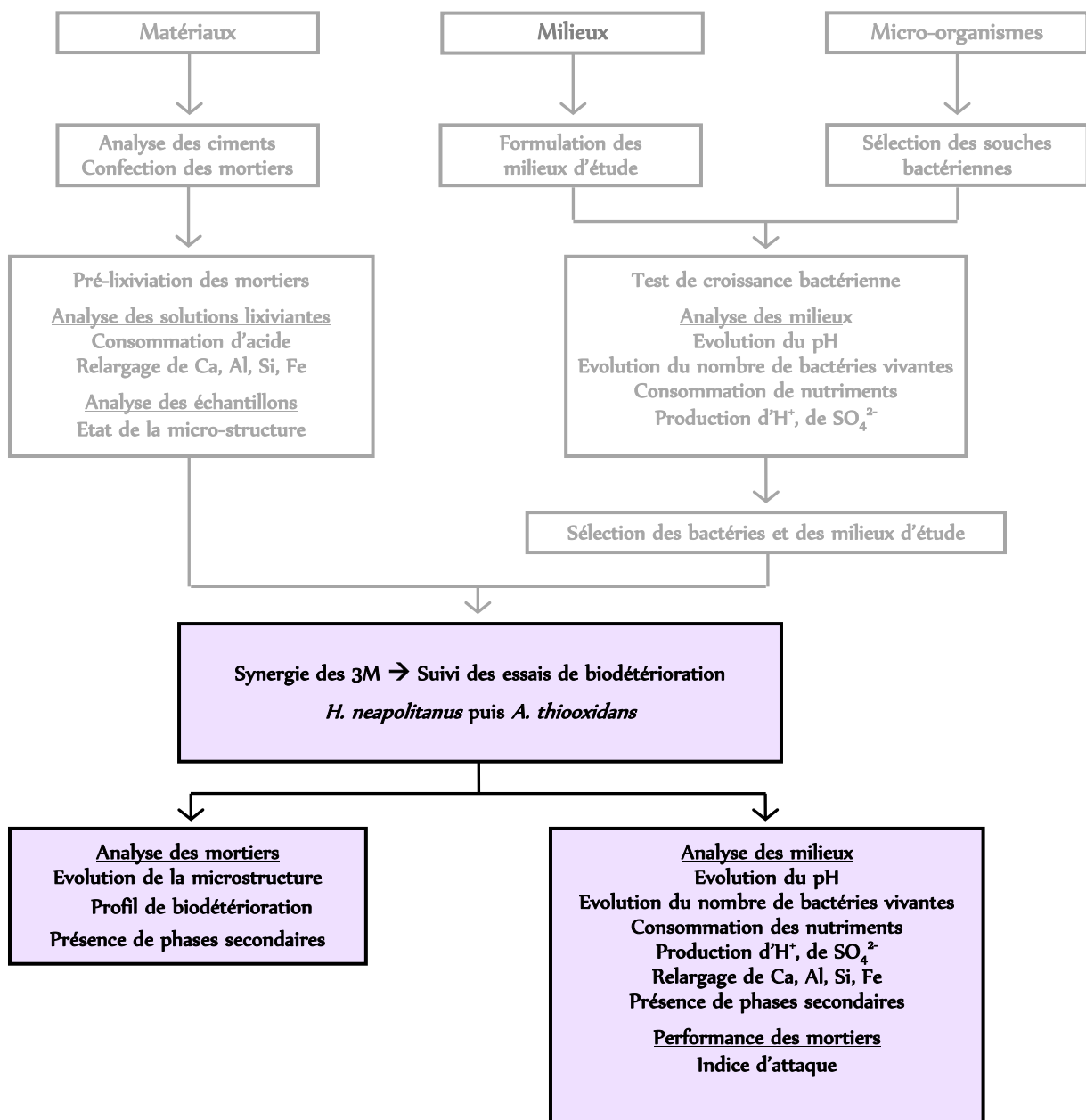


Figure 165 : Évolution des Indices d'attaque globaux des mortiers OPC et CAC au cours de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

Par ailleurs, contrairement à l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans*, la performance des mortiers pendant les cycles de biodétérioration par la BSO *H. neapolitanus* ne semble pas influencée par la pré-lixiviation (Figure 165). La décision de réaliser une pré-lixiviation moins intense des mortiers était donc judicieuse, car elle a permis de gommer l'effet mémoire de la pré-lixiviation sur les cycles de biodétérioration. La procédure de pré-lixiviation utilisée au cours de l'essai avec la BSO *H. neapolitanus* a donc été maintenue pour l'essai mettant en jeu la succession bactérienne.

CHAPITRE 6 : LA SUCCESSION

H. neapolitanus puis *A. thiooxidans*



La grande majorité des essais de biodétérioration est réalisée avec la BSO *A. thiooxidans*, dernier chaînon du processus de biodétérioration, sans tenir compte de la succession bactérienne intervenant *in situ*. Ces essais excluent donc la phase neutrophile pourtant initiatrice du processus de biodétérioration dans les égouts. Or, les essais individuels de biodétérioration avec *H. neapolitanus* ou *A. thiooxidans* montrent que les mortiers se comportent différemment en présence de l'une ou l'autre des bactéries. En effet, certaines phases de la pâte de ciment des mortiers ont une dissolution influencée par le pH du milieu réactionnel qui est sous la dépendance de la nature acidophile ou neutrophile de la BSO à son contact comme ceci a été démontré lors des chapitres 4 et 5. L'indice d'attaque met bien en évidence ces différences pour les deux mortiers testés et il semble qu'un essai de biodétérioration avec la BSO *H. neapolitanus* serait plus apte à mettre en lumière les différences de performance des mortiers. Toutefois, comme il existe un effet mémoire des cycles antérieurs sur le relargage des éléments chimiques d'un cycle donné, on peut s'interroger sur l'impact des cycles de biodétérioration réalisés avec *H. neapolitanus* sur ceux menés avec *A. thiooxidans*. La réponse à cette question conduit à réaliser un essai de biodétérioration par une succession de BSO neutrophiles (*H. neapolitanus*) puis acidophiles (*A. thiooxidans*). Au cours de ce nouvel essai, les observations et les analyses ont été axées sur les différences entre les mortiers ayant été attaqués par *A. thiooxidans* seul et ceux attaqués par une succession de *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*. Cette analyse comparative permettra par la suite de juger de la pertinence de réaliser une succession bactérienne plutôt qu'une attaque par la BSO *H. neapolitanus* seul.

1. Analyse de l'essai de biodétérioration du mortier OPC

1.1. L'évolution du milieu réactionnel

1.1.1 L'évolution du pH

Comme pour les essais précédents (Chapitres 4 et 5), une bonne répétabilité est également observée (Figure 165). Il est constaté que la stratégie de renouvellement et le pH pour effectuer la transition entre BSON et BSOA conduisent aux résultats attendus avec une diminution continue du pH final observée à chaque fin de cycle. La succession bactérienne se déroule, comme au cours des essais individuels de biodétérioration, avec cependant une légère différence pour la phase *A. thiooxidans* qui commence après deux cycles. En effet, au cours de l'essai mettant en jeu la succession bactérienne, les cycles 1 et 2 sont semblables à ceux de l'essai de biodétérioration par *H. neapolitanus* (Figures 111, 112, 166 et 167). Par contre, les cycles 3 et 4 de la succession sont comparables aux cycles 2 et 3 de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans* (Figures 53, 54, 166 et 167). Ceci est certainement à relier avec l'effet mémoire de la pré-lixiviation très intense (pH=1) effectué lors de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

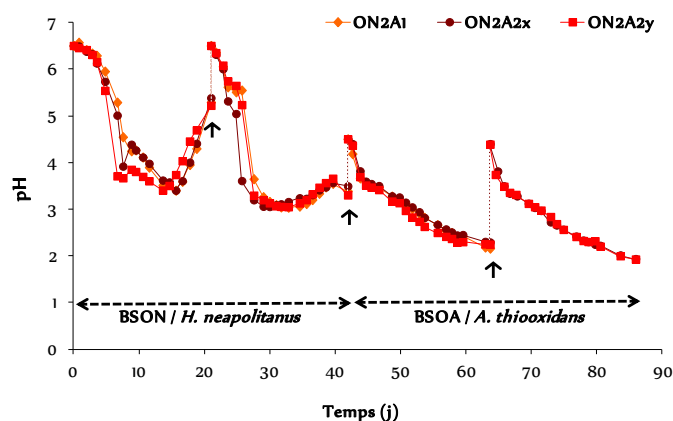


Figure 166 : Évolution du pH des milieux réactionnels au contact de mortiers OPC (ON2A1, ON2A2x, ON2A2y) au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans* (↑ renouvellement du milieu réactionnel).

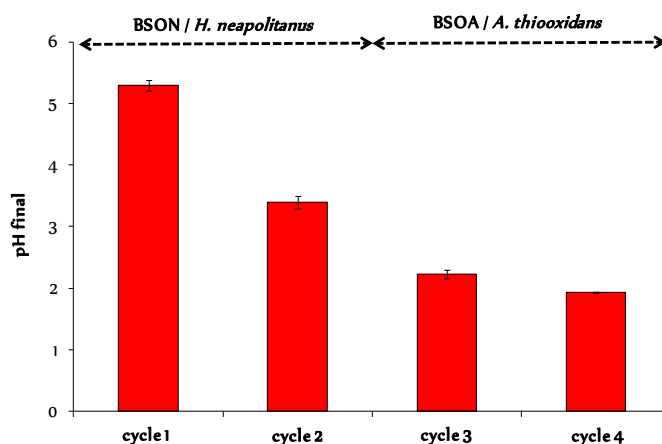


Figure 167 : pH moyens finaux des milieux réactionnels au contact de mortiers OPC au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

1.1.2 Évolutions des concentrations des constituants du milieu de croissance et estimation de la quantité d'acide sulfurique biogénérée

Aucun précipité de soufre n'a été observé dans le milieu réactionnel à la fin du cycle 3 contrairement au cycle 1 de l'essai de biodétérioration avec *A. thiooxidans* (Figures 55 et 168). Cette différence est certainement liée au moindre relargage d'ions hydroxyde dans les milieux réactionnels au cycle 3 de la succession. En effet, il a été constaté dans le chapitre 4 que le maintien d'un pH plus basique à travers le relargage d'une plus forte quantité d'ions hydroxyde, a un effet retardataire sur la croissance de la BSO *A. thiooxidans*. Ceci est opposé à l'effet observé sur la BSO *H. neapolitanus* qui a une plus forte activité quand le pH ne baisse pas trop vite. Ainsi, la quantité d'ions sulfate en solution, comme au cours des essais de biodétérioration individuels (Chapitres 4 et 5), diminue au cours de la phase neutrophile tandis qu'elle augmente au cours de la phase acidophile (Figure 169).

Parallèlement, la production d'acide sulfurique diminue pendant la phase neutrophile alors qu'elle est maximale pendant la phase acidophile (Figure 170, tableau 49).

Au cours de chacune des phases bactériennes, la quantité d'ions hydronium neutralisée par le mortier diminue dans le temps (Figure 170 A, tableau 49). Ainsi, comme supposé, le mortier relargue de moins en moins d'ions hydroxyde. Par ailleurs, les ions sulfate sont de moins en moins précipités dans le mortier (Figure 170 B, tableau 49) très certainement à cause de la diminution de la dissolution des phases cimentaires.

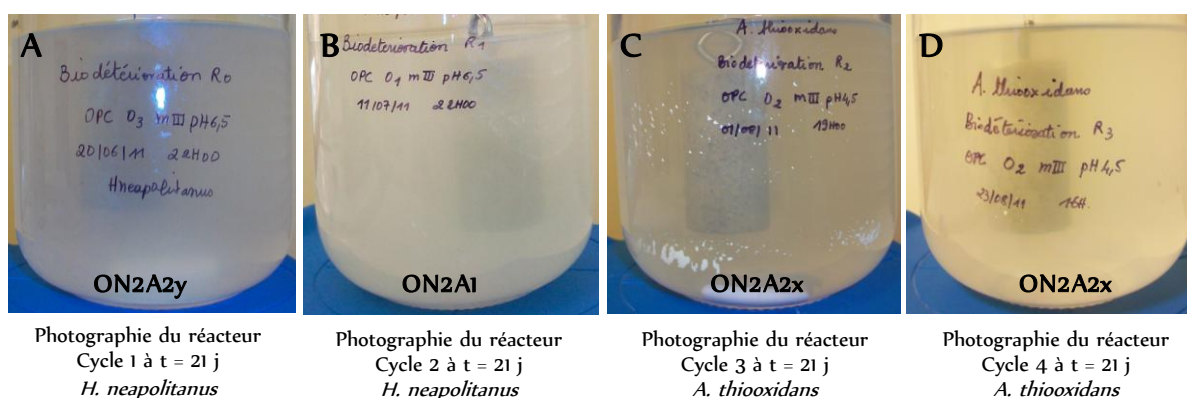


Figure 168 : État du milieu réactionnel au cours de la biodétérioration de mortiers OPC par la succession bactérienne.

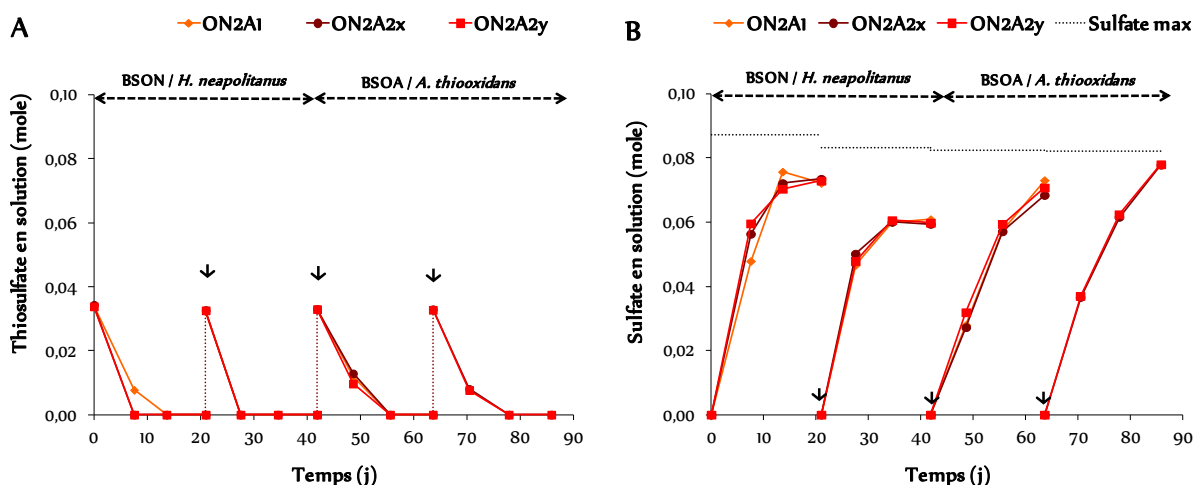


Figure 169 : Évolution des ions thiosulfate (A) et sulfate (B) en solution dans les milieux réactionnels au contact des mortiers OPC (ON2A1, ON2A2x, ON2A2y) au cours des cycles de biodétérioration par la succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans* (↓ renouvellement du milieu réactionnel).

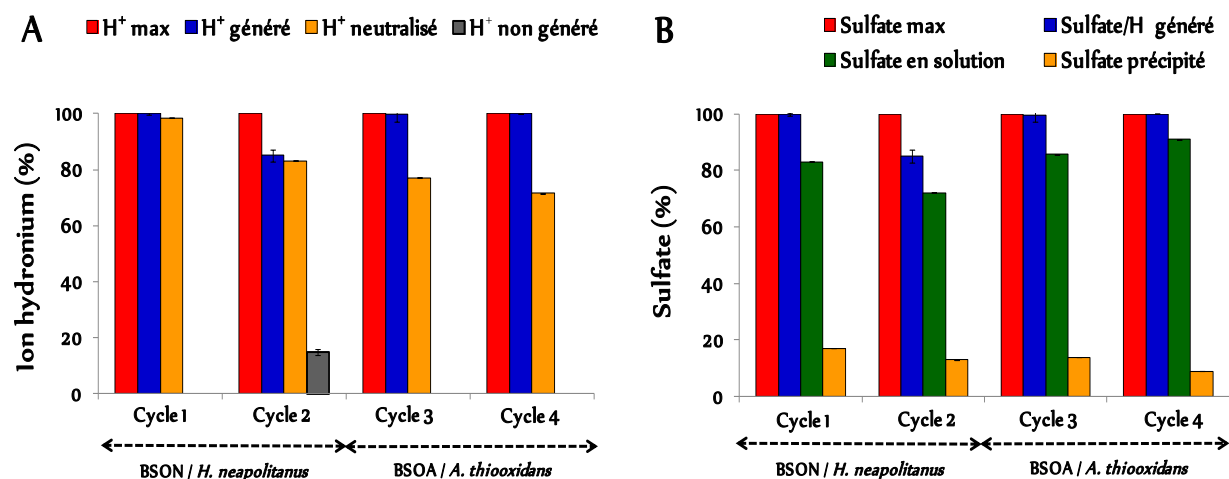


Figure 170 : A – Quantités d'ions hydronium générés par les BSO et neutralisés par le milieu et le mortier au cours de l'essai de biodétérioration. B - Quantité d'ions sulfate générés par les BSO, présents en solution et précipités dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Sulfate/H ⁺ attendu (mole)	8,73E-02 ± 6,82E-04	8,32E-02 ± 4,24E-04	8,25E-02 ± 8,84E-05	8,21E-02 ± 3,02E-04
Thiosulfate non-consommé (mole)	0	0	0	0
Tétrathionate accumulé (mole)	0	3,10E-03 ± 4,63E-04	0	0
Soufre élémentaire accumulé (mole)	0	0	0	0
Thiosulfate correspondant (%)	0	7,45 ± 1,11	0	0
Sulfate/H ⁺ généré (mole)	8,78E-02 ± 3,23E-04	7,08E-02 ± 1,45E-03	8,22E-02 ± 2,01E-03	8,57E-02 ± 3,47E-04
Sulfate/H ⁺ généré (%)	100,00	85,11 ± 2,16	99,64 ± 2,32	100,00
Sulfate en solution (mole)	7,29E-02 ± 6,52E-04	6,00E-02 ± 7,63E-04	7,07E-02 ± 2,32E-03	7,79E-02 ± 1,01E-04
Sulfate en solution (%)	82,99 ± 0,94	84,78 ± 0,90	86,06 ± 0,93	90,99 ± 0,49
Sulfate précipité dans mortier (mole)	1,49E-02 ± 8,65E-04	1,08E-02 ± 8,27E-04	1,15E-02 ± 6,22E-04	7,72E-03 ± 4,48E-04
Sulfate précipité dans mortier (%)	17,01 ± 0,94	15,22 ± 0,90	13,94 ± 0,93	9,01 ± 0,49
H ⁺ calculé à partir du pH (mole)	6,79E-05 ± 5,12E-05	5,01E-04 ± 1,17E-04	5,05E-04 ± 2,85E-04	7,39E-04 ± 6,95E-05
ΔH^+ [H ⁺ généré - H ⁺ calculé - H ⁺ neutralisé par le milieu] ou H ⁺ neutralisé par le mortier (mole)	8,65E-02 ± 3,21E-04	6,91E-02 ± 1,40E-03	6,37E-02 ± 1,26E-03	6,13E-02 ± 5,38E-04
H ⁺ neutralisé par le mortier (%)	98,55 ± 0,01	97,64 ± 0,11	77,48 ± 0,67	71,55 ± 0,34

Tableau 49 : Quantités de composés soufrés produites, accumulées et quantités d'ions hydronium neutralisées par le mortier OPC au cours des cycles de biodétérioration par la succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

La précipitation des ions phosphate est de moins en moins importante au cours des cycles de biodétérioration (Figure 171, Tableau 50). En outre, la quantité d'ions phosphate précipitée au cours de la phase neutrophile est équivalente à celle précipitée au cours des cycles 1 et 2 de l'essai de biodétérioration avec la BSO *H. neapolitanus*. De même, pour la période acidophile, la quantité de

phosphates précipitée est équivalente à celle précipitée au cours aux cycles 3 et 4 de l'essai de biodétérioration avec la BSO *A. thiooxidans* (Figures 59, 116 et 171, tableaux 25, 37 et 50).

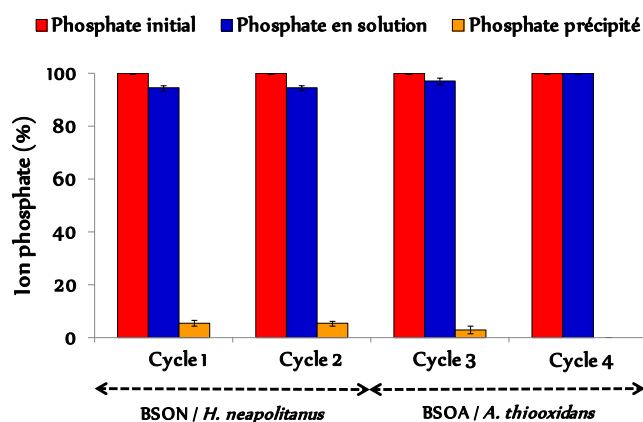


Figure 171 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Phosphate initiale (mole)	4,78E-02 ± 3,73E-04	4,55E-02 ± 2,32E-04	4,51E-02 ± 4,84E-05	4,49E-02 ± 1,65E-04
Phosphate en solution (mole)	4,51E-02 ± 4,94E-04	4,31E-02 ± 3,29E-04	4,38E-02 ± 7,02E-04	4,50E-02 ± 1,56E-05
Phosphate en solution %	94,48 ± 1,19	94,61 ± 1,00	97,12 ± 1,46	100
Phosphate précipité (mole)	2,64E-03 ± 5,81E-04	2,45E-03 ± 4,65E-04	1,30E-03 ± 6,56E-04	0
Phosphate précipité %	5,52 ± 1,19	5,39 ± 1,00	2,88 ± 1,46	0

Tableau 50 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

1.1.3 Le dénombrement bactérien

Le dénombrement des populations bactériennes montre également une répétabilité des essais (Figure 172). Toutefois, aucun dénombrement bactérien n'a pu être réalisé à 21 jours au cours de la phase acidophile du à l'agrégation des bactéries. Ainsi, contrairement à l'essai de biodétérioration avec *A. thiooxidans* dans laquelle l'agrégation des bactéries n'a été observée qu'au cycle 4, au cours de la succession bactérienne, elle est observée dès le passage à la phase acidophile (Cycle 3).

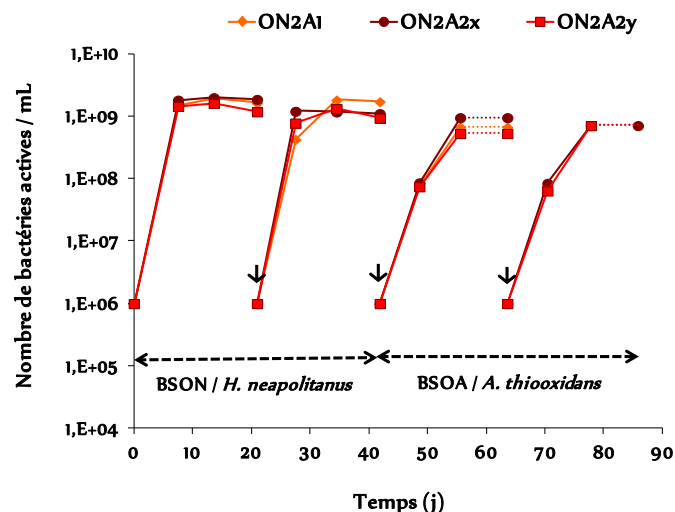


Figure 172 : Évolution du nombre de bactéries actives dans les milieux réactionnels au contact des mortiers OPC (ON2A1, ON2A2x, ON2A2y) au cours des cycles de biodétérioration par la succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans* (↓ renouvellement du milieu réactionnel).

1.1.4 L'évolution des éléments chimiques relargués en solution par le mortier

Comme attendu, le relargage de Ca est quasiment constant au cours des deux phases, car la dissolution des phases calcaïques dans nos conditions expérimentales est principalement fonction de la quantité d'acide générée dans le milieu (Figure 173) (Chapitre 5). Or, hormis le cycle 2, cette quantité d'acide est quasiment semblable au cours des deux phases (Figure 170 A). Le Si est plus relargué durant la phase neutrophile tandis que l'Al et le Fe le sont pendant la phase acidophile, car les solubilités des phases contenant ces éléments sont fonction du pH des milieux réactionnels (Chapitre 5) (Figure 173).

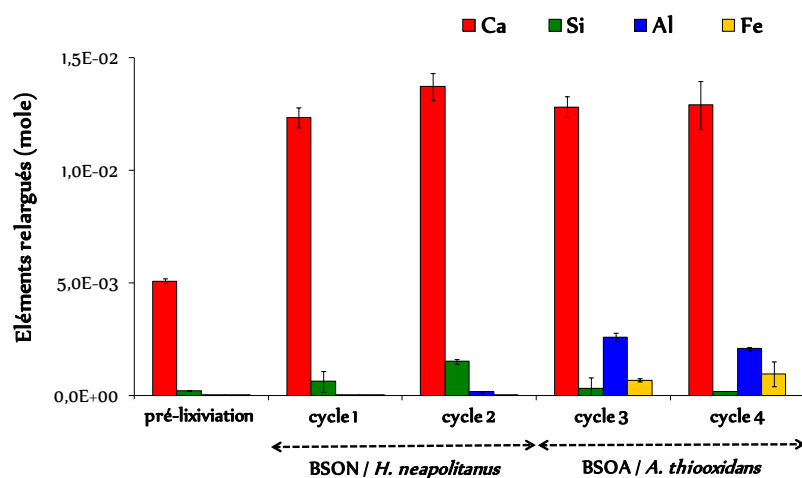


Figure 173 : Quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC au cours de la pré-lixiviation et des cycles de biodétérioration par la succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

Ainsi, au cours de l'essai de biodétérioration, le passage de la phase neutrophile ($3,4 < \text{pH} < 5,3$) à la phase acidophile ($1,9 < \text{pH} < 2,2$) n'a aucun impact sur la vitesse de relargage de Ca qui demeure relativement inchangée, car la dissolution des phases calciques est fonction de la quantité d'acide apportée dans le milieu (Figure 174).

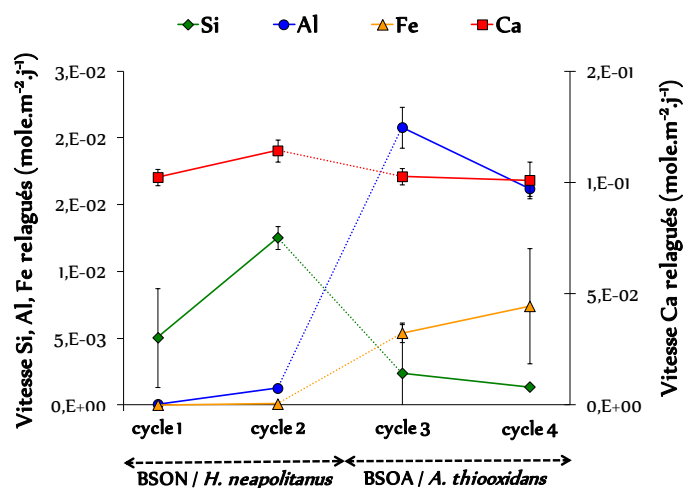


Figure 174 : Vitesses moyennes de relargage en solution des éléments Si, Al, Fe et Ca par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par la succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

La dissolution des silicates de calcium est fonction de la phase neutrophile ou acidophile de la biodétérioration :

Phase *H. neapolitanus* : $\text{pH} > 3,4 \rightarrow$ Silice sous forme ionique

Pas de formation de gel de silice = Relargage dans le milieu réactionnel

$\downarrow \text{pH} \rightarrow \uparrow$ dissolution des CSH $\rightarrow \uparrow$ relargage de silicium dans milieu réactionnel

Phase *A. thiooxidans* : $1,9 < \text{pH} < 2,2 \rightarrow$ Silice neutre

Formation de gel de silice = Précipitation à la surface du mortier

$\downarrow \text{pH} \rightarrow \uparrow$ dissolution des CSH $\rightarrow \uparrow$ gel de silice

L'augmentation de la vitesse de relargage de l'aluminium et du fer après le passage de la phase neutrophile à la phase acidophile peut s'expliquer par la dissolution des composés formés au cours de l'attaque du mortier OPC par *H. neapolitanus*. En effet, dans nos milieux réactionnels, le produit final de la dissolution acide des phases ferriques et alumineuses sont l'hydroxyde de fer $[\text{Fe}(\text{OH})_3]$ et l'hydroxyde d'aluminium $[\text{Al}(\text{OH})_3]$ mais également la taranakite $([\text{K},\text{Na}]_3[\text{Al},\text{Fe}]_5[\text{HPO}_4]_6[\text{PO}_4]_2[\text{H}_2\text{O}]_{18})$ dû à la présence des ions phosphate. Ainsi, au cours de la phase neutrophile (*H. neapolitanus*), ces hydroxydes et la taranakite précipitent dans les zones superficielles du mortier. Cependant, dans nos essais de biodétérioration, l'hydroxyde de fer est dissous à pH inférieur à 2, la taranakite pour des pH

inférieurs à 3 tandis que l'hydroxyde d'aluminium est dissous pour des pH inférieurs à 3,3 (Chapitre 5, annexe 2). Or, au cours de l'essai de biodétérioration, le pH du milieu est supérieur à 3,4 au cours de la phase *H. neapolitanus*, donc supérieur au pH à partir duquel la solubilité de ces composés est significative. Ces derniers demeurent par conséquent sous forme de précipité. Par contre, au cours de la phase *A. thiooxidans*, le pH du milieu est compris entre 1,9 et 2,2 ; en dessous ou proche du pH à partir duquel la solubilité est suffisamment élevée pour conduire à des modifications de concentration au niveau des éléments relargués. Ainsi, ces derniers se dissolvent et sont relargués dans le milieu ; d'où l'augmentation de la vitesse de relargage de l'Al et du Fe après le passage de la phase *H. neapolitanus* à la phase *A. thiooxidans*.

Phase *H. neapolitanus* : $\text{pH} \geq 3,5 \rightarrow \text{Al}$ et Fe sous forme solide

Formation de $[\text{Al}_3]$, $[\text{Fe}(\text{OH})_3]$, taranakite = Précipitation dans les zones superficielles

Phase *A. thiooxidans* : $\text{pH} < 2 \rightarrow \text{Al}$ et Fe en solution

Dissolution partielle de $[\text{Al}_3]$, $[\text{Fe}(\text{OH})_3]$, taranakite = Relargage de Al et Fe dans milieu

A titre indicatif, comme au cours des essais de biodétérioration par les BSO *A. thiooxidans* et *H. neapolitanus*, les fractions cumulées des éléments relargués en solution ont été représentées en fonction du temps et de la racine carrée du temps. Le passage de la phase neutrophile à la phase acidophile n'a eu aucun impact sur le régime de relargage du Ca. Un changement de régime de relargage a par contre été observé pour les éléments Al et Fe. Par contre, le relargage de Si devient très faible (Figures 175 et 176). Les courbes ont été traitées en deux demi-courbes correspondant à chacune des étapes de la succession bactérienne.

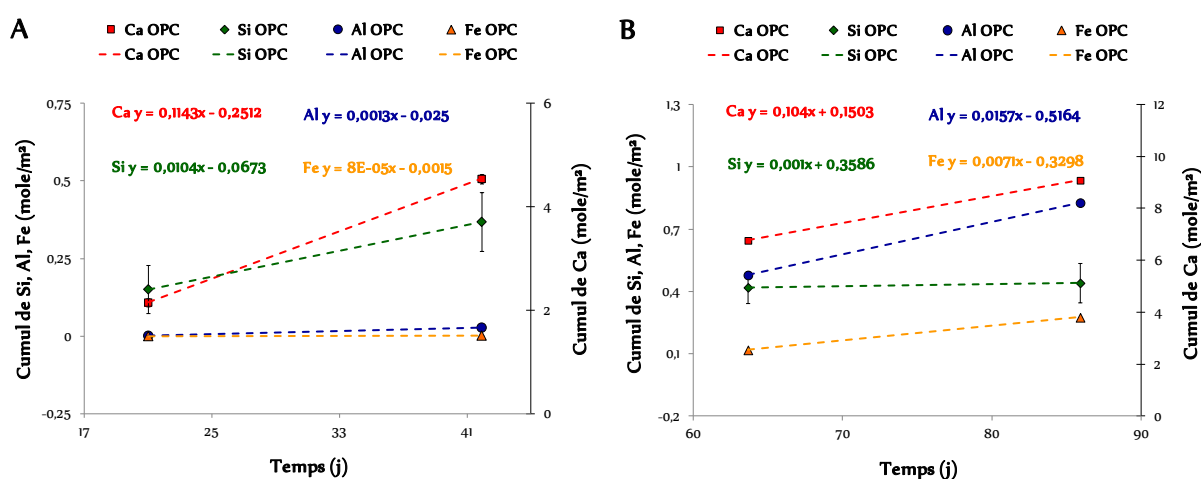


Figure 175 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC après la biodétérioration par la phase *H. neapolitanus* (A) ou la phase *A. thiooxidans* (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction du temps.

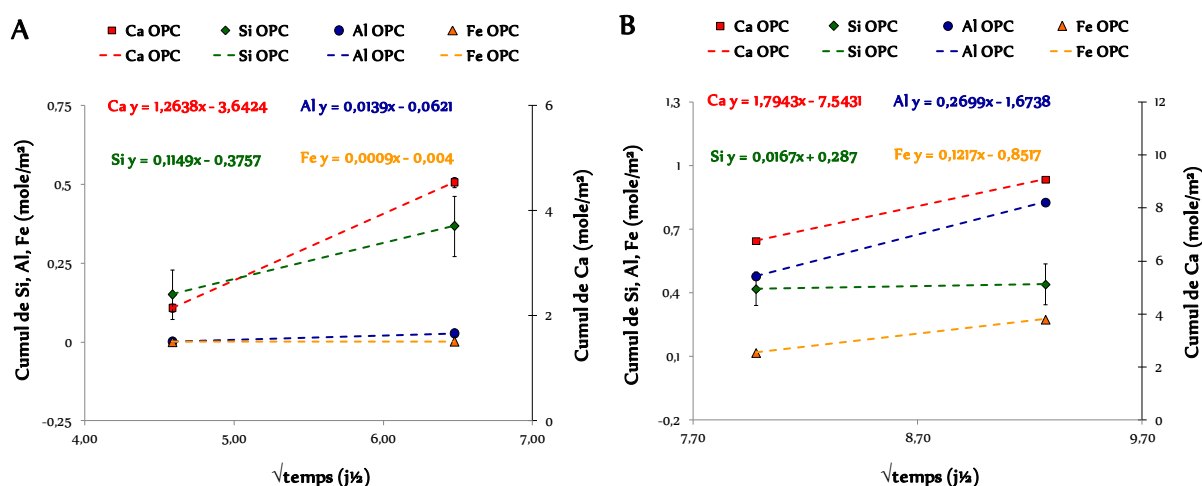


Figure 176 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC après la biodétérioration par la phase *H. neapolitanus* (A) ou la phase *A. thiooxidans* (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la racine carrée du temps.

Durant l'essai avec la succession bactérienne, d'importantes quantités de phases ferriques et alumineuses (hydroxyde d'aluminium, hydroxyde de fer, taranakite ...) sont intensément précipitées et accumulées dans les zones superficielles du mortier pendant la phase neutrophile. Ainsi, le passage à la phase acidophile induit une importante dissolution de toutes ces phases ; d'où les relargages plus importants comparés à ceux de l'essai avec les BSO *A. thiooxidans* (dont les milieux réactionnels ont pourtant des pH plus bas : $1,9 < \text{pH} < 2,7$). Ceci est un nouvel exemple de l'effet mémoire des cycles antérieurs. On peut estimer que si l'expérience avait été poursuivie, les vitesses au cours de la succession bactérienne devraient redescendre aux mêmes niveaux que celles de l'essai de biodétérioration avec les BSO *A. thiooxidans*.

Par ailleurs, au cours des cycles de biodétérioration, une forte proportionnalité est observée entre la quantité de Ca relarguée dans le milieu et la quantité d'ions hydronium produite par les BSO ou neutralisée par le mortier (Figures 177 et 178). Par contre, pour les éléments Si et Al, cette proportionnalité n'est pas évidente puisque les deux régimes de relargage sont observés en fonction du pH de la solution (Figures 177 et 178). Ces résultats montrent bien que la dissolution des phases calciques n'est pas fonction de la nature acidophile ou neutrophile de la BSO, contrairement à la dissolution des phases alumineuses et ferriques. Il apporte également un éclairage sur la moindre performance dans les égouts des matériaux contenant de plus grandes quantités de phases calciques. En réalité, ces derniers sont très vite attaqués pendant la phase neutrophile car leur composition chimique n'offre aucune résistance. Il apparaît donc que les recherches sur la performance des matériaux cimentaires dans les égouts devraient plus cibler la phase neutrophile du processus de biodétérioration vu que cette dernière semble être la clé de la résistance du matériau dans les égouts. Néanmoins, appliquer une phase acidophile après cette phase neutrophile est un bon complément.

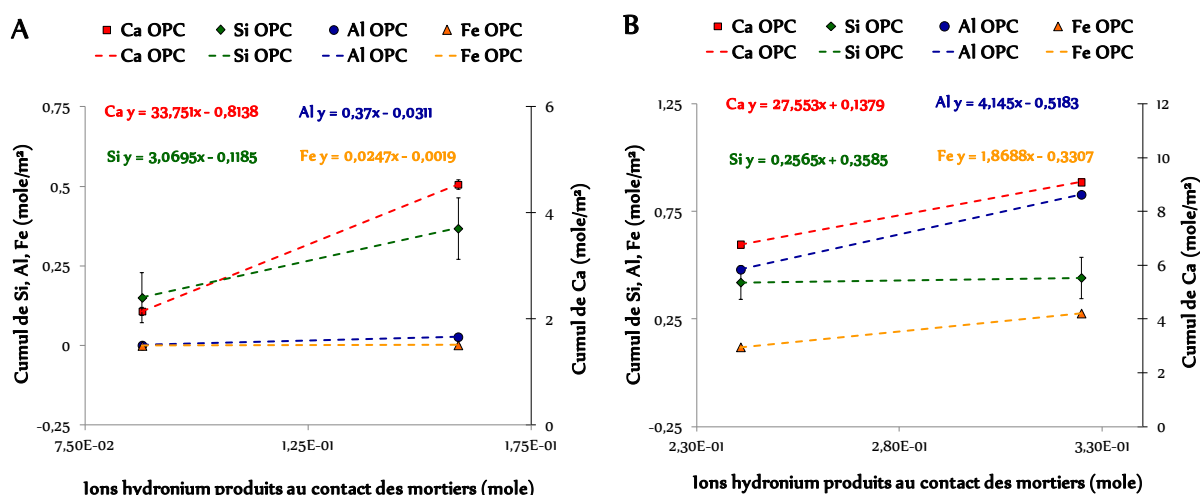


Figure 177 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC après la biodétérioration par la phase *H. neapolitanus* (A) ou la phase *A. thiooxidans* (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium générée par les bactéries.

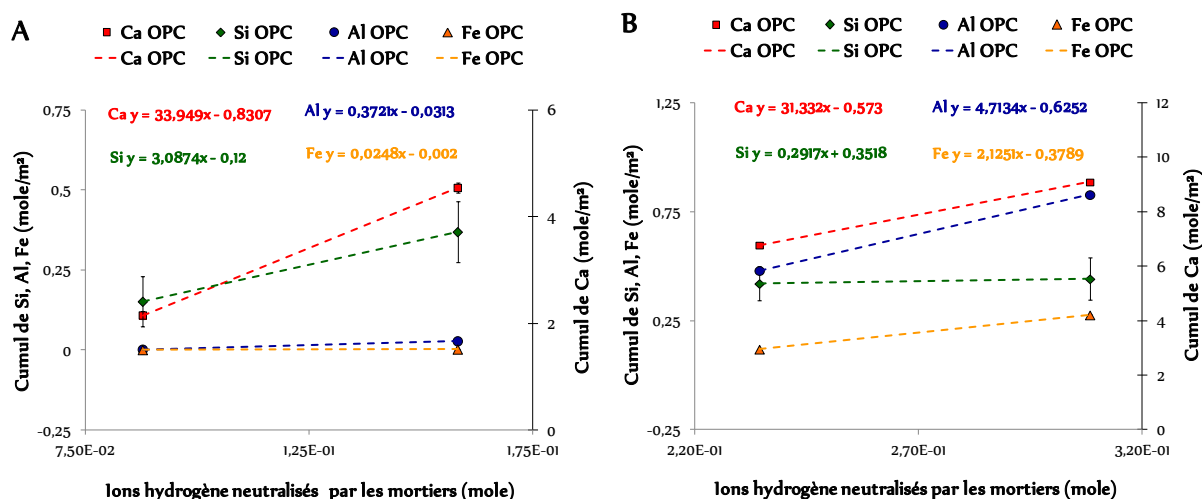


Figure 178 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC après la biodétérioration par la phase *H. neapolitanus* (A) ou la phase *A. thiooxidans* (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium neutralisée par les mortiers.

1.2. L'évolution du mortier

1.2.1 L'analyse macroscopique

L'analyse macroscopique des mortiers n'a révélé aucun biofilm ni aucune trace de taranakite à la surface des mortiers OPC, comme pour les mortiers OPC attaqués par *A. thiooxidans* ou *H. neapolitanus* (Figures 67, 125 et 179). De même, les mortiers ayant subi 4 cycles de biodétérioration (3 mois) (ON2A2x, ON2A2y) sont plus altérés que celui ayant subi 3 cycles de biodétérioration (ON2A1) (2,25 mois) (Figure 179). Toutefois, ces mortiers sont moins altérés que

ceux ayant été attaqués par *A. thiooxidans* et plus altérés que ceux ayant été attaqués par *H. neapolitanus* (Figures 67 et 125).

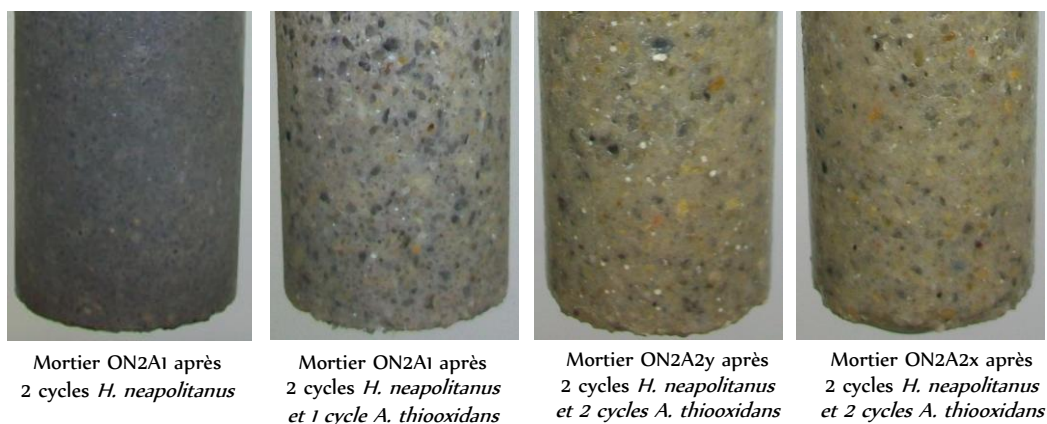


Figure 179 : Mortier OPC après 2 cycles, 3 cycles et 4 cycles de biodétérioration par une succession de *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

L'observation des sections transversales des mortiers indique également, comme pour *A. thiooxidans* ou *H. neapolitanus*, la présence de deux zones : une fine zone sombre à la surface du mortier (d'environ 1 mm) et un cœur de mortier (d'environ 2,7 cm), respectivement beaucoup moins épaisse et plus importante que ceux des mortiers ayant été attaqués par *A. thiooxidans* (Figure 180).

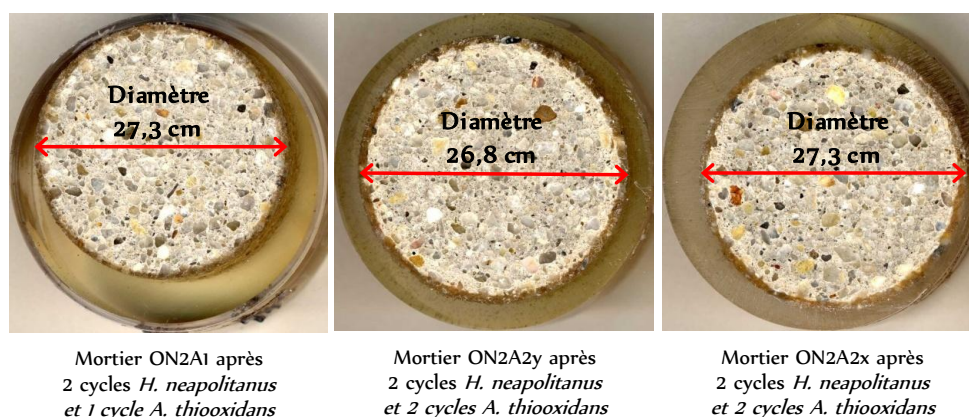


Figure 180 : Coupes transversales des mortiers OPC ON2A1, ON2A2y et ON2A2x après 3 ou 4 cycles de biodétérioration par une succession de *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

Après les cycles de biodétérioration, l'épaisseur complètement détériorée par la pré-lixiviation d'une part et par l'acide sulfurique biogénique d'autre part, a été déterminée comme réalisé pour l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans* et *H. neapolitanus* (Tableau 51).

	Diamètre après pré-lixiviation (mm)	Épaisseur détériorée (mm)	Diamètre après biodétérioration (mm)	Épaisseur biodétériorée (mm)	Épaisseur perdue par le mortier (mm)	Vitesse de détérioration (mm/an)
ON2A1	28,60	0,20	27,30 ± 0,14	0,65 ± 0,07	0,85 ± 0,10	4,85 ± 0,81
ON2A2y			26,76 ± 0,08	0,92 ± 0,04	1,12 ± 0,06	4,85 ± 0,37
ON2A2x			27,29 ± 0,66	0,66 ± 0,33	0,86 ± 0,47	3,71 ± 2,86

Tableau 51 : Mesure des diamètres, des épaisseurs perdues et des vitesses de détérioration des mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par une succession de *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

Contrairement aux mortiers OPC attaqués par *A. thiooxidans*, après l'imprégnation de résine, aucune augmentation de diamètre n'a été observée pour les mortiers ayant subi la succession BSON/BSOA (Tableau 51). La zone superficielle des mortiers ON2A1 ou ON2A2 est peut être plus résistante que celle des mortiers OA2 ou OA4 car elle semble ne pas avoir été détachée du reste du mortier après imprégnation (Figures 68 et 180). Cette résistance a permis de déterminer l'épaisseur complètement détériorée des mortiers après la succession bactérienne.

La vitesse de détérioration des mortiers ON2A4y (correspondant à l'épaisseur du mortier complètement détériorée, donc perdue par le celui-ci) a été estimée à 4 – 5 mm/an. Elle a été normalisée à la surface des échantillons et comparée aux vitesses de détérioration retrouvées dans la littérature scientifique (Tableau 33). Il apparaît que les vitesses de détérioration estimées dans cet essai sont en moyenne équivalentes à celles mesurées par De Belie *et al.* (2004), 5 fois plus importantes que celles de Mori *et al.* (1992) et 27 fois plus importantes que celles de Gutiérrez-Padilla *et al.* (2010). Ainsi, nos conditions de biodétérioration semblent être plus agressives que celles de Gutiérrez-Padilla *et al.* (2010) et Mori *et al.* (1992). Néanmoins, la remarque sur la pertinence de la mesure de cette vitesse faite dans le chapitre précédent reste valide ; seul le comparatif de vitesses calculées pour une durée d'expérience similaire est valide. De plus, il convient de comparer le même type de matériaux : pâte de ciment, mortier ou béton.

1.2.2 L'analyse microscopique

Les observations et les analyses ont été axées sur les différences entre les mortiers ayant été attaqués par *A. thiooxidans* seul et ceux attaqués par une succession de *H. neapolitanus*/ *A. thiooxidans*.

1.2.2.1 Le mortier ON2A2y (4 cycles de biodétérioration / 3 mois)

L'observation et l'analyse du mortier ON2A2y au MEB/EDS (Figure 181) semble indiquer la présence de 6 zones au lieu de 7 comme le mortier OA4y biodétérioré pendant 3 mois par *A. thiooxidans*. En effet, le mortier ON2A2y, tout comme le mortier OA2 biodétérioré pendant 1,5 mois par *A. thiooxidans*, est dépourvu de la zone intensément altérée. Ainsi, en allant de la surface au cœur du mortier, on trouve :

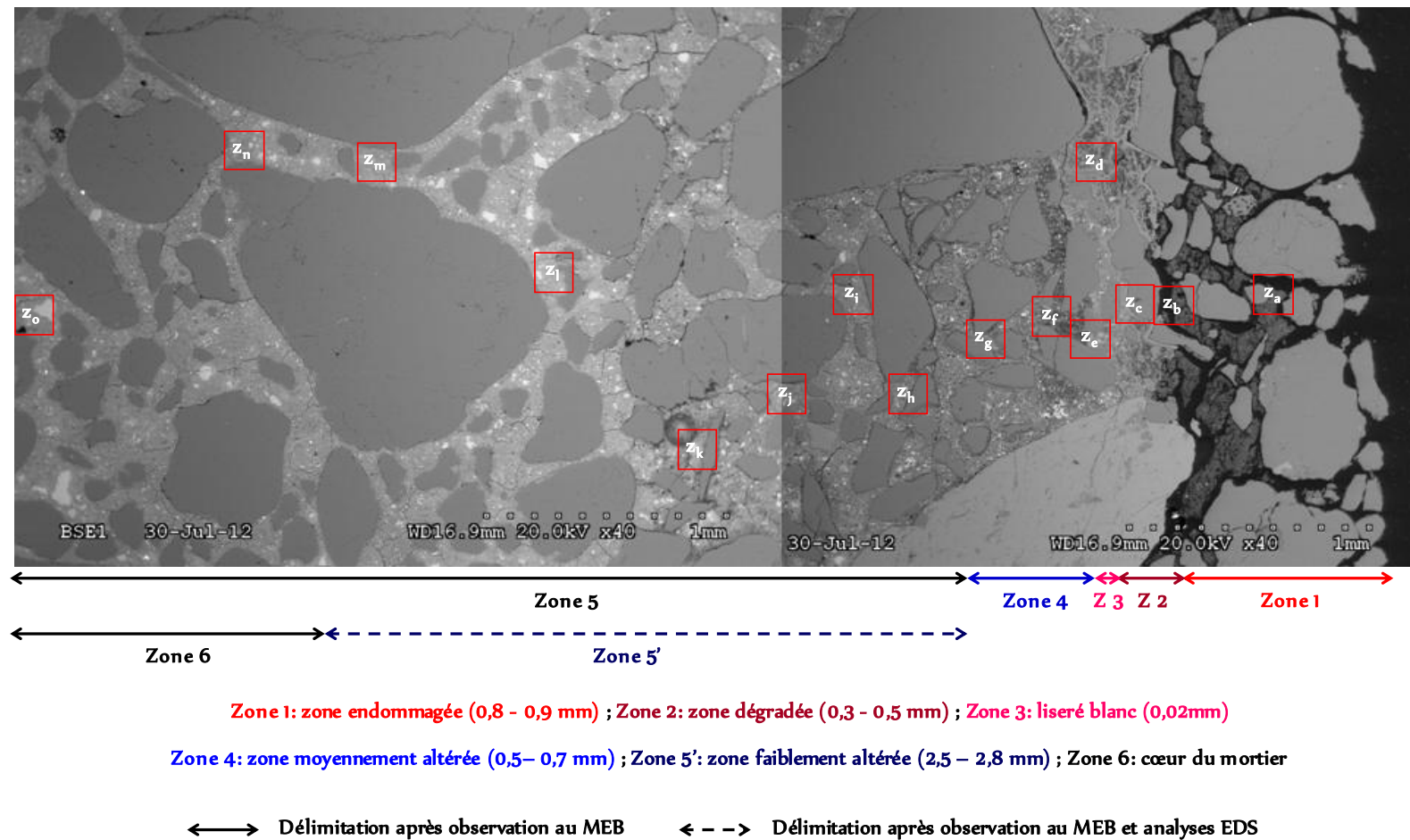


Figure 181 : Observations au MEB du mortier OPC ON2A2y après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 2 cycles par *A. thiooxidans*.

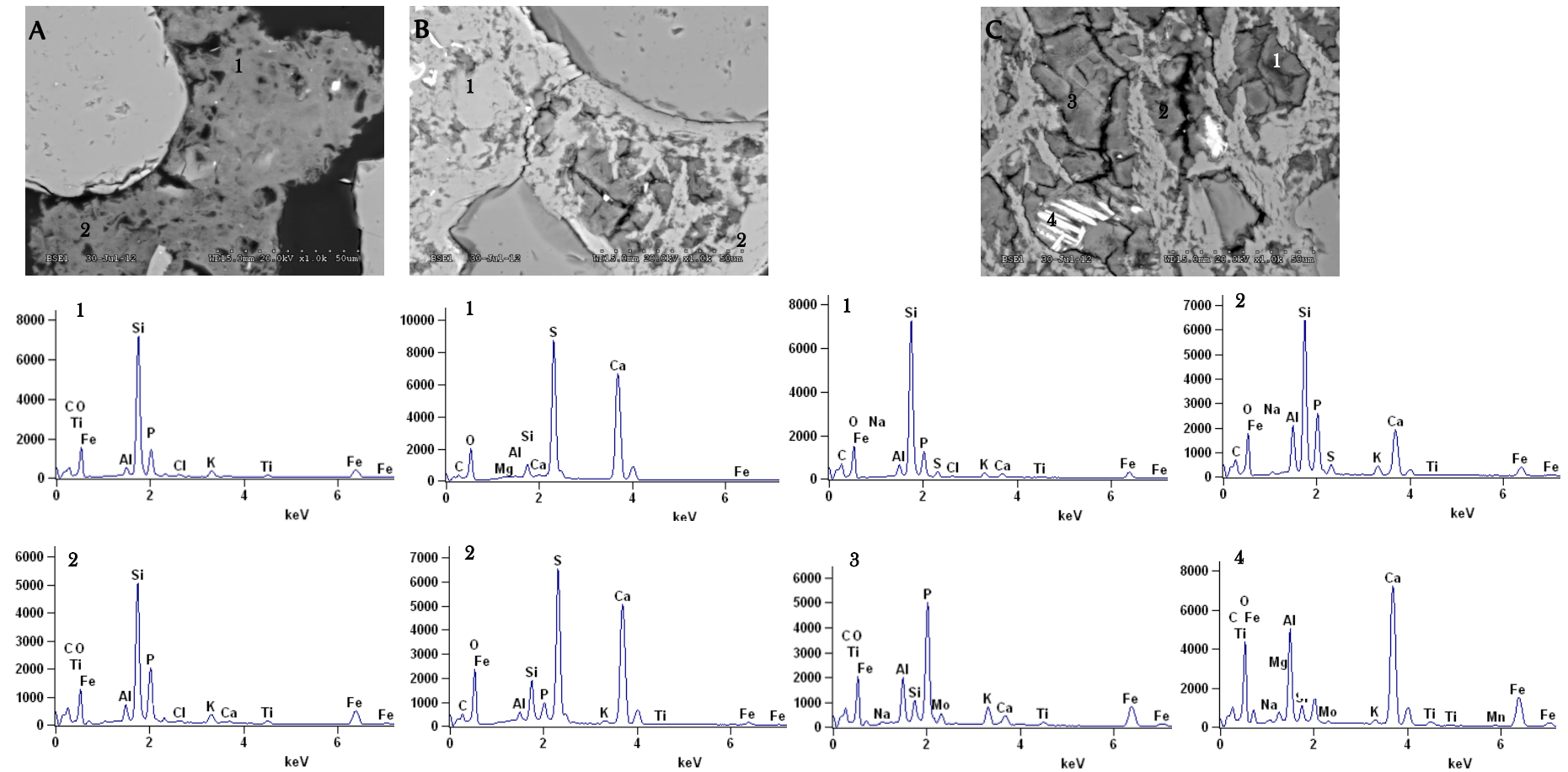


Figure 182 : Analyses EDS de certaines zones du mortier ON2A2y après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 2 cycles par *A. thiooxidans*.

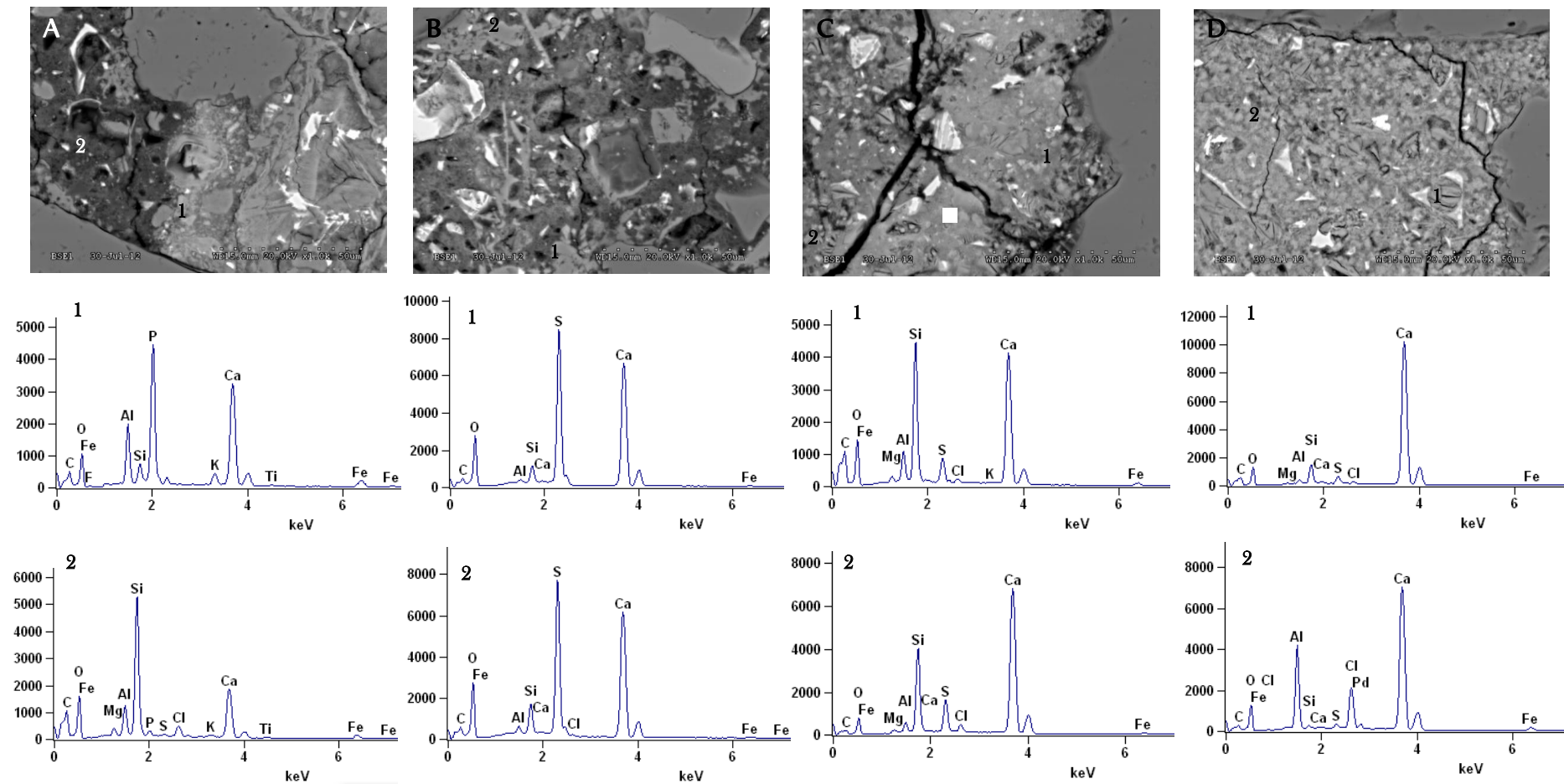


Figure 183 : Analyses EDS de certaines zones du mortier ON2A2y après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 2 cycles par *A. thiooxidans*.

- La zone 1 ou zone endommagée identifiée dans les mortiers OA4y et OA2. Elle est également très poreuse et a une épaisseur (0,8 – 0,9 mm) environ 4 fois plus importante que celle des mortiers OA4y et OA2 (~ 0,2 mm). Comme les mortiers OA4y et OA2, elle est constituée de gel de silice (Figures 181 – z_{a-b} , 182 A et 184 C) mais également d'une quantité résiduelle de taranakite. Cette dernière est formée dans les couches superficielles du mortier au cours de la phase neutrophile (Figure 134). Elle est par la suite dissoute au cours de la phase acidophile certainement due à la diminution du pH du milieu.
- La zone 2 ou zone dégradée identifiée dans les mortiers OA4y et OA2. Elle a une épaisseur d'environ 0,3 – 0,4 mm, inférieure à celle du mortier OA4y (0,4 – 0,7 mm) mais quasiment équivalente à celle du mortier OA2 (0,4 mm) (Figure 181 – z_{c-d}). Toutefois, comme les mortiers OA4y et OA2, elle est recouverte d'une couche poudreuse gris clair constituée de gypse (Figures 181 – z_{c-d} , 182 B, 183 A et 185 A). De même, la pâte de ciment renferme du gel de silice (Figure 182 C), de l'hydroxyde de fer (Figure 182 C), de l'hydroxyde d'aluminium (Figure 182 C), de la taranakite (Figure 182 C) et des silicates de calcium de bas rapport Ca/Si (0,6 – 0,9, du même ordre que ceux du mortier OA4y) (Figure 182 C).
- La zone 3 ou liseré blanc, qui comme dans les mortiers OA4y, OA2 et même ON4y et ON2 est constituée d'hydroxyapatite (Figures 181 – z_e , 183 A, 184 A et 185 B). Elle a une épaisseur de 0,02 mm, inférieure à celle des mortiers OA4y et OA2 (0,04 – 0,08 mm) mais équivalente à celle du mortier ON4y (0,02 mm). Cependant, contrairement aux mortiers OA4y et ON4y (Figures 77 et 134) qui ont également subi 4 cycles de biodétérioration, la zone intensément altérée n'a pas été retrouvée dans le mortier ON2A2y. En ce point, ce mortier ressemble à un échantillon ayant subi 2 cycles de biodétérioration comme les mortiers OA2 et ON2, pour lesquels la zone intensément altérée n'a pas été retrouvée.
- La zone 4 ou zone moyennement altérée, peu poreuse a une épaisseur qui varie entre 0,5 – 0,7 mm, légèrement supérieure à celle des mortiers OA4y et ON4y (0,3 – 0,6 mm) (Figure 181 – z_{f-g}). Les rapports Ca/Si sont inférieurs à ceux du mortier OA4y, respectivement 1,0 – 1,8 et 1,6 – 2,0. Comme dans les mortiers OA4y, OA2, ON4y et ON2, des quantités négligeables de chlore (entre 0,3 et 1,8 %) ont été décelées provenant très certainement de la résine (Figure 183 A). Contrairement aux mortiers OA4y, OA2 et ON4y, et comme le mortier ON2, le gypse a été retrouvé dans la zone moyennement altérée. Ainsi, la zone 4 renferme de l'alumino-ferrites tétracalciques, les silicates de calcium décalcifiés de bas rapport Ca/Si (Figure 183 A), le gypse (Figure 183 B) et l'ettringite.

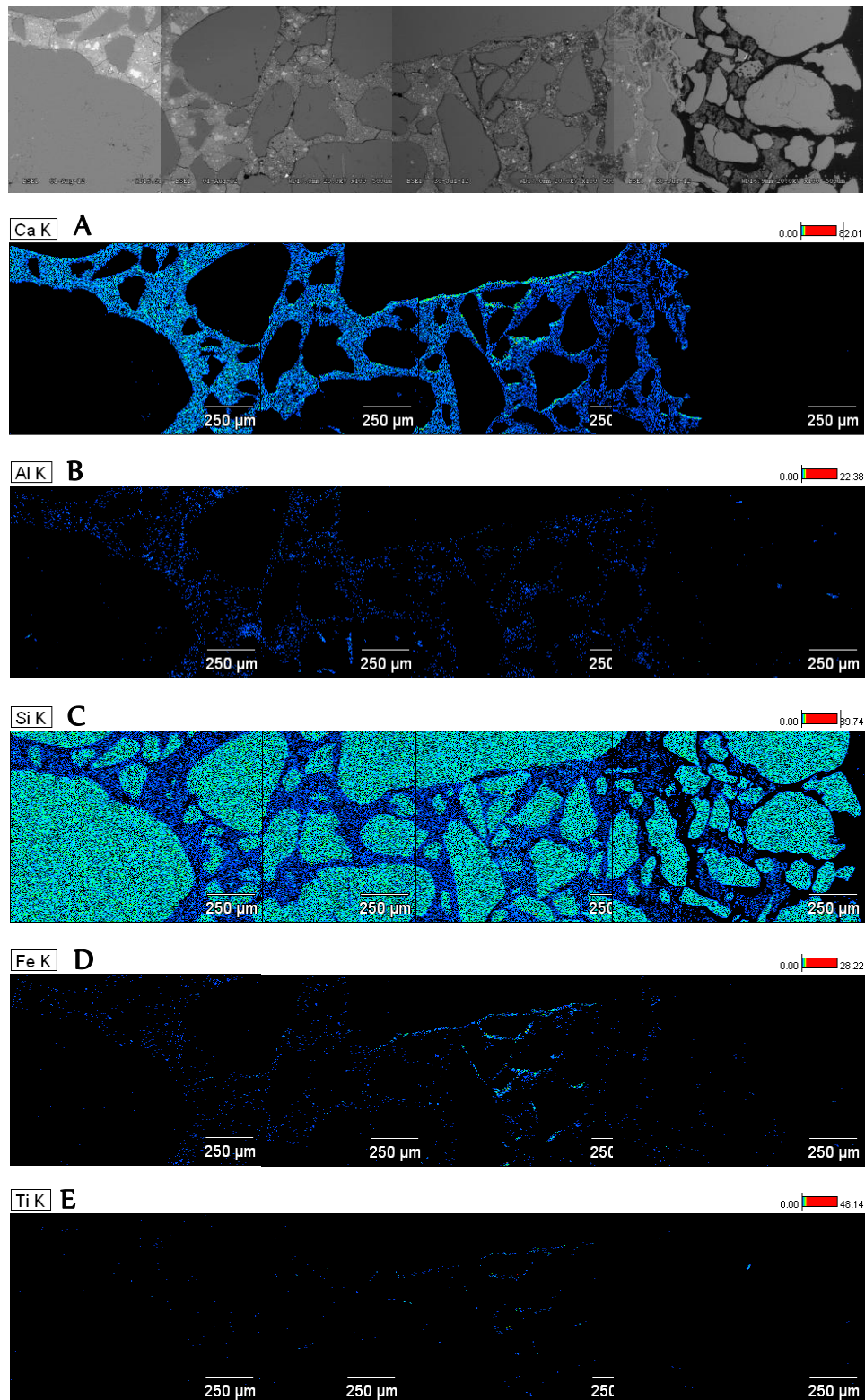


Figure 184 : Cartographies des éléments Ca, Si, Al, Fe et Ti contenus dans la bordure du mortier OPC ON2A2y après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 2 cycles par *A. thiooxidans*.

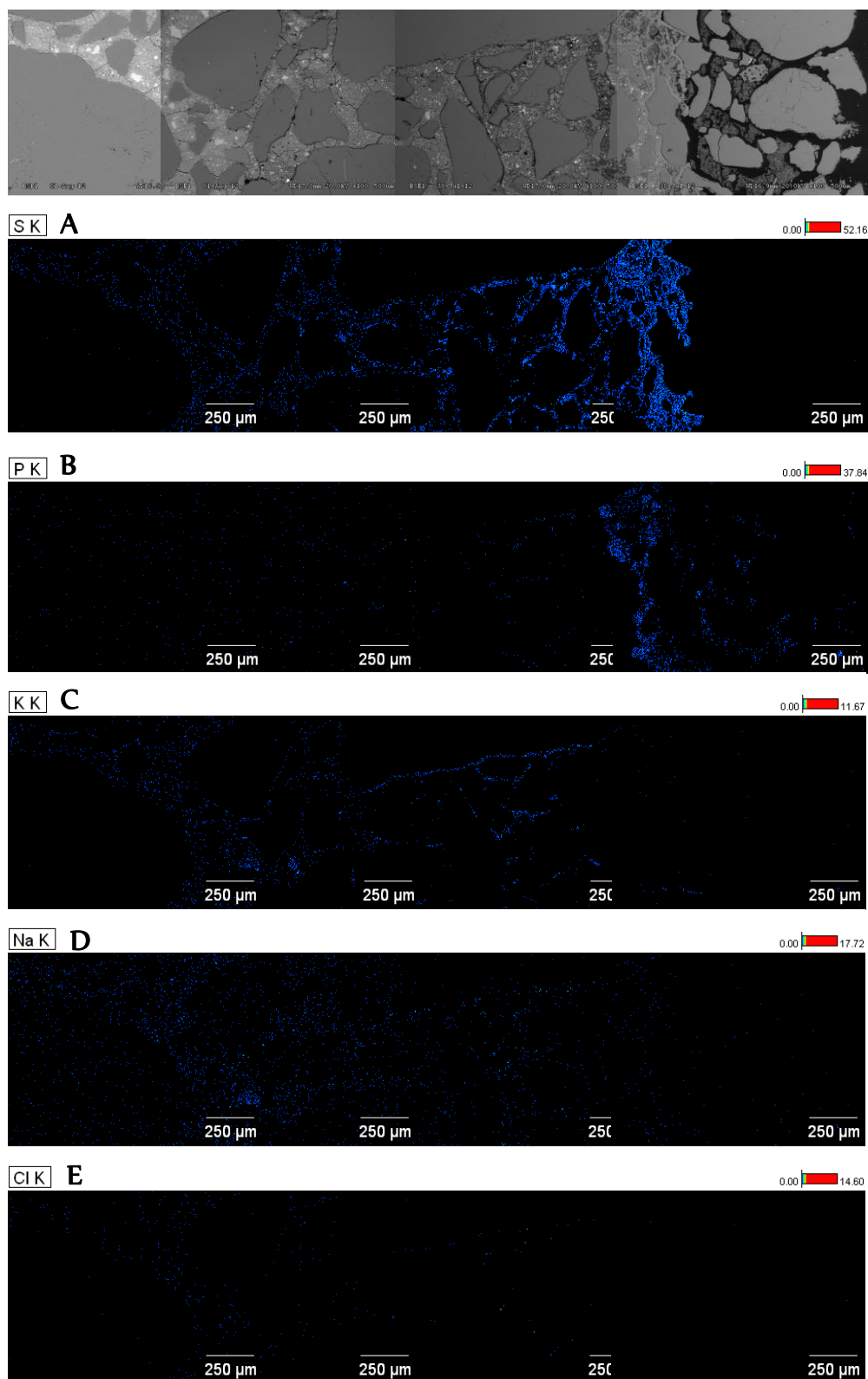


Figure 185 : Analyses EDS des éléments S, P, K, Na et Cl contenus dans la bordure du mortier OPC ON2A2y après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 2 cycles par *A. thiooxidans*.

- La zone 5 ou zone faiblement altérée a une épaisseur qui varie entre 2,5 – 2,8 mm, largement supérieure à celle des mortiers OA4y (1,9 mm), OA2 (1,1 – 1,4 mm), ON4y (1,5 – 1,8 mm) et ON2 (0,9 – 1,0 mm) (Figure 181 – z_{h-m}). Comme dans les mortiers précédemment analysés (OA4y, OA2, ON4y et ON2), la zone faiblement altérée est constituée de silicates de calcium décalcifiés de haut rapport Ca/Si (1,9 – 3,2) (Figure 183 C), d'alumino-ferrites tétracalcique, de monosulfo-aluminate de calcium hydraté (Figure 183 C), d'ettringite (Figure 183 C) et de portlandite (Figure 183 D) très certainement en cours de dissolution. De plus, comme dans les mortiers précédemment analysés, de fortes quantités de chlore (jusqu'à 4,7 %) ont été ponctuellement mesurées dans cette zone peut-être dues à la présence de monochloroaluminates de calcium hydratés.
- La zone 6 ou cœur du mortier a la même composition que celle des mortiers OA4y, OA2, ON4y et ON2.

L'épaisseur altérée mesurée par MEB/EDS a été estimée à $4,2 \pm 0,3$ mm. L'épaisseur totale attaquée est de $5,4 \pm 0,3$ mm. Elle correspond à l'attaque de 64% du volume initial du mortier ON2A2y (63 x 29 mm) et à une vitesse d'attaque de $23,2 \pm 1,8$ mm/an. Ainsi, l'essai de biodétérioration prenant en compte la succession bactérienne semble attaquer le mortier encore plus profondément que celui réalisé avec *A. thiooxidans* seul (épaisseur totale attaquée = $4,4 \pm 0,2$ mm).

1.2.2.2 Le mortier ON2A1 (2 cycles par *H. neapolitanus* et 1 cycle par *A. thiooxidans*)

Le mortier ON2A1 renferme, comme les mortiers ON2A2y et OA2, 6 zones (Figure 186). Ainsi, en allant de la surface au cœur du mortier, on trouve :

- La zone 1 ou zone endommagée a une épaisseur (0,3 – 0,5 mm) inférieure à celle du mortier ON2A2y (0,8 – 0,9 mm) (Figures 186 – z_{a-b}). Elle est constituée de gel de silice et de taranakite (Figure 187 A). Ainsi, la zone endommagée (gel de silice), inexistante dans le mortier ON2 (2 cycles *H. neapolitanus*) s'est formée dans le mortier ON2A1 (2 cycles *H. neapolitanus*, 1 cycle *A. thiooxidans*). Cette formation est à mettre en relation avec la diminution du pH du milieu, responsable de la dissolution des phases alumineuses/ferriques et de la précipitation du gel de silice.
- La zone 2 ou zone dégradée a une épaisseur (0,3 – 0,4 mm) légèrement inférieure à celle du mortier ON2A2y (0,4 – 0,5 mm) (Figure 186 – z_{c-d}). Elle est également recouverte d'une couche poudreuse gris clair constituée de gypse (Figure 186 – z_{c-d} et 187 B). La pâte de ciment renferme également du gel de silice (Figure 187 B), de l'hydroxyde de fer (Figure 187 B), de l'hydroxyde d'aluminium (Figure 187 B), de la taranakite (Figure 187 B) et des silicates de calcium décalcifiés de bas rapport Ca/Si (Figure 187 B).

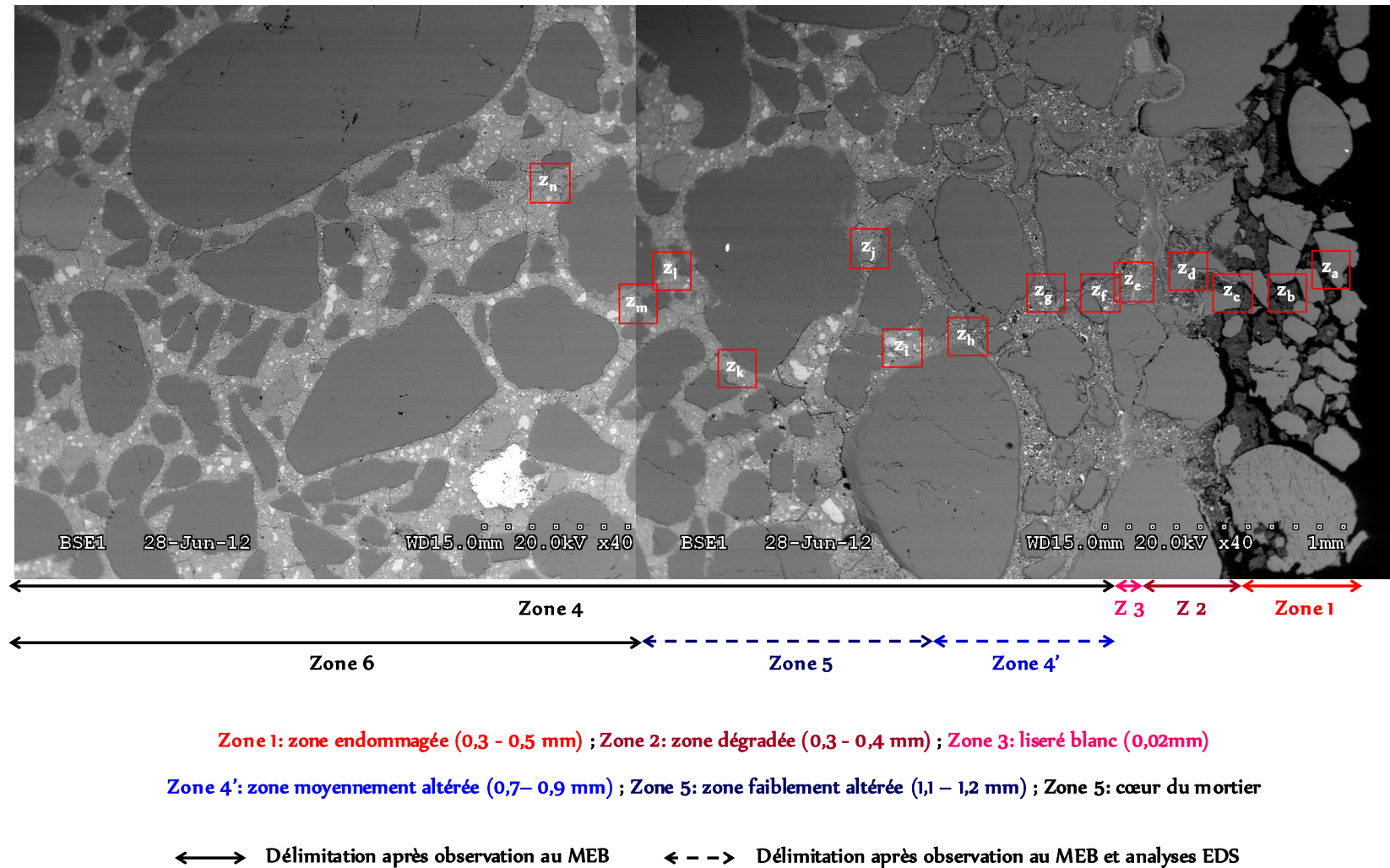


Figure 186 : Observations au MEB du mortier OPC ON2A1 après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 1 cycles par *A. thiooxidans*.

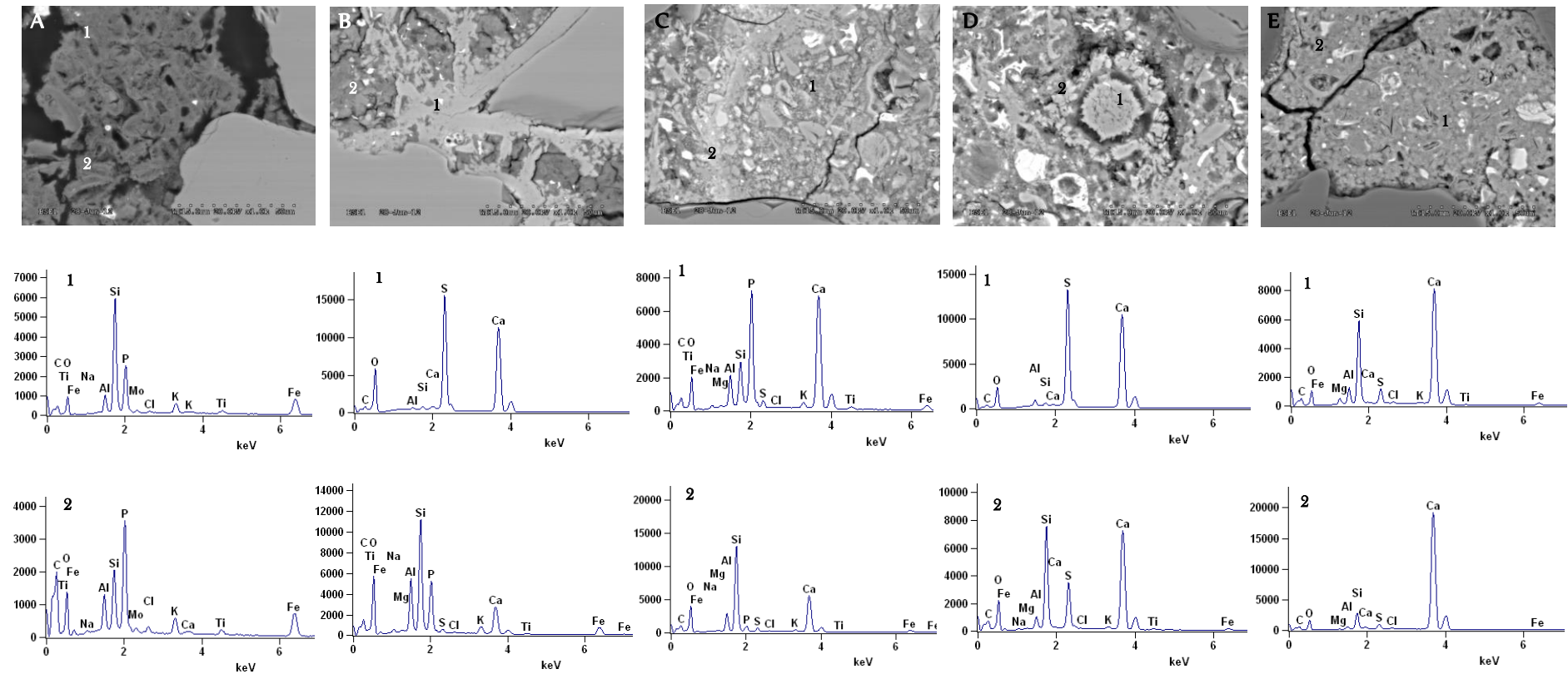


Figure 187 : Analyses EDS de certaines zones du mortier ON2AI après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 1 cycles par *A. thiooxidans*

- La zone 3 ou liséré blanc, qui comme dans le mortier ON2A2y, est constituée d'hydroxyapatite (Figure 186 – z_e ; Figure 187 C). Elle a également une épaisseur de 0,02 mm.
- La zone 4 ou zone moyennement altérée a une épaisseur (0,7 – 0,9 mm) supérieure à celle du mortier ON2A2y (0,5 – 0,7 mm) (Figures 186 – z_{fh}). Comme dans le mortier ON2A2y, elle est constituée d'alumino-ferrites tétracalcique, de silicates de calcium décalcifiées de bas rapport Ca/Si (Figure 187 D), de gypse (Figure 187 D) et d'ettringite (Figure 187 D).
- La zone 5 ou zone faiblement altérée a une épaisseur (1,1 – 1,2 mm) inférieure à celle du mortier ON2A2y (2,7 – 3,1 mm) (Figures 186 – z_{i-l}). Comme dans ce dernier, le mortier ON2A1 est constituée d'alumino-ferrites tétracalcique, de silicates de calcium décalcifiées de haut rapport Ca/Si (Figure 187 E), d'ettringite (Figure 187 E), de monosulfo-aluminate de calcium hydraté (Figure 187 E) et de portlandite (Figure 187 E).

L'épaisseur altérée a été estimée à $2,7 \pm 0,3$ mm. L'épaisseur totale attaquée est de $3,52 \pm 0,4$ mm. Elle correspond à l'attaque de 46% du volume initial du mortier ON2A1 (63 x 29 mm) et à une vitesse d'attaque de $20,9 \pm 3,0$ mm/an. La V_D ou vitesse volumique d'attaque du mortier ON2A1 ($1,1 \pm 0,1$ mm.an⁻¹.cm⁻³) est inférieure à celle du mortier ON2 ($1,5 \pm 0,1$ mm.an⁻¹.cm⁻³) et plus importante que celle du mortier ON2A2y ($0,9$ mm.an⁻¹.cm⁻³). Ainsi, comme pour l'essai de biodétérioration avec *A. thiooxidans* ou *H. neapolitanus*, la vitesse de l'attaque des mortiers OPC semble diminuer dans le temps. Cette diminution est liée à la progression de la porosité du mortier, donc de l'augmentation de la surface réactionnelle.

1.2.2.3 L'évolution dans le temps du mortier OPC

Le mortier ON2A2y, avec une épaisseur totale attaquée de $5,4 \pm 0,3$ mm, est à un stade de détérioration plus avancée que le mortier ON2A1, dont l'épaisseur totale attaquée n'est que de $3,5 \pm 0,4$ mm. Le profil de détérioration du mortier OPC ne semble pas évoluer dans le temps car les deux mortiers ont les mêmes zones détériorées (Figure 188). Toutefois, les épaisseurs détériorées augmentent globalement au cours du temps, d'où l'apparition d'une zone attaquée de plus en plus profonde (Figure 189).

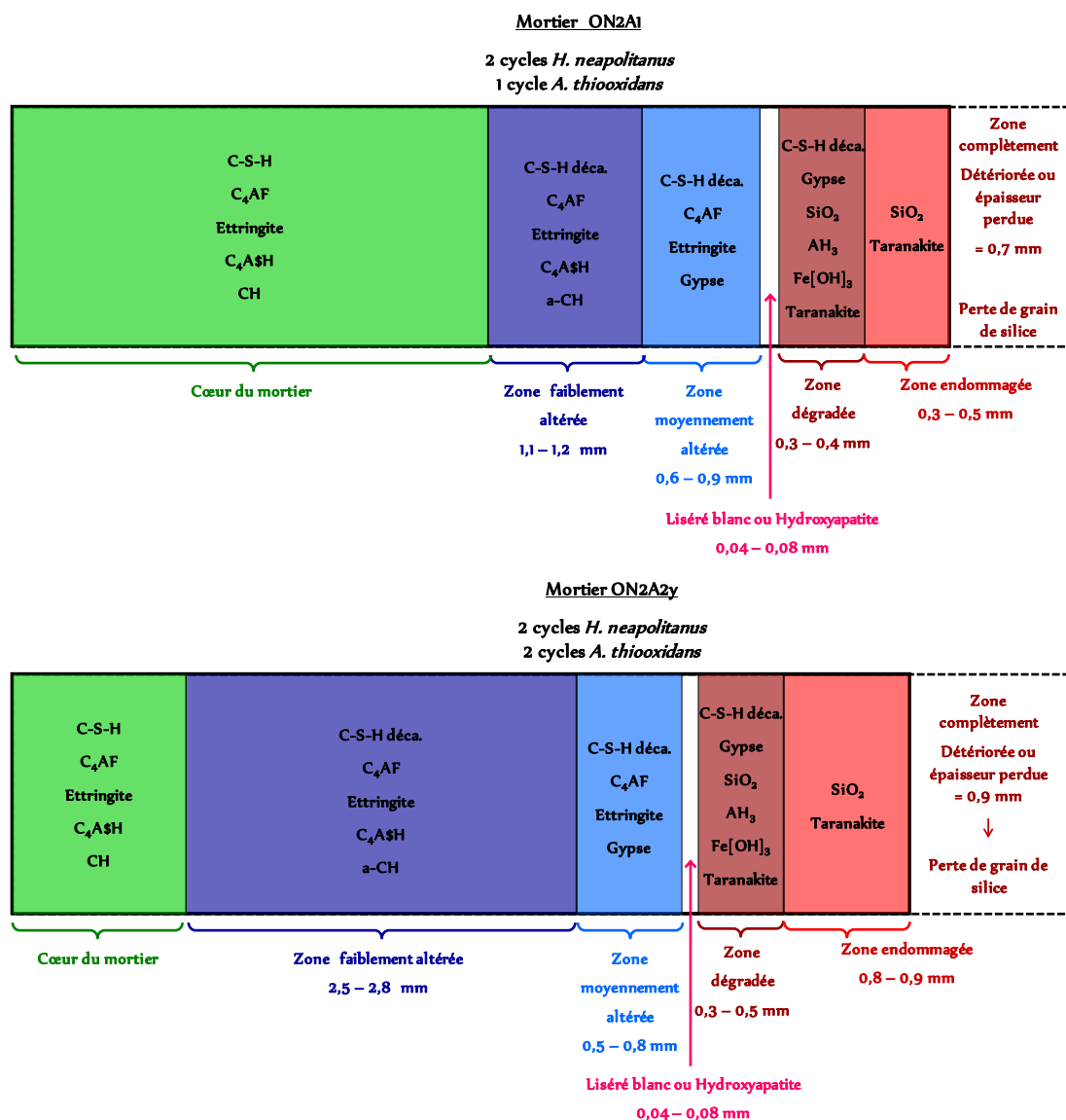


Figure 188 : Représentation schématique de la zonation des mortiers ON2A2y et ON2A1 après la succession bactérienne *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*. L'indice « a » indique que les phases ne sont pas stables et donc sont partiellement dissoutes dans la zone.

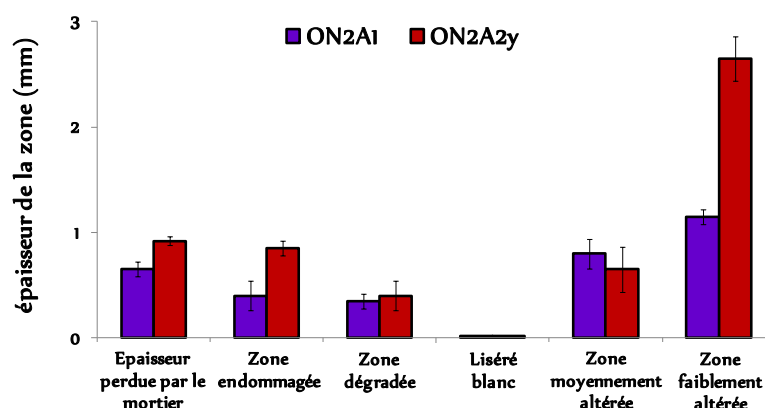


Figure 189 : Évolution dans le temps des épaisseurs des différentes zones composant le mortier OPC soumis à un essai de biodétérioration par une succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

1.3. Conclusions

Comme le mortier attaqué par *A. thiooxidans*, le gel de silice a été retrouvé à la surface du mortier ON2A2y. Ainsi, le passage de la phase neutrophile à la phase acidophile a induit la dissolution totale de phases alumineuses et ferriques expliquant l'augmentation du relargage de Fe et Al observé dans les milieux réactionnels au cours de la phase acidophile de l'essai de biodétérioration (Figures 173 et 174). Par ailleurs, la formation du gel de silice est responsable de la diminution du relargage de Si en solution.

Des quantités moins importantes de gypse et d'ettringite ont été précipitées dans le mortier ON2A2y comparé au mortier OA4y (Figures 69 et 181), car des quantités moins importantes de sulfates (9 – 31%) ont été précipitées dans le mortier au cours des cycles de biodétérioration. En outre, comme dans le mortier OA4y, la présence de la taranakite, de la variscite et de l'hydroxyapatite dans le mortier est responsable de la diminution des ions phosphate observée au cours des cycles de biodétérioration (Figure 171, tableau 50).

Le profil biodétérioré du mortier ON2A2y est légèrement différent de celui du mortier OA4y (Figures 77 et 188). En effet, le mortier ON2A2y compte 6 zones plus ou moins attaquées tandis que le mortier OA4y en compte 7.

L'*IA* déterminé au cours de l'essai est égal à 73 (Tableau 52). Cette valeur est proche de celle obtenue pour l'essai avec *H. neapolitanus* (77) et moindre par rapport à celle obtenue au cours de l'essai avec *A. thiooxidans* (107). En effet la principale différence de relargage provient des autres éléments que le calcium qui sont principalement relargués en présence de *A. thiooxidans*. Par contre, l'*IA_v* permet de bien mettre en évidence la différence pour des *IA* voisins en tenant compte du volume attaqué : *IA_v* est égal à 46,3 pour la succession bactérienne qui est bien encadrée par l'essai avec *A. thiooxidans* (58,2) et l'essai avec *H. neapolitanus* (33,6).

		Eléments relargués (mole)	H ⁺ générés (mole)	Eléments dans mortier (mole)	% d'éléments relargués	% d'éléments relargués normalisé à 100	% normalisé / mole de H ⁺	Indice d'attaque (<i>IA</i>)	<i>IA</i> rapporté au ratio volume attaqué / volume initial (<i>IA_v</i>)
OPC	Ca	5,68E-02	3,36E-01	2,20E-01	26	22	66	73	46,4
	Si	2,76E-03	3,36E-01	5,61E-02	5	0	1		
	Al	4,83E-03	3,36E-01	2,03E-02	24	2	5		
	Fe	1,63E-03	3,36E-01	1,09E-02	15	0	1		

Tableau 52 : Indice d'attaque de l'essai de biodétérioration des mortiers OPC.

En outre, si l'on considère individuellement l'indice d'attaque au cours de chaque cycle de biodétérioration, on observe que ce dernier augmente au cours de la phase neutrophile, puis atteint un régime presque stationnaire en phase acidophile (Figure 190).

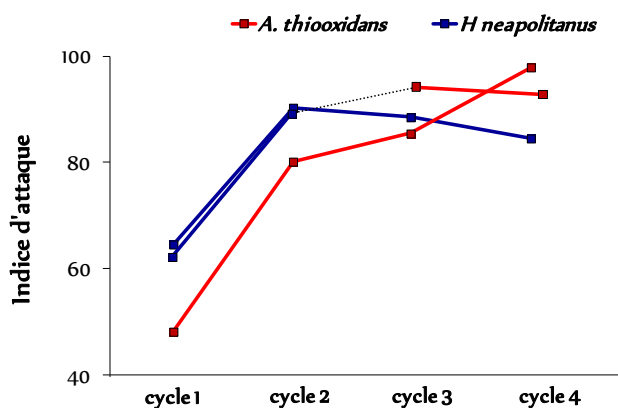


Figure 190 : Évolution des Indices d'attaque pour chaque cycle des mortiers OPC au cours des essais de biodétérioration avec *A. thiooxidans*, *H. neapolitanus* ou avec la succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

2. Analyse de l'essai de biodétérioration du mortier CAC

2.1. L'évolution du milieu réactionnel

2.1.1. L'évolution du pH

Comme pour les essais précédents (Chapitres 4, 5 et succession sur mortiers OPC de ce chapitre), une bonne répétabilité est également observée (Figure 191). Comme pour le mortier OPC, l'évolution du pH conduit à une diminution continue du pH final de chaque cycle.

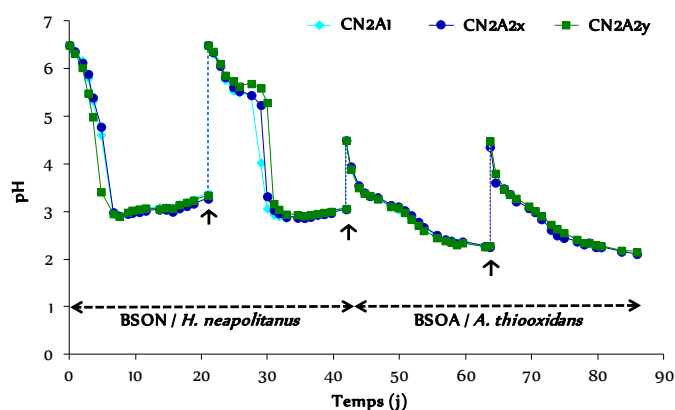


Figure 191 : Évolution du pH des milieux réactionnels au contact de mortiers CAC (CN2A1, CN2A2x, CN2A2y) au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans* (↑ renouvellement du milieu réactionnel).

Les pH finaux au cours de la phase neutrophile sont semblables à ceux de l'essai de biodétérioration par *H. neapolitanus*, cycles 1 et 2 (Figures 136, 137, 191 et 192). De même, l'évolution du pH et les pH

finaux au cours de la phase acidophile sont comparables à ceux des cycles 2 et 3 de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans* (Figures 79, 80, 191 et 192).

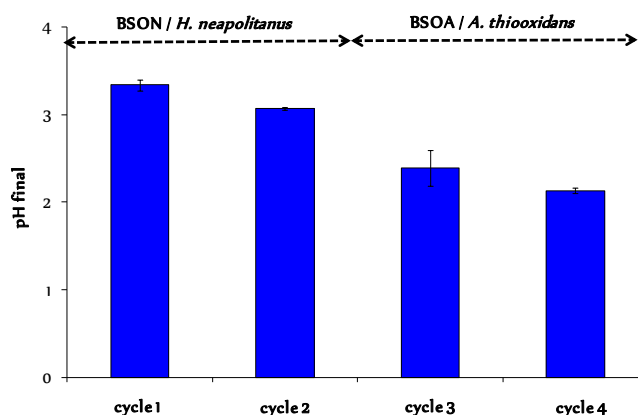


Figure 192 : pH moyens finaux des milieux réactionnels au contact de mortiers CAC au cours des cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

2.1.2. Évolutions des concentrations des constituants du milieu de croissance et estimation de la quantité d'acide sulfurique biogénérée

Comme au cours de l'essai de biodétérioration par *H. neapolitanus* ou *A. thiooxidans*, des précipités blancs ont également été observés dans les milieux au cours de l'essai de la succession bactérienne (Figure 193). Ces précipités ont été pesés, analysés et identifiés par DRX/ RIETVELD, par analyses MEB/EDS (Figures 194 A et B) et par analyses EDS semi-quantitative (Figure 194 C et D). Les analyses des précipités ont confirmé que ces derniers sont minoritairement composés de soufre élémentaire et majoritairement de taranakite (Figure 194 A et B ; Tableau 53). De plus, la quantité de soufre élémentaire précipitée au cours de la phase neutrophile est plus importante que celle précipitée au cours de la phase acidophile.

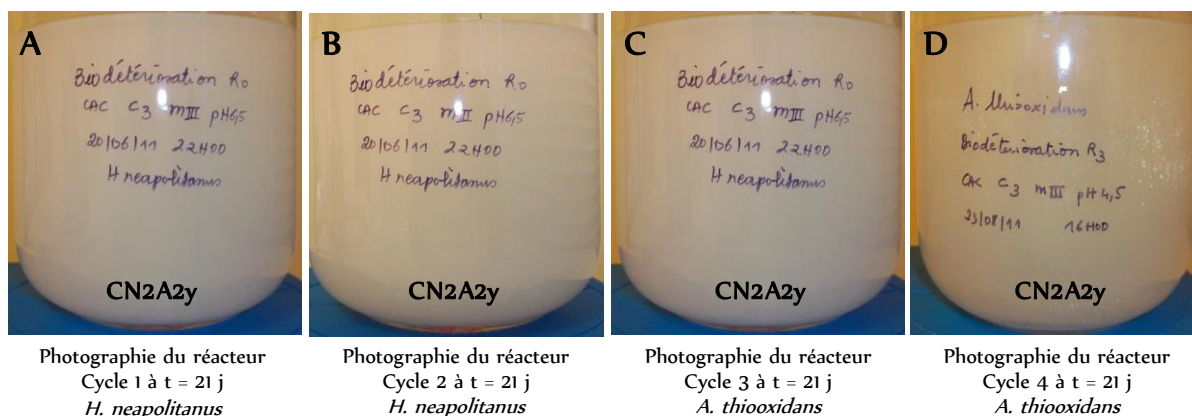


Figure 193 : État du milieu réactionnel au cours de la biodétérioration de mortiers CAC par la succession bactérienne.

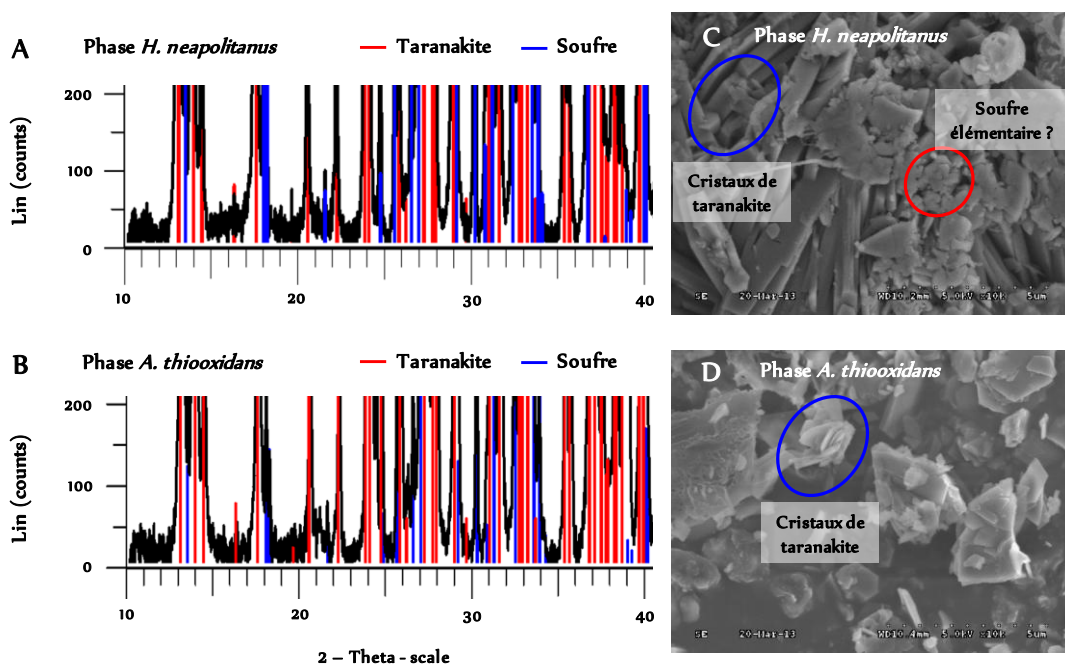


Figure 194 : Analyse DRX des précipités obtenus dans les milieux réactionnels à la fin des cycles de biodétérioration des mortiers CAC par *H. neapolitanus* (A) et *A. thiooxidans* (B). Analyses MEB des précipités (C) avec *H. neapolitanus* et (D) avec *A. thiooxidans*.

En outre, au cours de la phase neutrophile, la masse de précipité contenue dans la solution est relativement constante et équivalente à celle des cycles 1 et 2 de l'essai de biodétérioration avec *H. neapolitanus*. Par contre, pendant la phase acidophile, la masse de précipité augmente, elle est 1 à 3 fois plus importante que celle précipitée au cours de la phase neutrophile de l'essai avec la succession bactérienne et 5 à 11 fois plus importante que celle précipitée au cours de l'essai avec *A. thiooxidans* (Tableaux 28, 40 et 53).

	<i>H. neapolitanus</i>		<i>A. thiooxidans</i>	
	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Masse de précipité (g)	1,05	1,04	1,33	2,78
% de taranakite par analyses DRX/RIETVELD	77,00	77,00	93,00	93,00
Masse de taranakite correspondante (g)	0,80	0,80	1,23	2,58
% de soufre par analyses DRX/RIETVELD	23,00	23,00	7,00	7,00
Masse de soufre correspondante (g)	0,24	0,24	0,09	0,19
Quantité de soufre correspondante (mmol)	7,49	7,42	2,89	6,06

Tableau 53 : Analyses DRX/RIETVELD des précipités obtenus dans les milieux réactionnels au cours des cycles de biodétérioration avec la succession bactérienne. Quantités de taranakite et soufre accumulées dans les milieux.

L'effet mémoire des cycles antérieurs correspondant à la phase neutrophile est bien mis en évidence. On peut en effet supposer qu'il y a une accumulation de taranakite en solution plus importante

quand la couche de taranakite formée lors de la phase neutrophile se fragilise par une solubilisation partielle durant la phase acidophile. En effet, au cours de l'essai de biodétérioration, la taranakite apparue à la surface des mortiers CAC pendant la phase neutrophile (*H. neapolitanus*) a progressivement disparu au cours de la phase acidophile (*A. thiooxidans*) (Figure 195).

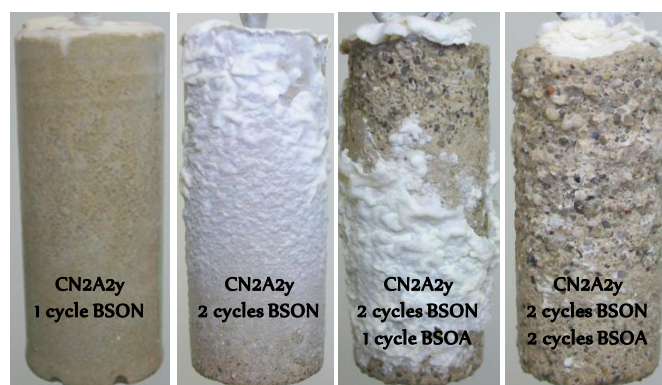


Figure 195 : Analyse visuelle de l'évolution de la couche de revêtement au cours des cycles de biodétérioration du mortier CAC par la succession de *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

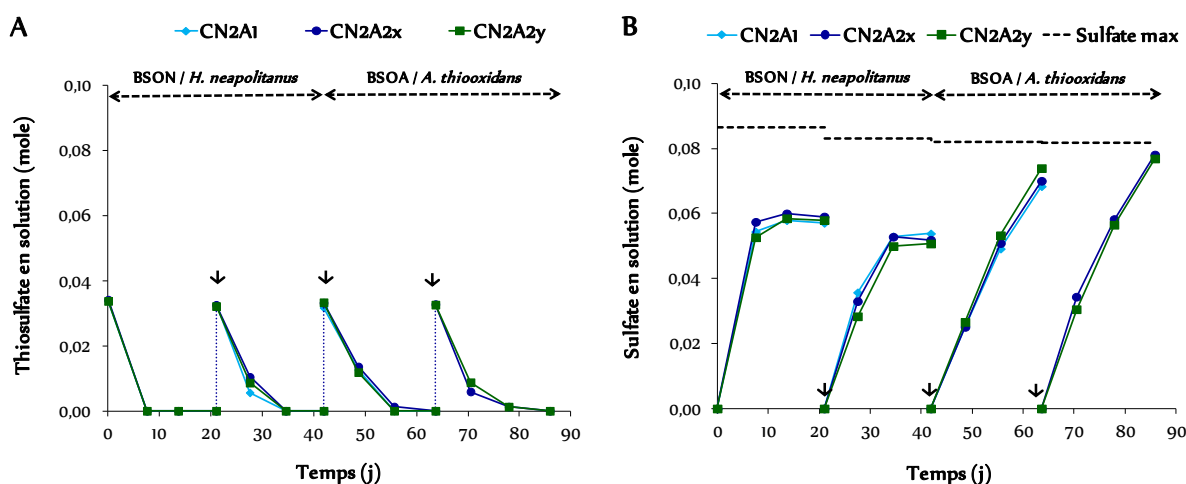


Figure 196 : Évolution des ions thiosulfate (A) et sulfate (B) en solution dans les milieux réactionnels au contact des mortiers CAC (CN2A1, CN2A2x, CN2A2y) au cours des cycles de biodétérioration par la succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans* (↓ renouvellement du milieu réactionnel).

La consommation de thiosulfates au cours de la succession bactérienne montre, comme pour le mortier OPC ou les essais de biodétérioration individuels, une répétabilité des essais (CN2A1, CN2A2x, CN2A2y) (Figures 83, 142 et 196). Il est évident que les deux premiers cycles, donc la phase neutrophile, ont un comportement identique à celui des deux premiers cycles de l'essai de biodétérioration avec *H. neapolitanus*. Les deux derniers cycles par contre, donc la phase acidophile, présentent des différences avec l'essai de biodétérioration avec *A. thiooxidans*. En effet, le soufre élémentaire est 5 à 11 fois plus précipité (ce dernier étant dans la solution) tandis que les sulfates

sont moins précipités dans le mortier. Ainsi, on devrait retrouver moins de phases sulfatées dans les zones superficielles des mortiers ayant subi la succession bactérienne comparée à ceux attaqués par *A. thiooxidans*.

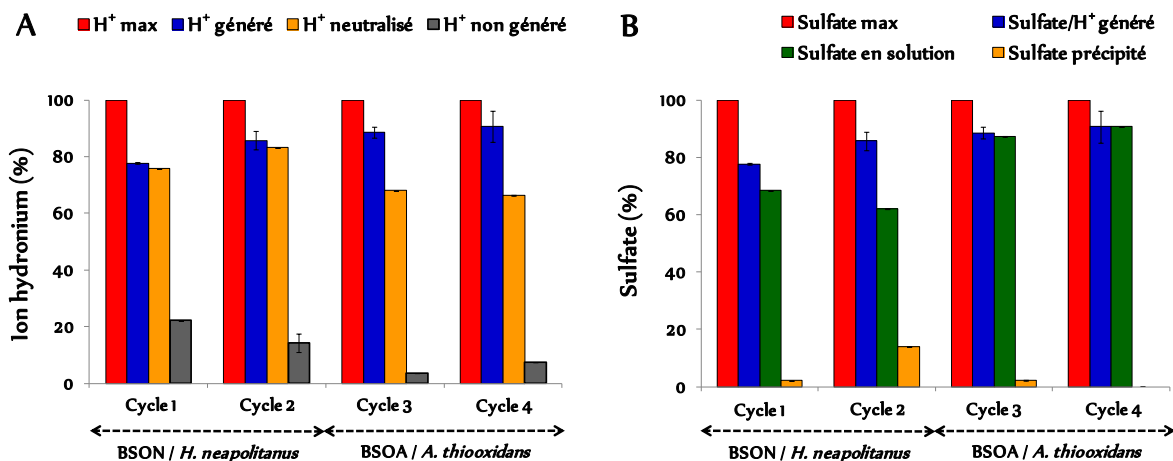


Figure 197 : A – Quantités d'ions hydronium générées par les BSO et neutralisées par le milieu et le mortier au cours de l'essai de biodétérioration. B - Quantité d'ions sulfates générées par les BSO, présentes en solution et précipitées dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Sulfate/H ⁺ attendu (mole)	8,66E-02 ± 5,99E-04	8,29E-02 ± 5,80E-04	8,19E-02 ± 2,23E-03	8,17E-02 ± 2,68E-04
Thiosulfate non-consommé (mole)	0	0	0	0
Tétrathionate accumulé (mole)	4,82E-03 ± 8,65E-05	2,95E-03 ± 6,34E-04	0	0
S ⁰ accumulé (mol)	7,49E-03	7,42E-03	2,89E-03	6,06E-03
Thiosulfate correspondant %	11,12 ± 0,14	7,11 ± 3,17	1,77 ± 0,10	3,71 ± 0,02
Sulfate/H ⁺ généré (mole)	6,73E-02 ± 3,54E-04	7,12E-02 ± 3,11E-03	7,26E-02 ± 2,84E-03	7,42E-02 ± 4,26E-03
Sulfate/H ⁺ généré (%)	77,75 ± 0,28	85,78 ± 3,17	88,63 ± 1,99	90,77 ± 5,51
Sulfate en solution (mole)	5,93E-02 ± 2,43E-03	5,29E-02 ± 1,38E-03	7,16E-02 ± 4,27E-03	7,86E-02 ± 7,90E-04
Sulfate en solution (%)	88,09 ± 3,90	72,45 ± 1,97	98,58 ± 2,14	100
Sulfate précipité dans mortier (mole)	1,85E-03 ± 8,24E-04	1,16E-02 ± 2,15E-03	1,84E-03 ± 2,26E-04	0
Sulfate précipité dans mortier (%)	2,75 ± 1,23	16,23 ± 2,53	2,53 ± 0,33	0
H ⁺ calculé à partir du pH (mole)	4,60E-04 ± 6,69E-05	8,54E-04 ± 3,32E-05	4,33E-03 ± 1,73E-03	7,34E-03 ± 5,25E-04
ΔH ⁺ [H ⁺ généré - H ⁺ calculé - H ⁺ neutralisé par le milieu] ou H ⁺ neutralisé par le mortier (mole)	6,56E-02 ± 3,15E-04	6,90E-02 ± 3,12E-03	5,57E-02 ± 2,01E-03	5,43E-02 ± 4,79E-03
H ⁺ neutralisé par le mortier (%)	97,45 ± 0,09	97,03 ± 0,14	76,71 ± 1,89	73,07 ± 2,26

Tableau 54 : Quantités de composés soufrés produites, accumulées et des quantités d'ions hydronium neutralisées par le milieu et le mortier OPC au cours des cycles de biodétérioration par la succession bactérienne.

Par ailleurs, de façon analogue aux essais individuels de biodétérioration (Chapitres 4 et 5), l'analyse de l'essai de succession montre qu'il y a plus d'ions sulfate en solution au cours de la phase acidophile ; ceci est certainement dû au fait que la production d'acide sulfurique y est plus importante, mais également que la quantité de soufre élémentaire contenue dans les précipités est moindre (Figures 196 et 197 A, tableau 53).

La moindre génération d'acide sulfurique au cours de la phase neutrophile est à relier à l'accumulation de tétrathionate et de soufre en solution (Figure 197 A ; tableau 54), comme ceci était le cas lors de l'essai de biodétérioration avec *H. neapolitanus*.

De même, comme pour le mortier OPC, la quantité d'ions hydronium neutralisée par le mortier diminue globalement dans le temps, due au relargage de moins en moins important d'ions basiques à partir de la dissolution des minéraux du mortier (Figure 197 A, tableau 54).

La quantité d'ions phosphate précipitée pendant la phase acidophile est 2 fois plus importante que celle précipitée pendant la phase neutrophile (Figure 198, tableau 55). Ainsi, le passage de la phase neutrophile à la phase acidophile, donc la diminution du pH du milieu réactionnel (de $3,2 < \text{pH} < 3,0$ à $1,9 < \text{pH} < 2,1$), entraîne une recrudescence de la formation de phases phosphatées. Cette dernière est due à la dissolution plus importante de phases alumineuses (telles que l'hydroxyde d'aluminium) non dissoutes lors des 2 cycles de la phase neutrophile.

Par ailleurs, la quantité d'ions phosphate précipitée pendant la phase acidophile est 2 fois plus importante que celle précipitée au cours des cycles 3 et 4 de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*. Cette quantité est également 4 – 6 fois plus importante que celle précipitée au cours de l'essai avec *H. neapolitanus*. De même, contrairement à l'essai de biodétérioration réalisé avec la BSO *A. thiooxidans*, les précipités phosphatés au cours de la phase acidophile sont majoritairement contenus dans le milieu réactionnel, notamment sous forme de taranakite (Tableaux 44 et 55).

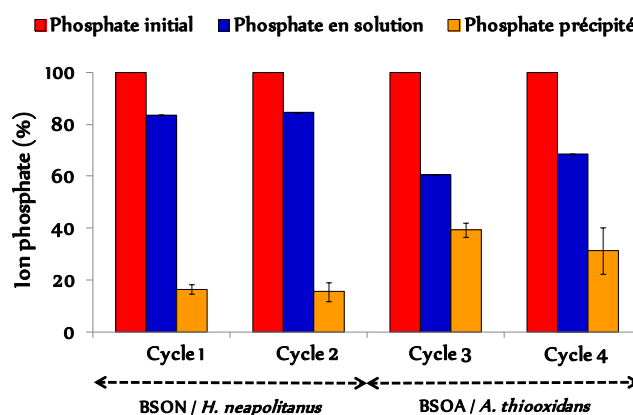


Figure 198 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 3
Phosphate initiale (mole)	4,74E-02 ± 3,28E-04	4,54E-02 ± 3,17E-04	4,48E-02 ± 1,22E-03	4,47E-02 ± 1,47E-04
Phosphate en solution (mole)	3,96E-02 ± 6,37E-04	3,84E-02 ± 1,41E-03	2,71E-02 ± 1,40E-03	3,07E-02 ± 3,87E-03
Phosphate en solution %	83,58 ± 1,87	84,54 ± 3,69	60,59 ± 2,78	68,57 ± 8,89
Phosphate précipité (mole)	7,79E-03 ± 9,40E-04	7,02E-03 ± 1,72E-03	1,77E-02 ± 1,40E-03	1,41E-02 ± 4,02E-03
Phosphate précipité %	16,42 ± 1,87	15,46 ± 3,69	39,41 ± 2,78	31,43 ± 8,89

Tableau 55 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration.

2.1.3. Le dénombrement bactérien

Le dénombrement des populations bactériennes montre également une répétabilité des essais (Figure 199). Toutefois, comme au cours des essais individuels de biodétérioration (BSO *H. neapolitanus* ou BSO *A. thiooxidans*), aucun dénombrement bactérien n'a pu être réalisé à 21 jours (contrairement aux échéances plus courtes) suite à la présence d'agrégats de bactéries.

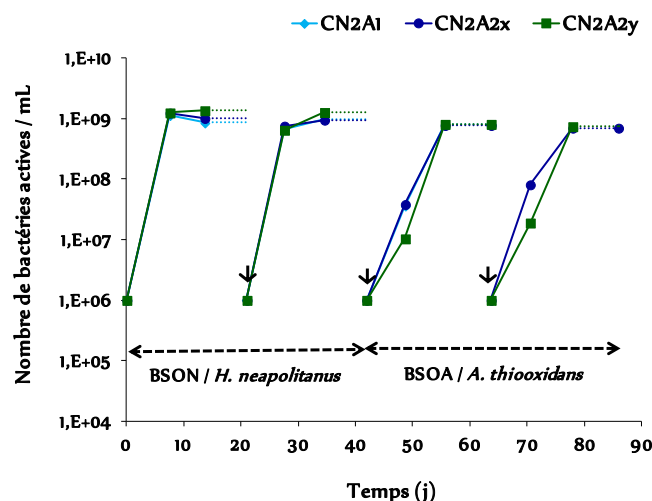


Figure 199 : Évolution du nombre de bactéries actives dans les milieux réactionnels en contact des mortiers CAC (CN2A1, CN2A2x, CN2A2y) au cours des cycles de biodétérioration par la succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans* (↓ renouvellement du milieu réactionnel).

2.1.4 L'évolution des éléments chimiques relargués en solution par le mortier

Comme au cours des essais de biodétérioration avec *A. thiooxidans* ou *H. neapolitanus* (Chapitres 4 et 5), les quantités d'Al relarguées en solution ont été corrigées avec les quantités de taranakite précipitées en solution (Tableau 53) selon la relation décrite au chapitre 4.

Les quantités d'Al réellement relarguées dans le milieu réactionnel, correspondant à l'Al.cor (Figure 200 A), sont 20 à 51 fois plus importantes que celles présentes en solution (Al) au cours de la phase neutrophile (Figure 200 A). Ceci est une conséquence de la faible solubilité de la taranakite qui fixe

la concentration en ions aluminate de la solution. Cet écart est largement réduit au cours de la phase acidophile où les quantités d'Al.cor sont à peine 2 fois plus importantes que celles mesurées en solution (Al) (Figure 200 A). Ce résultat est à relier avec l'augmentation de la solubilité de la taranakite avec le pH sachant que le milieu n'est pas à l'équilibre et donc un peu sursaturé par rapport à la taranakite.

De manière générale, les relargages des éléments Ca, Al, Si et Fe au cours de la phase neutrophile sont équivalents à ceux réalisés au cours des cycles 1 et 2 de l'essai de biodétérioration avec *H. neapolitanus* (Figures 147 et 200). Comme attendu, les relargages en solution des éléments Ca, Fe et Al sont moins importants au cours de la phase neutrophile comparée à la phase acidophile (Figure 202). La performance de la phase acidophile est liée aux pH plus bas des milieux réactionnels. En effet, les dissolutions des phases calciques, ferriques et alumineuses sont fonction du pH des milieux (Figure 150).

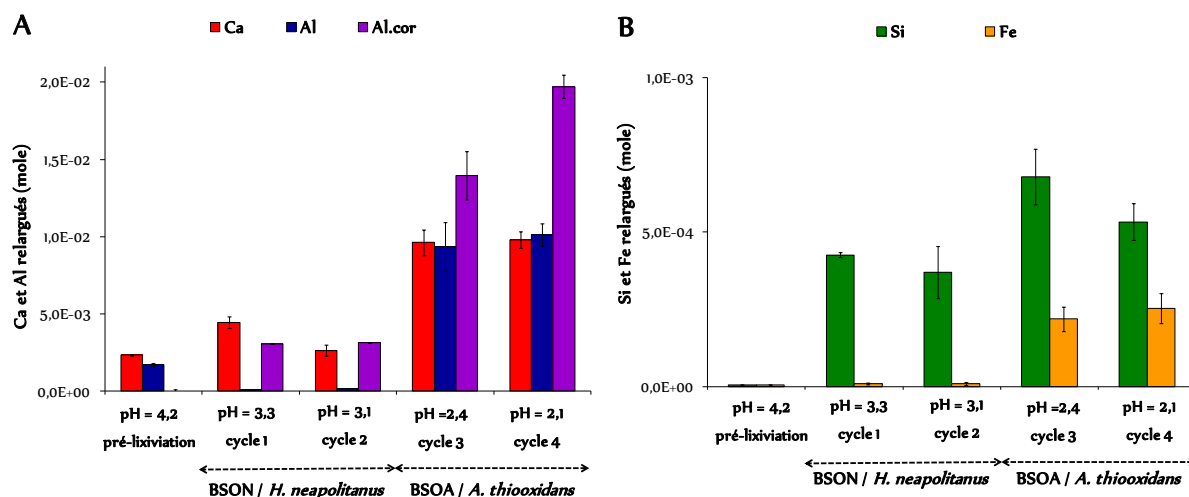


Figure 200 : Quantités de Ca, Si, Al, et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC au cours de la pré-lixiviation et de la succession de *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

Par ailleurs, au cours de la phase acidophile, la quantité d'Al relarguée dans le milieu (Al.cor) est en moyenne 2 fois plus importante que celle évaluée au cours des cycles 3 et 4 de l'essai de biodétérioration avec *A. thiooxidans*. Ce résultat montre bien que les phases alumineuses sont très peu dissoutes au cours de la phase neutrophile, d'où le relargage important d'Al en solution dès le passage à la phase acidophile. Ainsi, comme le révélait l'évolution des mortiers CAC au cours de l'attaque par *H. neapolitanus*, l'accumulation importante de phases alumineuses conduit à une forte augmentation de la dissolution de ces phases dès le passage à la phase acidophile.

En outre, les mesures ICP-AES ont indiqué au cycle 3 de l'essai de biodétérioration du mortier CN2A2y une concentration maximale en Al présent en solution (Al) de 306 ppm, soit 1,1E-02 mol/L. Toutefois, dans le cadre de l'étude présente, cette dernière ne semble affecter ni le développement, ni

la croissance des bactéries *A. thiooxidans*, qui au contraire ont une production quasiment maximale d'acide sulfurique ($7,56\text{E-}02$ mol/L soit 92,6%).

Contrairement au mortier OPC, le passage de la phase neutrophile à la phase acidophile induit une augmentation des vitesses de relargage de tous les éléments, en particulier l'Al et le Ca (Figure 201).

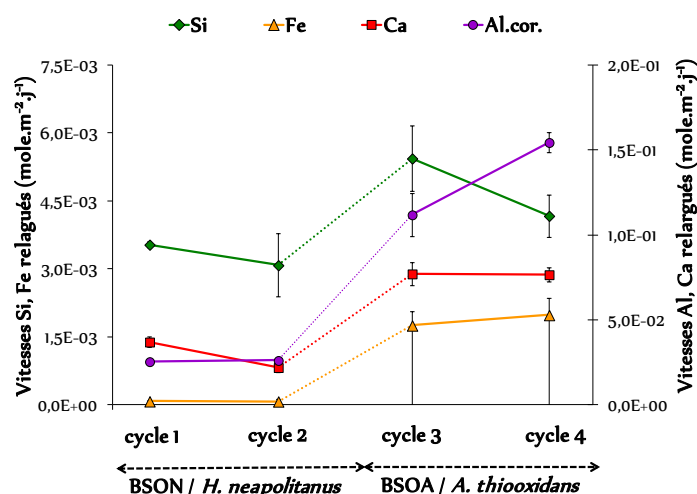


Figure 201 : Vitesses moyennes de relargage en solution des éléments Si, Al, Fe et Ca par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par la succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

Les vitesses de relargage du Si et du Fe au cours des cycles de biodétérioration sont très faibles du fait que la pâte du ciment CAC en contient très peu. Néanmoins, les vitesses de relargage augmentent également après le passage à la phase acidophile en raison de la diminution du pH du milieu (Figure 201).

Ainsi, la dissolution des phases cimentaires du mortier CAC est fonction de la BSO présente en solution :

Phase neutrophile *H. neapolitanus* : $\text{pH} > 3 \rightarrow \downarrow \text{AH}_3$, Taranakite

Formation d'une couche floconneuse de taranakite à la surface du mortier

Précipitation de AH_3 dans la couche superficielle du mortier

Phase acidophile *A. thiooxidans* : $\text{pH} < 3 \rightarrow \text{AH}_3$, Taranakite

Dissolution de la couche de $\downarrow$ Taranakite $\rightarrow \uparrow$ Relargage de l'Al en solution

Dissolution de $\downarrow \text{AH}_3 \rightarrow \uparrow$ Relargage de l'Al en solution

De plus, les analyses MEB/EDS réalisées au cours des essais de biodétérioration par *H. neapolitanus* et par *A. thiooxidans* permettent de confirmer ces hypothèses. En effet, à la fin de l'essai de biodétérioration par *H. neapolitanus* la couche la plus superficielle du mortier CAC

renferme une grande quantité d'hydroxyde d'aluminium (AH_3) (Figures 159) contrairement à l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans* où la couche la plus superficielle du mortier CAC renferme des restes de grains de titanate de calcium, phase la plus résistante du mortier CAC (Figures 104).

A titre indicatif, comme au cours des essais de biodétérioration par les BSO *A. thiooxidans* et *H. neapolitanus*, les fractions cumulées des éléments relargués en solution ont été représentées en fonction du temps et de la racine carrée du temps. Le passage de la phase neutrophile à la phase acidophile entraîne un changement de régime de relargage pour les éléments Ca, Al et Fe. Seul le relargage du Si ne semble pas changer de régime (Figures 202 et 203). Les courbes ont été traitées en deux demi-courbes correspondant à chacune des étapes de la succession.

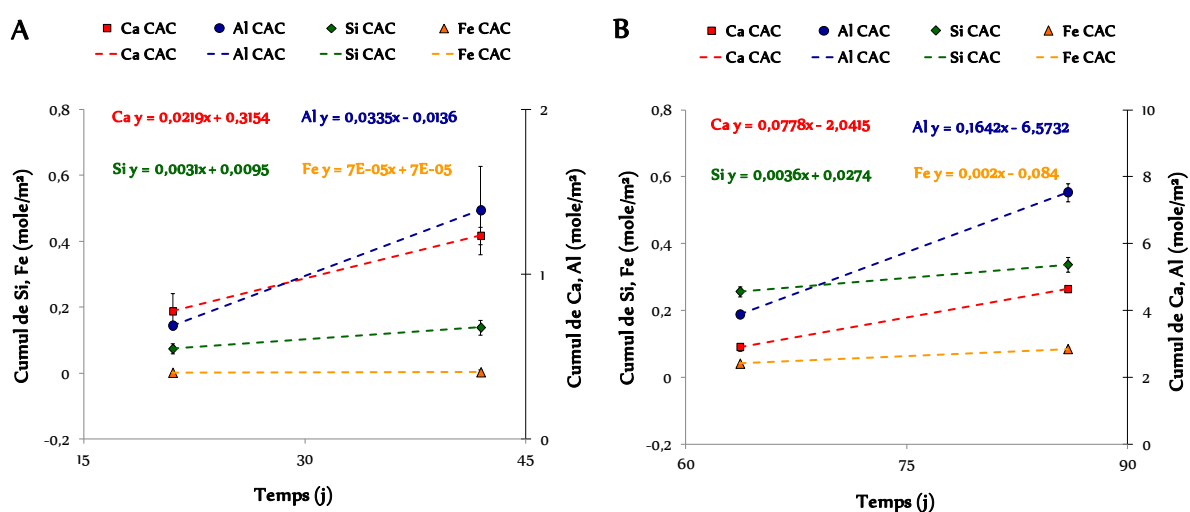


Figure 202 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC après la biodétérioration par la phase *H. neapolitanus* (A) ou la phase *A. thiooxidans* (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction du temps.

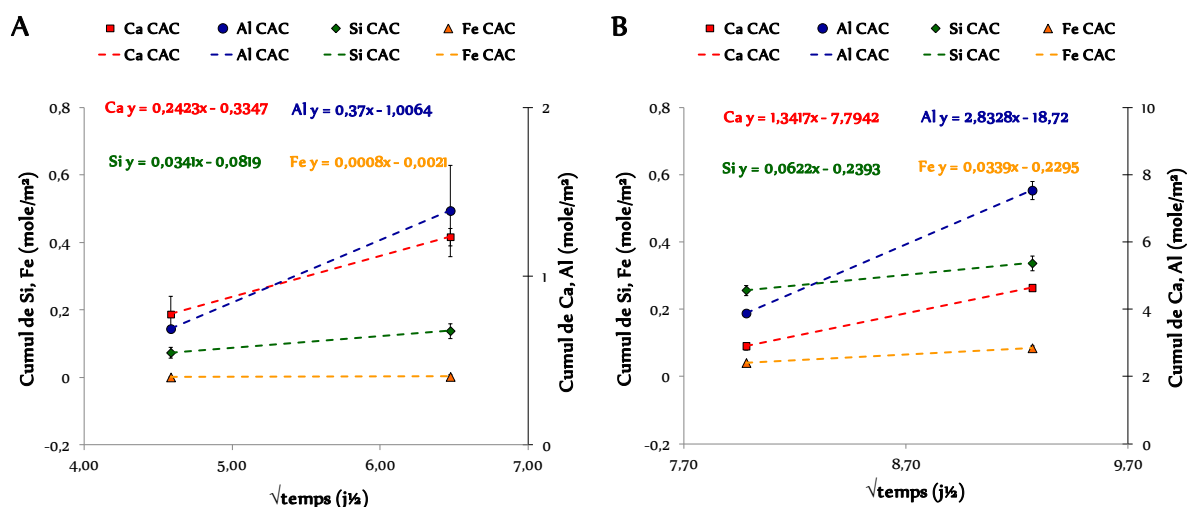


Figure 203 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC après la biodétérioration par la phase *H. neapolitanus* (A) ou la phase *A. thiooxidans* (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la racine carrée du temps.

Par ailleurs, au cours des cycles de biodétérioration, la proportionnalité entre la quantité de Ca relarguée dans le milieu et la quantité d'ions hydronium produite par les BSO ou neutralisée par le mortier est moins évidente que dans le cas du mortier OPC (Figures 204 et 205). La dissolution des phases calciques dans ce mortier dépend de la quantité d'ions hydronium mais ici il y a aussi une contribution du pH. Il en est de même pour l'Al (Figures 204 et 205).

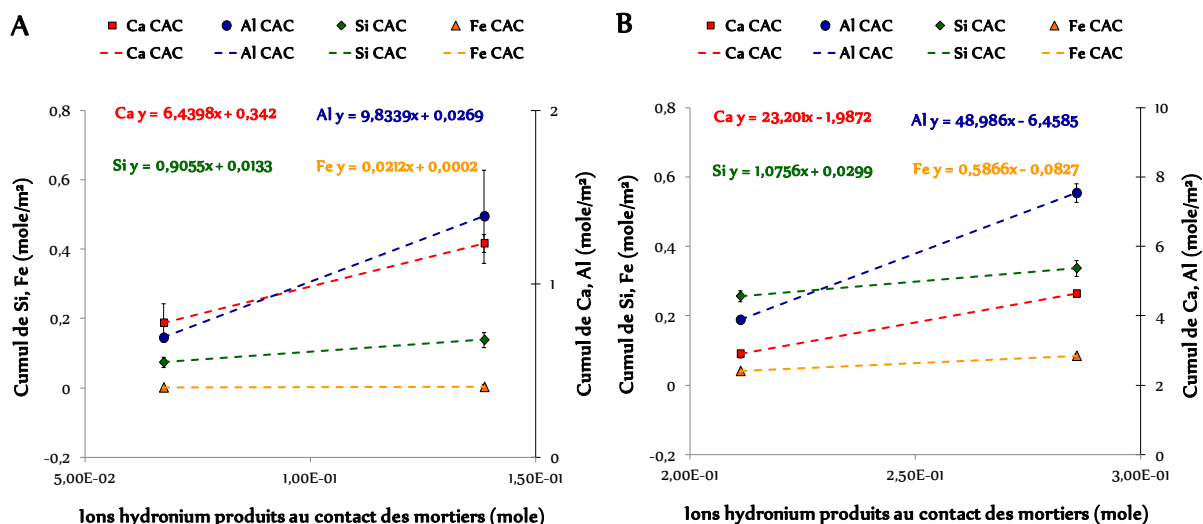


Figure 204 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC après la biodétérioration par la phase *H. neapolitanus* (A) ou la phase *A. thiooxidans* (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium générée par les bactéries.

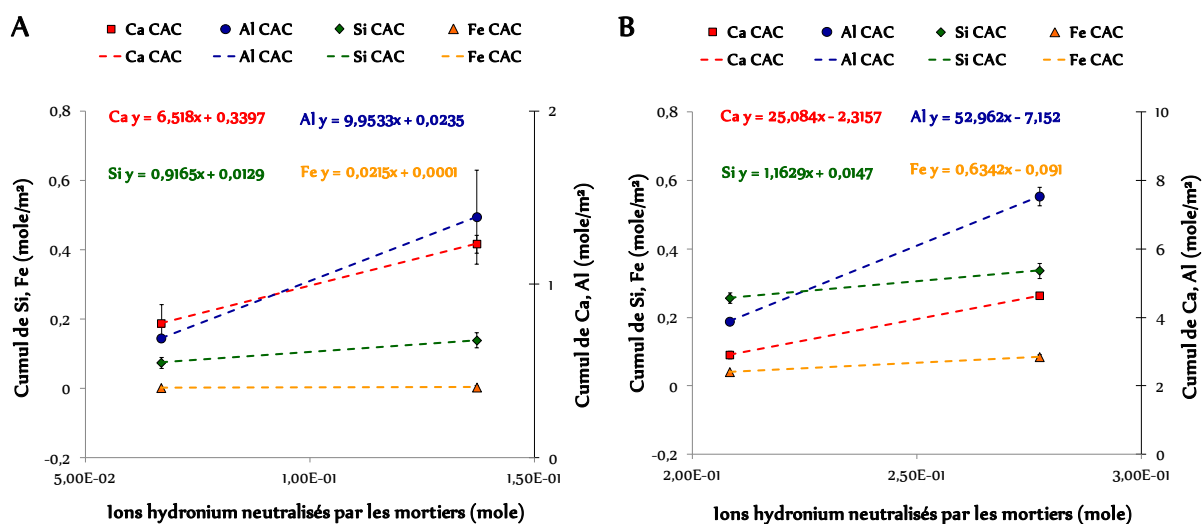


Figure 205 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC après la biodétérioration par la phase *H. neapolitanus* (A) ou la phase *A. thiooxidans* (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium neutralisée par les mortiers.

2.2. L'évolution du mortier

2.2.1. L'analyse macroscopique

L'analyse macroscopique des mortiers n'a révélé aucun biofilm à la surface des mortiers CAC, comme pour les mortiers CAC attaqués par *A. thiooxidans* ou *H. neapolitanus* (Figures 93, 140 et 206). La couche de taranakite formée à la surface des mortiers au cours de la phase *H. neapolitanus* a persisté après le premier cycle de la phase *A. thiooxidans* (CN2A1) avant de complètement disparaître après le deuxième cycle (CN2A2y) (Figure 206). Parallèlement, une quantité importante de taranakite a été retrouvée dans le milieu réactionnel (Tableau 53). Ainsi, les mortiers ayant subi la succession bactérienne, à l'opposé de ceux ayant été attaqués par *A. thiooxidans*, ont une surface dépourvue de taranakite.

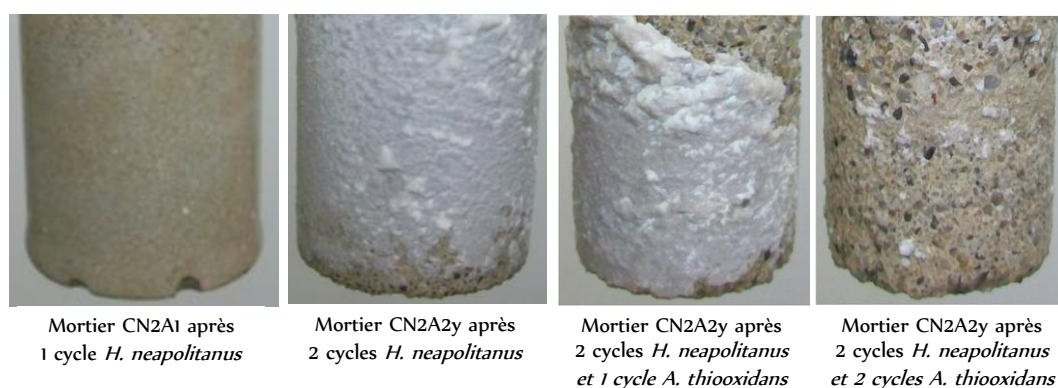


Figure 206 : Mortier CAC après 3 cycles et 4 cycles de biodétérioration par la succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

La surface des mortiers ayant subi la succession bactérienne est moins rugueuse que celle des mortiers attaqués par *A. thiooxidans* (Figure 93 et 206). Ces mortiers semblent également moins altérés que des mortiers attaqués par *A. thiooxidans*. Par ailleurs, les mortiers ayant subi 4 cycles de biodétérioration (3 mois) (CN2A2x, CN2A2y) sont plus altérés que celui ayant subi 3 cycles de biodétérioration (2,25 mois) (CN2A1) (Figure 206).

L'observation des sections transversales des mortiers indique la présence de deux zones également retrouvées dans le mortier attaqué par *A. thiooxidans* ou *H. neapolitanus* : une zone fine de couleur marron d'environ 0,8 – 1 mm située à la périphérie du mortier et une zone de couleur claire plus épaisse, d'environ 2,7 – 2,8 cm, constituant le cœur du mortier (Figure 207). Ces zones sont plus importantes que celles des mortiers ayant été attaqués par la BSO *A. thiooxidans*. Par ailleurs, le cœur du mortier attaqué par la succession est moins important que celui du mortier attaqué par la BSO *H. neapolitanus*.

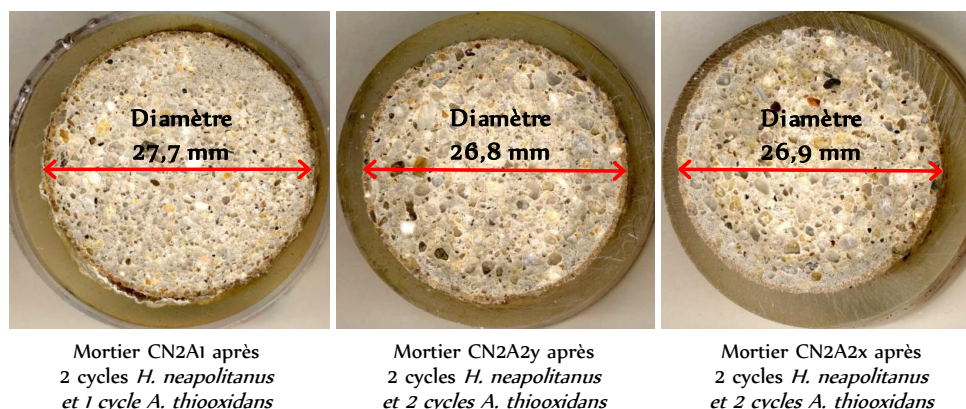


Figure 207 : Coupes transversales des mortiers CAC CN2A1, CN2A2y et CN2A2x après 3 ou 4 cycles de biodétérioration par la succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

Après les cycles de biodétérioration, l'épaisseur complètement détériorée a été déterminée comme réalisé pour l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans* et *H. neapolitanus* (Tableau 56).

Après l'essai de la succession bactérienne, les mortiers ont une épaisseur totale complètement détériorée sensiblement équivalente à celle des mortiers attaqués par *A. thiooxidans* et 5 - 7 fois plus importante que celle des mortiers attaqués avec *H. neapolitanus*.

	Diamètre après pré-lixiviation (mm)	Épaisseur détériorée (mm)	Diamètre après biodétérioration (mm)	Épaisseur biodétériorée (mm)	Épaisseur perdue par le mortier (mm)	Vitesse de détérioration (mm/an)
CN2A1	28,79 ± 0,13	0,11 ± 0,06	27,70 ± 0,14	0,55 ± 0,07	0,65 ± 0,10	3,68 ± 0,8
CN2A2y			26,82	0,98	1,09	4,71
CN2A2x			26,86 ± 0,06	0,97 ± 0,03	1,07 ± 0,04	4,62 ± 0,24

Tableau 56 : Mesure des diamètres, des épaisseurs perdues et des vitesses de détérioration des mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par une succession de *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

2.2.2. L'analyse microscopique

2.2.2.1 Le mortier CN2A2y (4 cycles de biodétérioration / 3 mois)

Les analyses MEB/EDS et les cartographies réalisées sur le mortier CN2A2y (Figures 208 - 211) indiquent la présence de 4 zones semblables à celles du mortier CA4y, mortier attaqué par la BSO *A. thiooxidans*. Toutefois, le mortier CN2A2y n'a pas de couche de taranakite à sa surface, car cette dernière est progressivement passée en solution. Ainsi, de la surface au cœur du mortier, on trouve :

- La zone 1 ou zone endommagée également identifiée dans les mortiers CA4y, CA2, CN4y et CN2. Elle est très poreuse et a une épaisseur (0,6 – 0,9 mm) plus importante que celle des mortiers CA4y, CA2 ou CN2. Comme le mortier CA4y, elle est constituée de grains de

titanate de calcium dans sa partie la plus extérieure (Figures 208 - z_{a-c} et 209 A), de variscite (Figures 209 A), d'hydroxyde d'aluminium et de gel de silice (Figure 209 B).

- La zone 2 ou zone dégradée, poreuse également identifiée dans les mortiers CA4y, CA2, CN2 et CN4y. Elle a une épaisseur d'environ 0,2 mm, du même ordre que celle du mortier CA4y (Figure 208 - z_{d-e}). Elle contient également des grains de titanate de calcium, de la variscite (Figure 209 C), du gel de silice (Figure 209 C), de l'hydroxyde d'aluminium (Figure 209 C), du gypse (Figure 209 D) et de l'ettringite. Les rapports Ca/Al dans cette zone sont de l'ordre de 0,1 – 0,2, inférieure à ceux du mortier CA4y (0,3 – 0,4). Par ailleurs, contrairement aux mortiers CA4y, des quantités négligeables de chlore (0,1 – 0,6 %) y ont été identifiées.
- La zone 3 ou zone faiblement altérée est identique à celle des mortiers CA4y, CA2, CN2 ou CN4y. Elle a une épaisseur d'environ 0,5 – 0,8 mm, inférieure à celle du mortier CA4y mais supérieure à celle du mortier CN2 (Figure 208 - z_{f-g}). Comme dans ce dernier, la zone faiblement altérée est dépourvue de phosphore et contient de faibles quantités de soufre. Elle contient des grains de titanate de calcium, de l'hydroxyde d'aluminium (Figure 209 E), des hydrogénats/stratlingite et du monosulfoaluminate de calcium hydraté. Les rapports Ca/Al dans cette zone sont de l'ordre de 0,5 – 0,6, du même ordre que ceux du mortier CA4y (0,6 – 0,7) d'où la présence des hydrogénats/stratlingite (Figure 209 E).
- La zone 4 ou cœur du mortier a la même composition que celle des mortiers CA4y, CA2, CNAy et CN2. En effet, cette zone est dépourvue de soufre et contient des rapports Ca/Al compris entre 0,7 et 0,8 du même ordre que ceux d'un mortier sain. Elle contient des grains de titanate de calcium, de l'hydroxyde d'aluminium et des hydrogénats/stratlingite.

L'épaisseur altérée mesurée par MEB/EDS a été estimée à $1,6 \pm 0,1$ mm. L'épaisseur totale attaquée est de $2,6 \pm 0,1$ mm. Elle correspond à l'attaque de 36% du volume initial du mortier CN2A2y (63 x 29 mm) et à une vitesse d'attaque de $11,4 \pm 0,8$ mm/an. Ainsi, l'essai de biodétérioration prenant en compte la succession bactérienne est quasiment équivalent à celui réalisée avec *A. thiooxidans* seul. En effet, dans l'essai de biodétérioration avec *A. thiooxidans* la vitesse d'attaque de $13,0 \pm 2,9$ mm/an et 40% du mortier est attaqué.

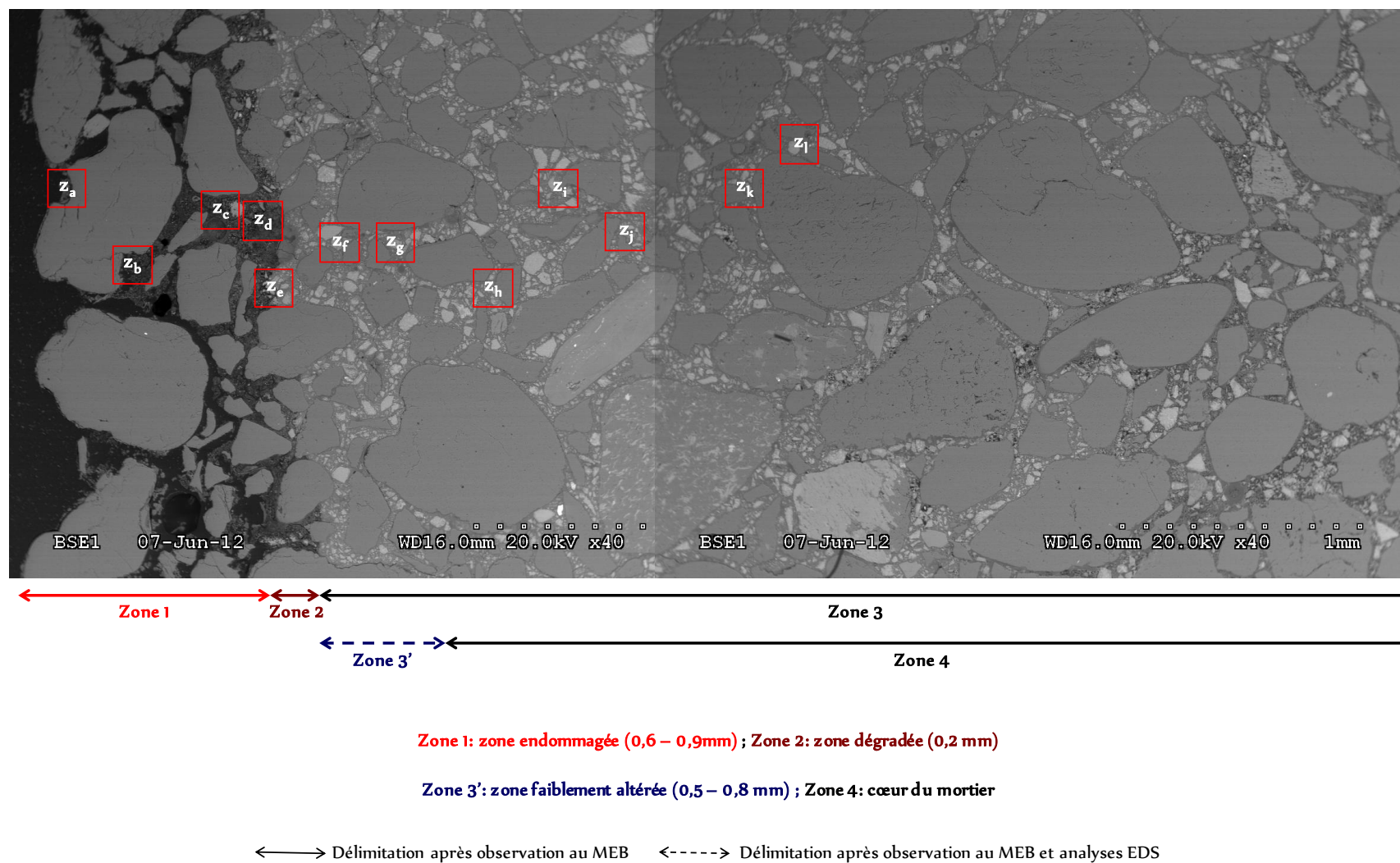


Figure 208 : Observations au MEB du mortier CAC CN2A2y après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 2 cycles par *A. thiooxidans*.

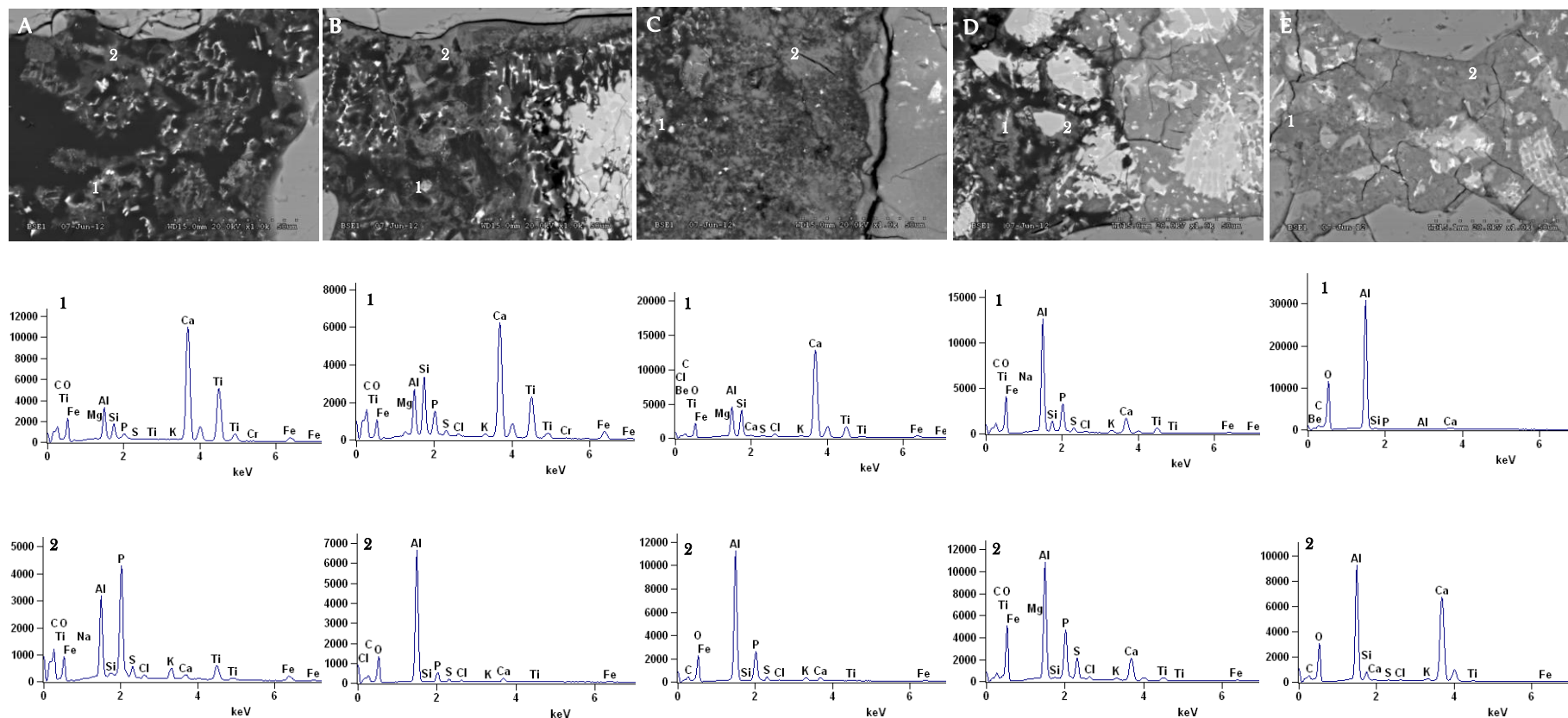


Figure 209 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CN2A2y après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 2 cycles par *A. thiooxidans*.

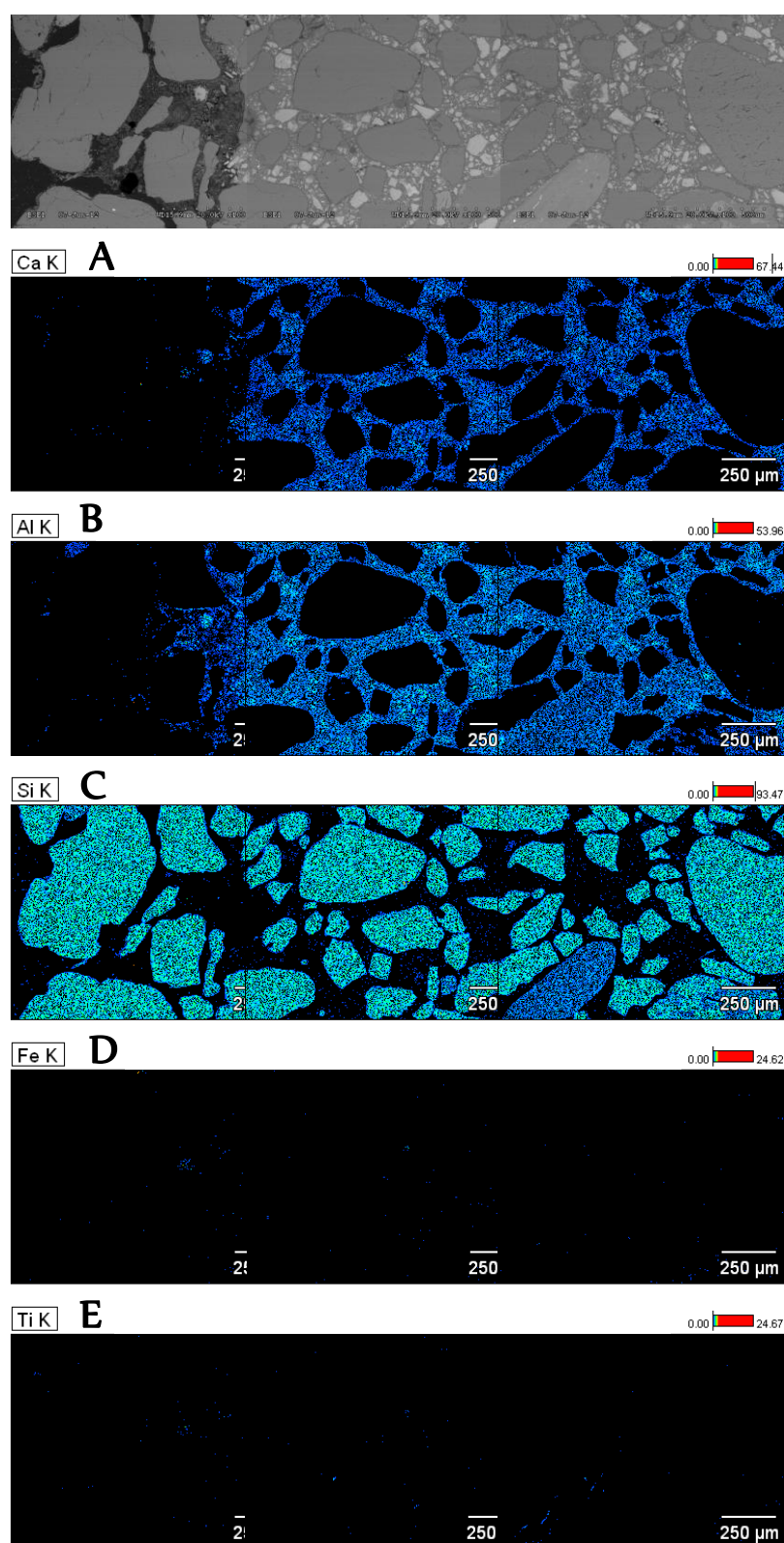


Figure 210 : cartographies des éléments Ca, Si, Al, Fe et Ti contenus dans la bordure du mortier CAC CN2A2y après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 2 cycles par *A. thiooxidans*.

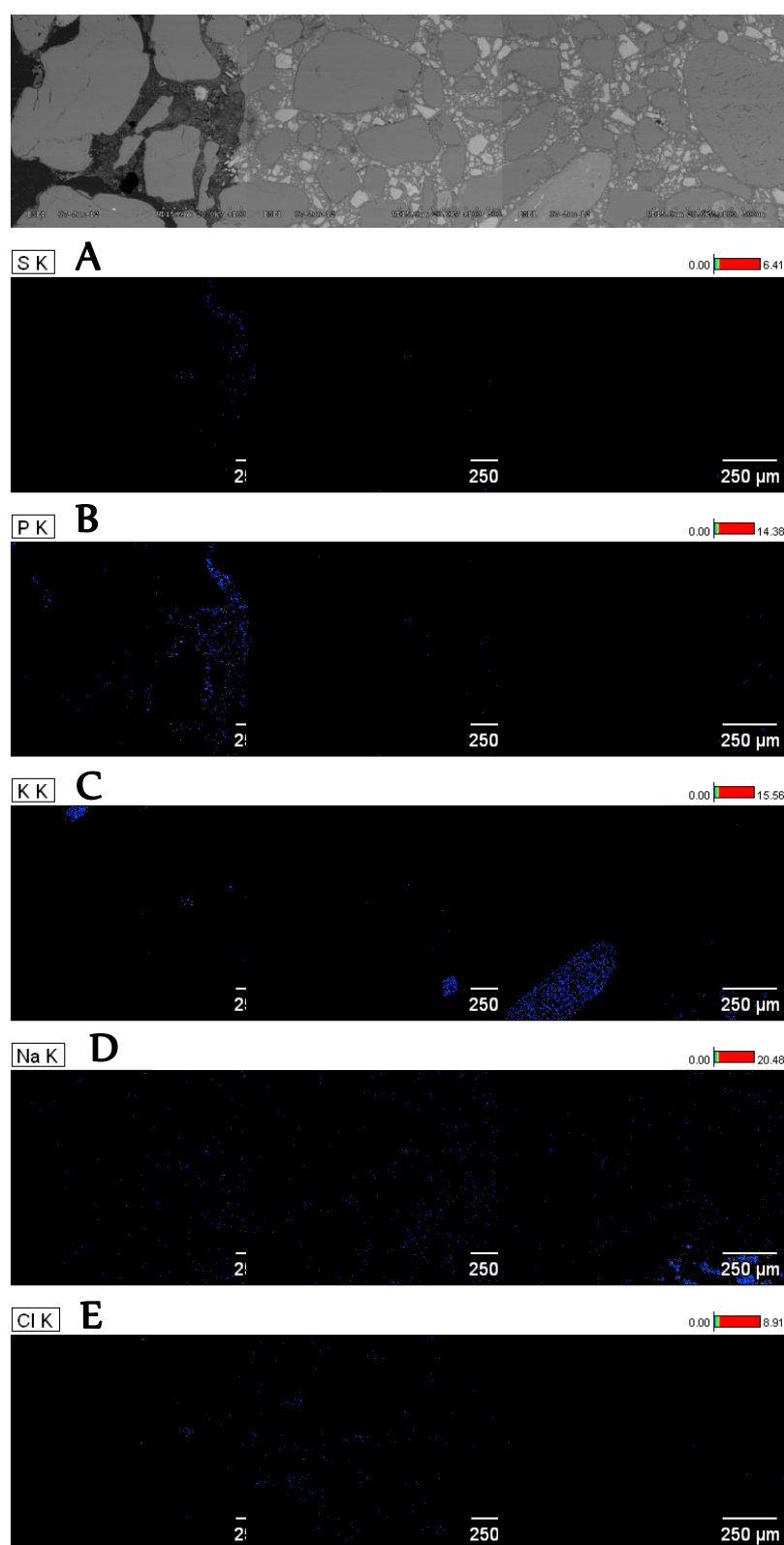


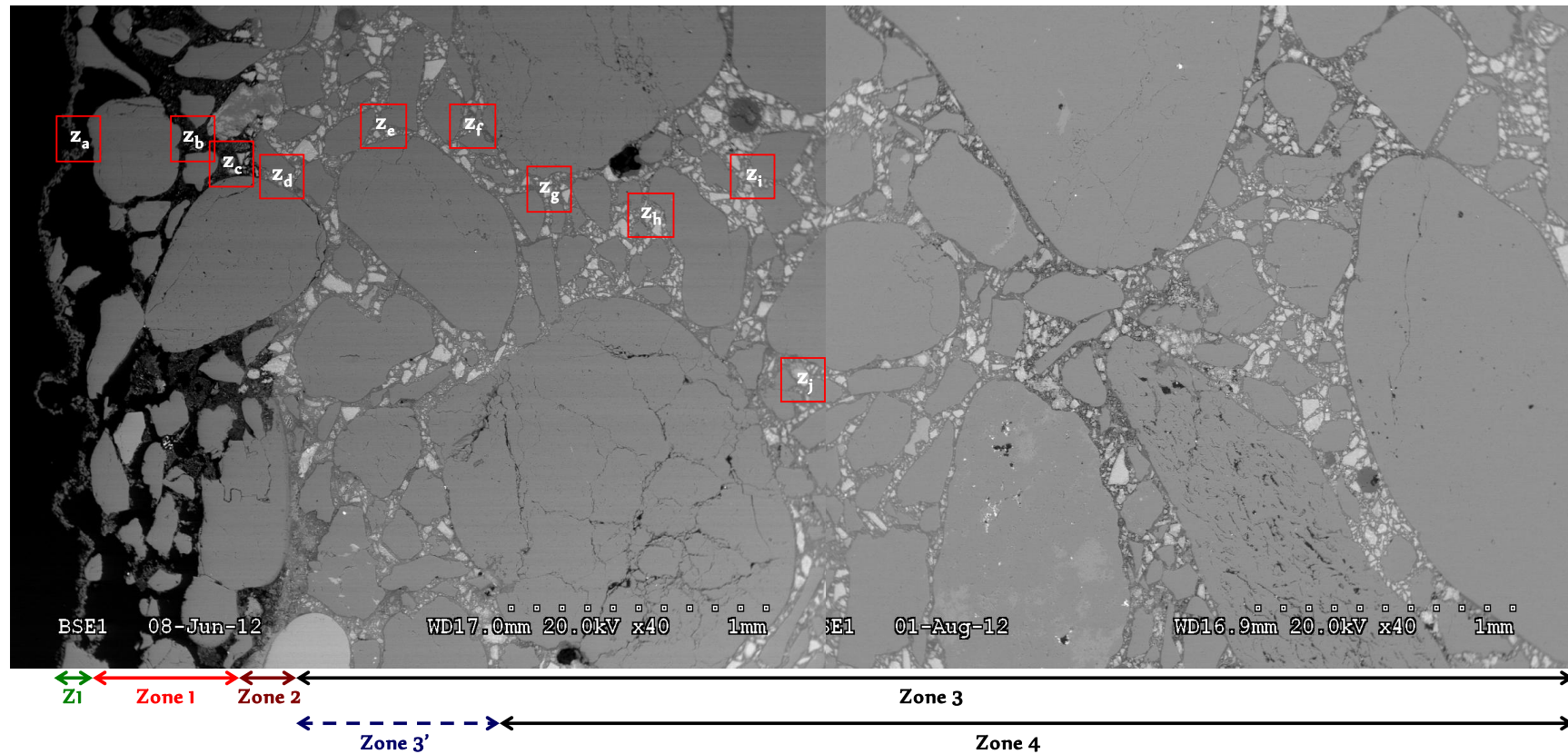
Figure 211 : Cartographies des éléments S, P, K, Na et Cl contenus dans la bordure du mortier CAC CN2A2y après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 2 cycles par *A. thiooxidans*.

2.2.2.2 Le mortier CN2A1 (2 cycles par *H. neapolitanus* et 1 cycle par *A. thiooxidans*)

Le mortier CN2A1 se compose des 4 mêmes zones détériorées que le mortier CN2A2y. Toutefois, contrairement au mortier CN2A2y (4 cycles), le mortier CN2A1 (2 cycles) a une couche de taranakite à sa surface (Figure 212). Ainsi :

- La zone 1 ou couche de revêtement qui comme dans le mortier CN4y ou CA4y est exclusivement constituée de taranakite (Figures 212 - z_a et 214 A).
- La zone 2 ou zone endommagée dont l'épaisseur (0,4 - 0,5 mm) est inférieure à celle du mortier CN2A2y (Figures 212 - z_b), est également constituée de titanate de calcium, de variscite, d'hydroxyde d'aluminium et de gel de silice (Figure 213 B).
- La zone 3 ou zone dégradée a une épaisseur (0,1 - 0,2 mm) du même ordre que celle du mortier CN2A2y (Figure 212 - z_c). Elle est également composée de titanate de calcium, de variscite, de gypse, d'ettringite, d'hydroxyde d'aluminium et de gel de silice (Figure 213 C).
- La zone 4 ou zone faiblement altérée a une épaisseur (0,9 mm) supérieure à celle du mortier CN2A2y (Figure 212 - z_{d-f}) et renferme également du titanate de calcium, de l'hydroxyde d'aluminium, des hydrogénats/stratlingite et de l'ettringite (Figure 213 D).
- La zone 5 ou cœur du mortier (Figure 212 - z_{g-j}) a la même composition que celle des mortiers CN2A2y, CN4y et CA4y.

L'épaisseur altérée a été estimée à $1,4 \pm 0,2$ mm et l'épaisseur totale attaquée à $2,0 \pm 0,3$ mm. Elle correspond à l'attaque de 28% du volume initial du mortier CN2A1 et à une vitesse d'attaque de $11,4 \pm 4,0$ mm/an. De façon analogue au mortier OPC, au cours de l'essai de succession bactérienne, la V_D du mortier CN2A1 ($1,0 \pm 0,2$ mm.an⁻¹.cm⁻³) est inférieure à celle du mortier CN2 ($1,5 \pm 0,6$ mm.an⁻¹.cm⁻³) et plus importante que celle du mortier CN2A2y ($0,8 \pm 0,1$ mm.an⁻¹.cm⁻³). Ainsi, comme pour l'essai de biodétérioration avec *A. thiooxidans* ou *H. neapolitanus*, la vitesse de l'attaque des mortiers CAC semble diminuer dans le temps. Cette diminution est liée à la progression de la porosité du mortier, donc de l'augmentation de la surface réactionnelle.



Zone 1: couche de revêtement (0,02 – 0,07 mm) ; Zone 1: zone endommagée (0,4 – 0,5 mm) ; Zone 2: zone dégradée (0,1 – 0,2 mm)

Zone 3': zone faiblement altérée (0,9 mm) ; Zone 4: cœur du mortier

←→ Délimitation après observation au MEB <-----> Délimitation après observation au MEB et analyses EDS

Figure 212 : Observations au MEB du mortier CAC CN2A1 après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 1 cycle par *A. thiooxidans*.

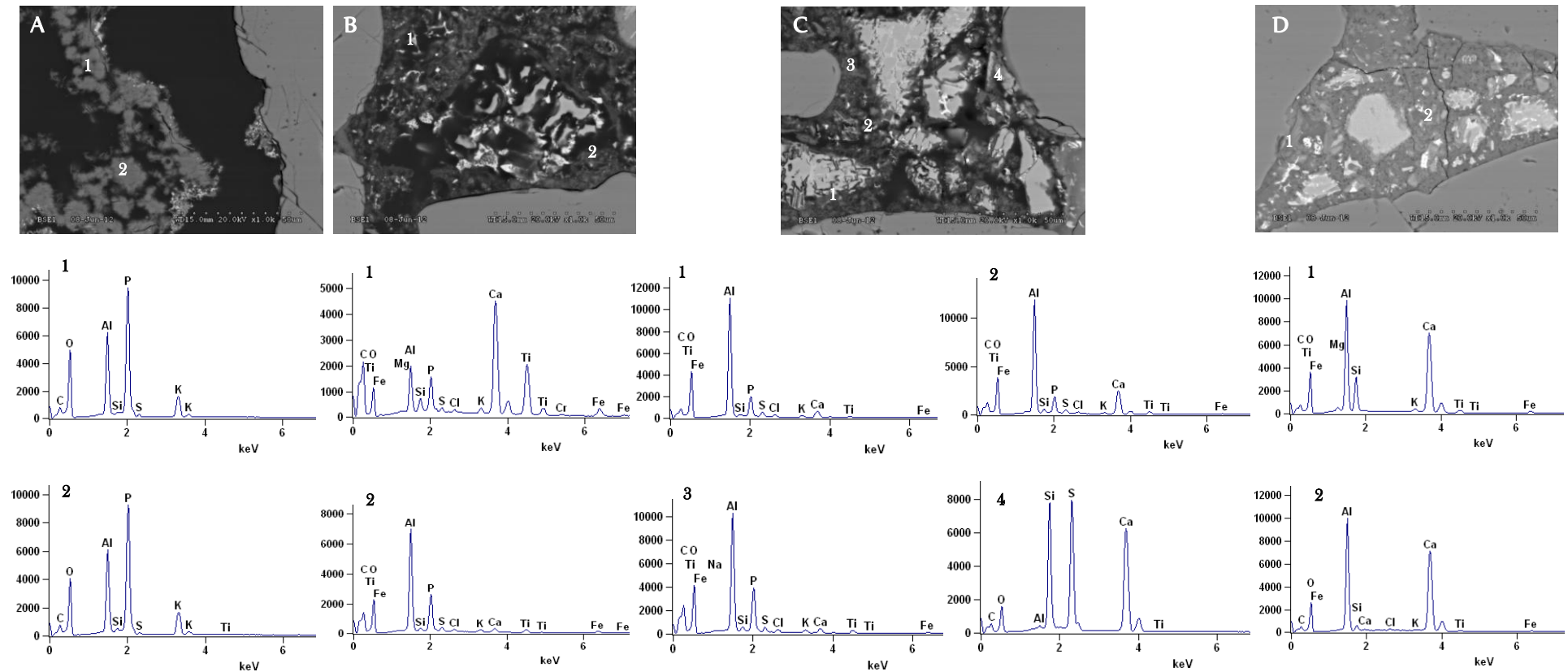


Figure 213 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CN2A1 après 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 1 cycle par *A. thiooxidans*.

2.2.2.3 L'évolution dans le temps du mortier CAC

Une analyse comparative des sections des mortiers CAC a révélé que le mortier CN2A2y est à un stade de détérioration plus avancé que le mortier CN2A1. En effet, l'épaisseur attaquée totale du mortier CN2A2y est de $2,6 \pm 0,1$ mm tandis que celle du mortier CN2A1 est de $2,0 \pm 0,3$ mm. Par ailleurs, le profil de détérioration du mortier CAC évolue dans le temps. La couche de revêtement présente pendant la phase neutrophile (mortier CN2) disparaît après deux cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans* (cycle 4). Parallèlement, une zone exclusivement composée de variscite et de grains de titanate de calcium apparaît à la périphérie du mortier (Figure 214).

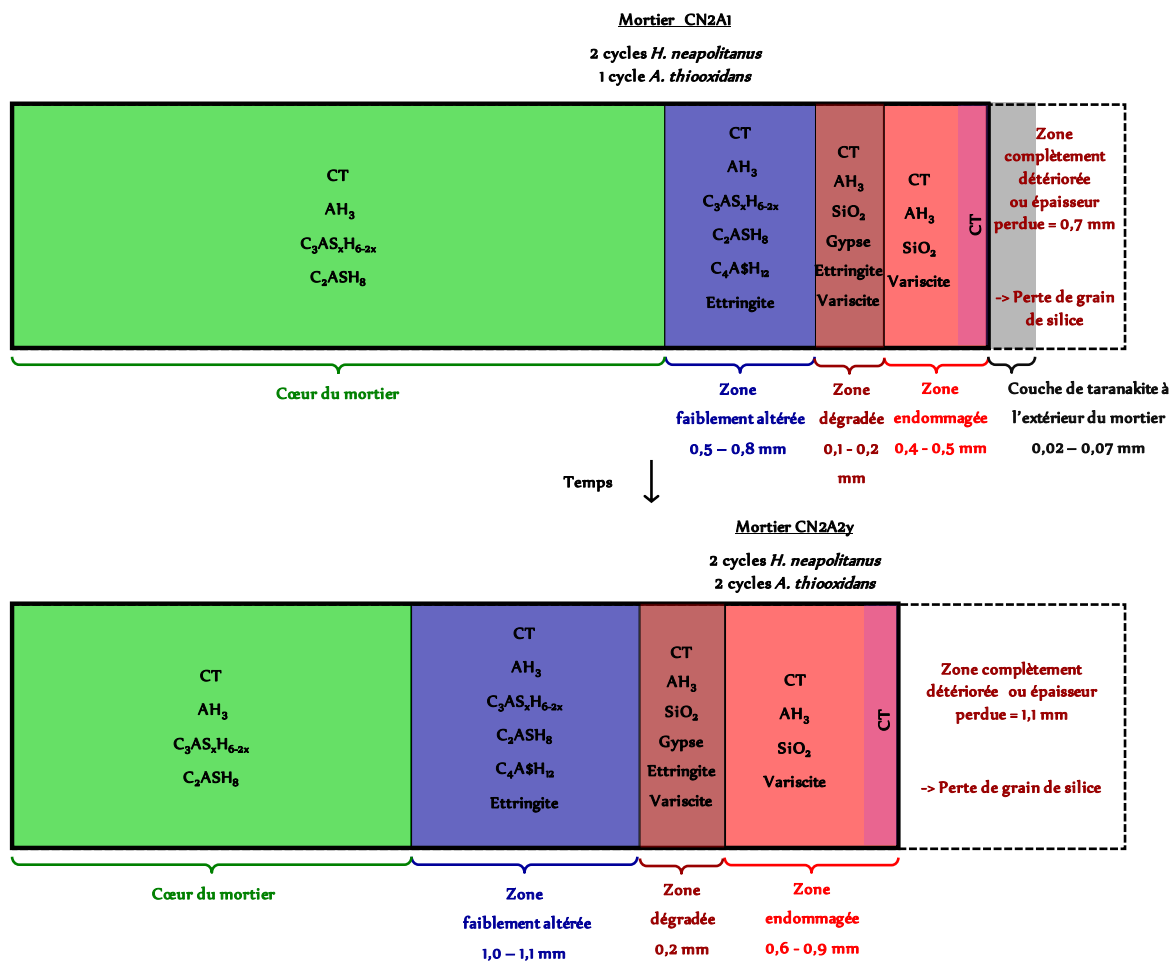


Figure 214 : Représentation schématique de la zonation des mortiers CN2A2y et CN2A1 après la succession bactérienne.

Comme les mortiers CAC attaqués par *A. thiooxidans* (CA4y et CA2) ou par *H. neapolitanus* (CN4y et CN2), les deux mortiers ont les mêmes zones détériorées, donc les mêmes profils de détérioration. Toutefois, dans l'essai présent, comme l'essai de biodétérioration avec *A. thiooxidans*, on observe une translation des zones attaquées vers le cœur. De plus, comme l'essai de biodétérioration avec *H. neapolitanus*, une augmentation des épaisseurs détériorées est également observée (Figure 215).

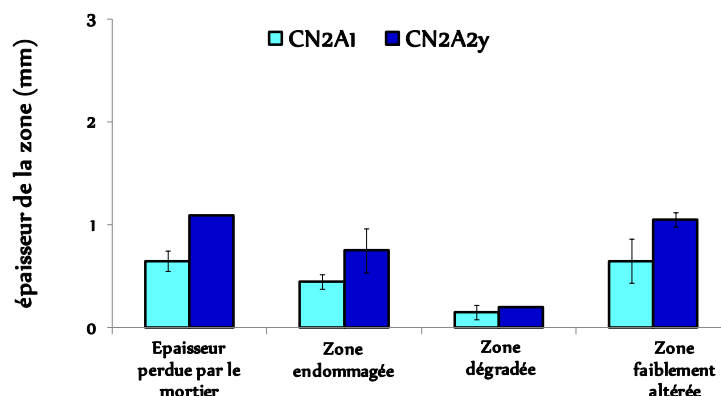


Figure 215 : Évolution dans le temps des épaisseurs des différentes zones composant le mortier CAC soumis à un essai de succession de BSO.

2.3. Conclusions

Contrairement au mortier attaqué par *A. thiooxidans*, la taranakite n'a pas été retrouvée à la surface des mortiers ayant subi la succession bactérienne, mortiers CN2A2y et CN2A2x. La taranakite présente à la surface de l'échantillon, mortier CN2, a complètement été accumulée dans la suspension. D'autre part, il a été constaté que la taranakite retrouvée à la surface du mortier CA4y n'avait pas la même texture que celle retrouvée à la surface des mortiers CN2, CN4y ou CN2A1 : celle recouvrant ces mortiers est plus compacte et plus rigide tandis que celle recouvrant les mortiers CA2 ou CA4y est poudreuse. L'absence de taranakite à la surface des mortiers CN2A2y pourrait s'expliquer par les différences de conditions de précipitation et de dissolution partielle de cette couche.

Des quantités plus importantes de taranakite ont été mesurées en solution au cours de la phase acidophile de la succession (CN2A2y) comparées à celles mesurées aux cycles 3 et 4 de l'essai de biodétérioration par la BSO *A. thiooxidans* (CA4y). Cette différence est à relier avec les relargages plus importants d'Al au cours de la phase acidophile de la succession (Figures 88 et 200). En effet, le relargage d'Al au cours de la phase acidophile de la succession bactérienne est jusqu'à 2 fois plus important que celui du cycle 3 et 4 de l'essai de biodétérioration par *A. thiooxidans*.

Le profil biodétérioré du mortier CN2A2y est équivalent à celui du mortier CA4y (Figures 104 et 214). Par ailleurs, les deux mortiers contiennent une partie extérieure exclusivement constituée de grains de titanate de calcium, témoin de l'intensité de l'attaque des BSO *A. thiooxidans*.

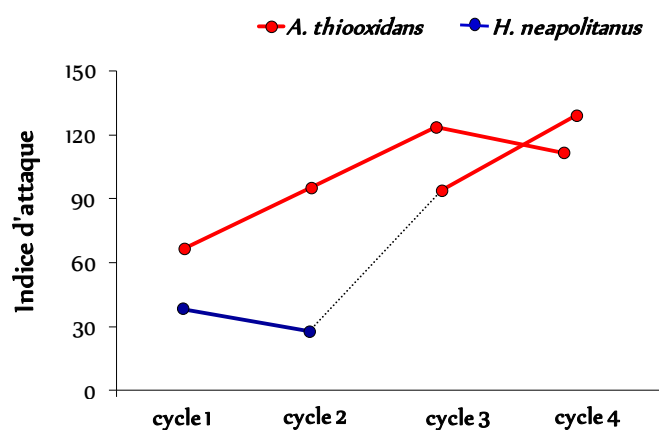
L'IA déterminé au cours de l'essai présent (68) (Tableau 57) a été comparé à celui obtenu au cours de l'essai de biodétérioration avec *A. thiooxidans* (75) (Tableau 35). Il apparaît que l'essai avec la succession bactérienne est à peine 9% moins intense que celui réalisé avec *A. thiooxidans*. Par ailleurs, l'IA de la succession bactérienne (68) est 2 fois plus important que celui déterminé avec l'essai avec *H. neapolitanus*.

	Eléments relargués (mole)	H ⁺ générés (mole)	Eléments dans mortier (mole)	% d'éléments relargués	% d'éléments relargués normalisés à 100	% normalisé / mole de H ⁺	Indice d'attaque (IA)	IA rapporté au ratio volume attaqué / volume initial (IA, v)
CAC	Ca	2,88E-02	3,00E-01	1,42E-01	20	8	68	24,5
	Si	2,01E-03	3,00E-01	1,64E-02	12	0		
	Al	4,44E-02	3,00E-01	2,10E-01	21	12		
	Fe	4,94E-04	3,00E-01	4,71E-03	10	0		

Tableau 57 : Indice d'attaque de l'essai de biodétérioration des mortiers CAC

Le passage de la phase neutrophile à la phase acidophile affecte considérablement la performance du mortier CAC. Ainsi, l'attaque chimique du mortier CAC est très dépendante de la nature neutrophile ou acidophile de la BSO. La sensibilité du mortier CAC à une attaque très acide est encore mieux mise en évidence avec IA, v dont la valeur de 6,2 pour l'essai avec *H. neapolitanus* passe à 24,5 dans l'essai mettant en jeu la succession bactérienne et à 30,1 pour l'essai avec *A. thiooxidans*. Ainsi, au cours de la succession bactérienne, il semblerait que la bien meilleure performance du mortier CAC soit limitée à la phase neutrophile pour une double raison : d'une part, une meilleure performance de la pâte de ciment pour des pH jusqu'à 3 et d'autre part à un effet tampon réduit laissant plus rapidement descendre le pH ; ce qui conduit à une activité bactérienne différente induisant ainsi une production moindre d'acide sulfurique.

En effet, si l'on considère individuellement l'indice d'attaque au cours de chaque cycle de biodétérioration du mortier CAC, on observe que ce dernier diminue au cours de la phase neutrophile. Par contre, l'IA augmente brusquement après le passage à la phase acidophile (Figure 216).

Figure 216 : Évolution des Indices d'attaque des mortiers CAC au cours des essais de biodétérioration avec les BSO *A. thiooxidans* ou avec la succession *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*.

3. Synthèse des résultats de l'essai de biodétérioration avec la succession bactérienne

Les analyses biologiques, chimiques et physiques ont permis de constater que la procédure expérimentale mise en place est également adaptable à la réalisation de la succession bactérienne.

L'évolution du pH au contact des mortiers OPC et CAC a globalement la même évolution surtout au cours de la phase acidophile (Figure 217), rendant possible la comparaison des résultats obtenus.

Les analyses chromatographiques des ions sulfate ont montré qu'hormis pour le cycle 1, la production d'acide sulfurique au contact des mortiers OPC au cours de la phase acidophile est 8 à 11 % supérieure à celle produite au contact des mortiers CAC bien que le nombre de bactéries au contact des deux types de mortier soit quasiment identique (Figure 218). Cette différence pourrait être liée à la précipitation de soufre élémentaire avec la taranakite dans l'essai de biodétérioration du mortier CAC.

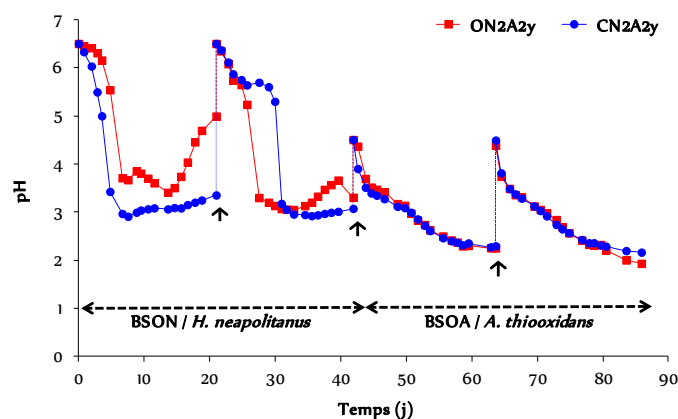


Figure 217 : Évolution du pH des milieux réactionnels au contact des ON2A2y et CN2A2y au cours de la succession bactérienne (↑ renouvellement du milieu réactionnel).

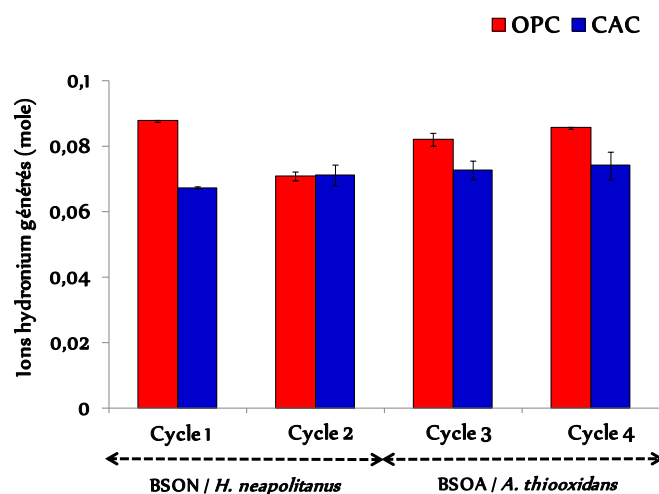


Figure 218 : Production d'ions hydronium dans les milieux réactionnels au contact des ON2A2y et CN2A2y au cours des cycles de biodétérioration avec la succession bactérienne.

Dans le cadre de notre étude, l'épaisseur attaquée du mortier OPC ON2A2y ($5,4 \pm 0,3$ mm) est supérieure à celle du mortier CAC CN2A2y ($2,6 \pm 0,1$ mm). Ainsi, comme pour les mortiers attaqués avec *A. thiooxidans* l'attaque du mortier OPC est profonde tandis que celle du mortier CAC est superficielle mais plus intense (Tableau 58).

	Analyse macroscopique		Analyse microscopique		Analyse macroscopique et microscopique		
	Épaisseur totale perdue (mm)	Vitesse de détérioration (mm/an)	Épaisseur altérée (mm)	Vitesse d'altération (mm/an)	Épaisseur totale attaquée (mm)	Vitesse d'attaque (mm/an)	Vitesse d'attaque normalisée au volume attaqué ($\text{mm.an}^{-1}.\text{cm}^{-3}$)
ON2A2y	$1,1 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,4$	$4,2 \pm 0,3$	$18,4 \pm 1,1$	$5,4 \pm 0,3$	$23,2 \pm 1,8$	$0,9 \pm 0,1$
CN2A2y	1,1	4,7	$1,6 \pm 0,1$	$6,8 \pm 0,6$	$2,6 \pm 0,1$	$11,4 \pm 0,8$	$0,8 \pm 0,1$

Tableau 58 : Évaluations macroscopiques et microscopiques des épaisseurs et des vitesses de détérioration, d'altération et d'attaque des mortiers ON2A2y et CN2A2y après la succession bactérienne.

Le bilan de matière a permis de déterminer que, comme au cours de l'essai avec *A. thiooxidans* ou *H. neapolitanus*, une grande quantité d'ions phosphate a été précipitée en solution sous forme de taranakite dans les réacteurs contenant les mortiers CAC. Contrairement aux ions phosphate, une plus importante quantité d'ions sulfate a précipité dans les réacteurs contenant les mortiers OPC dans lesquels la présence de fortes quantités de gypse et d'ettringite a été constatée.

Les analyses MEB/EDS et les cartographies ont révélé que les mortiers OPC ayant subi la succession bactérienne (ON2A2y et ON2A1) ont moins de zones détériorées que ceux attaqués par *A. thiooxidans* (OA4y) ou *H. neapolitanus* (ON4y). En effet, les mortiers OA4y et ON4y renferment 6 zones plus ou moins détériorées tandis que les mortiers ON2A2y et ON2A1 n'en présentent que 5 puisque ces derniers semblent ne pas contenir une zone intensément altérée (Figures 77, 134 et 188). Les profils détériorés des mortiers ON2A2y et ON2A1 sont semblables à ceux des mortiers OA2 ou ON2, mortiers ayant subi 2 cycles de biodétérioration par *A. thiooxidans* ou *H. neapolitanus*. Ce résultat semble indiquer que le processus de biodétérioration ne s'est pas poursuivi avec la même intensité après le passage à la phase acidophile. Ainsi, le passage de la phase neutrophile à la phase acidophile semble changer les mécanismes de biodétérioration des mortiers OPC.

Les mortiers CAC ayant subi une succession bactérienne (CN2A2y et CN2A1) présentent par contre les mêmes profils détériorés que ceux attaqués par *A. thiooxidans* (CA4y et CA2) ou *H. neapolitanus* (CN4y et CN2) (Figures 104, 159 et 214). Ainsi, contrairement aux mortiers OPC, le processus de biodétérioration s'est poursuivi de façon semblable après le passage à la phase acidophile avec cependant une forte dissolution de l'hydroxyde d'aluminium accumulé dans le mortier CAC au cours de la phase neutrophile.

Les indices d'attaque révèlent que l'intensité de l'attaque du mortier OPC est proche pour les phases neutrophile et acidophile (Figure 219). Par contre, l'attaque du mortier CAC est fonction de la nature neutrophile ou acidophile de la BSO. En effet, elle s'intensifie fortement avec le passage de la souche neutrophile à la souche acidophile, donc avec la diminution de la valeur du pH du milieu réactionnel (Figure 219).

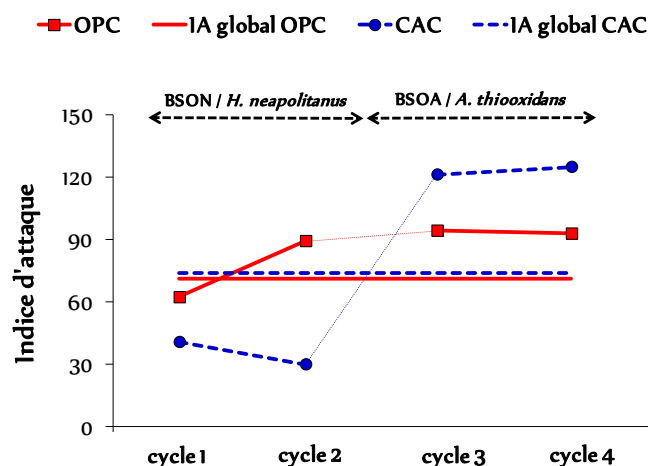


Figure 219 : Évolution des Indices d'attaque des mortiers OPC et CAC au cours de chaque cycle de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis *A. thiooxidans*. Les lignes pleines représentent l'IA globale pour les deux essais.

Ce résultat confirme bien qu'au cours de l'attaque des mortiers CAC, la biodétérioration est surtout fonction de la nature neutrophile ou acidophile des bactéries présentes dans le milieu réactionnel. En effet, elle est moindre au cours de la phase neutrophile quelle que soit la quantité d'acide générée par les bactéries tandis qu'elle s'intensifie au cours de la phase acidophile. Toutefois, la phase neutrophile ne semble pas apporter d'effet bénéfique au mortier CAC car dès le passage à la phase acidophile, ce dernier devient moins performant que le mortier OPC lors des premiers cycles. En conséquence, plus le mortier sera résistant durant la période neutrophile, plus le temps de passage à la période acidophile sera retardé et plus le mortier sera durable.

Ainsi, pour comparer les résistances des différentes formulations de mortiers, il apparaît que l'essai de biodétérioration par la BSO neutrophile, *H. neapolitanus*, est le plus pertinent. Toutefois, nous avons également démontré que l'échantillon garde la mémoire des attaques des cycles antérieurs pouvant conduire à une intensité d'attaque réduite ou augmentée bien que les mécanismes physico-chimiques restent semblables. Ainsi, l'idéal est bien de réaliser un essai de biodétérioration mettant en jeu la succession bactérienne pour se rapprocher des conditions *in situ*.

A ce niveau, il est important de s'interroger sur la résistance *in situ* des matériaux cimentaires réalisés à base d'aluminat de calcium qui sont réputés pour être plus résistants que ceux formulés avec des ciments Portland [Alexander and Fourie, 2011]. La question qui se pose est de savoir si les

matériaux CAC, installés depuis 20 ans dans les égouts en conditions *in situ*, ne doivent leur meilleure performance qu'au fait que le processus de biodétérioration est toujours à la phase neutrophile du processus de biodétérioration. En effet, la phase neutrophile ne permet pas de descendre le pH au dessous de 3 parce que les bactéries de ce type ne peuvent pas survivre à des pH plus bas. Des expériences *in situ* de dénombrement des espèces de BSO seraient nécessaires pour confirmer ce point et également comprendre pourquoi la succession avec la BSO acidophile n'a pas lieu car cette dernière peut intervenir dès que le pH est inférieur à 4,5. Des essais de biodétérioration en laboratoire avec les deux souches mélangées dès les premiers cycles pourraient apporter des éléments de réponse à cette question.

Un dernier paramètre d'importance pourrait également être étudié par des essais de biodétérioration basés sur l'essai présenté dans ce travail ; il s'agit de l'impact de la formation d'un biofilm à la surface du mortier. Les essais de Hajj Chéhade (2010) qui conduisaient à la formation d'un biofilm à cause du manque de nutriments semblaient limiter l'intensité de la biodétérioration. Ainsi, nous avons fait le choix d'éviter la formation d'un biofilm complexifiant encore le système, en augmentant la quantité de nutriments du milieu réactionnel et en renouvellement la suspension bactérienne avant d'avoir une période de déclin des populations bactériennes. Maintenant que des données fiables ont été acquises sans la formation du biofilm, il est possible de faire des expériences sur des durées de cycle plus longues, afin de favoriser la formation d'un biofilm.

CONCLUSIONS GENERALES

&

PERSPECTIVES

Conclusions générales

La prévention de la biodétérioration dans les tuyaux d'égout nécessite l'élucidation des mécanismes de biodétérioration et la conception de formulations de matériaux cimentaires plus performants. La biodétérioration des tuyaux étant un processus très lent, la résistance de ces nouvelles formulations à l'acide sulfurique biogénique est évaluée par des essais de laboratoire. Le but de cette étude était de mettre en place un essai de biodétérioration de laboratoire reproductible, rapide et simple à mettre en œuvre qui permet de réaliser une succession bactérienne de BSO, afin de se rapprocher du mécanisme réel observé *in situ*. Elle avait trois objectifs principaux : étudier et comprendre l'impact des BSO neutrophiles sur les matériaux cimentaires ; réaliser un essai de biodétérioration avec une succession de BSO neutrophiles puis acidophiles et enfin juger de la pertinence des essais de biodétérioration n'utilisant que les BSO acidophiles.

La réalisation de l'essai de biodétérioration par une BSO neutrophile ou par une succession bactérienne de BSO neutrophile / acidophile a nécessité dans un premier temps la sélection d'une bactérie neutrophile et la formulation d'un milieu d'étude optimum en se basant sur les paramètres de croissance et sur l'activité des BSO. Ainsi, *H. neapolitanus* a été préféré à *S. novella* et *T. thioparus* pour l'essai de biodétérioration car *H. neapolitanus* présentait une « meilleure » croissance et une activité bactérienne (production d'acide sulfurique) plus intense permettant d'arriver à un pH final voisin de 3. Les mortiers OPC et CAC ont été sélectionnés comme matériaux cimentaires d'étude. Les essais de biodétérioration ont été réalisés en se basant sur l'essai de biolixiviation de Hajj Chehade (2010). Cependant, contrairement à ce dernier, les mortiers ont été mis en contact avec des cultures bactériennes immatures, afin que l'acide sulfurique soit produit au contact des mortiers pour évaluer l'impact de ces derniers sur l'activité bactérienne.

La biodétérioration a été évaluée par une approche pluridisciplinaire prenant en compte l'impact du mortier sur les BSO, l'évolution du milieu réactionnel dû à l'activité bactérienne et aux relargages du mortier et enfin l'évolution du mortier après l'attaque à l'acide sulfurique biogénique. Ainsi, au cours de l'essai de biodétérioration, il a été entrepris une évaluation de : la croissance bactérienne et la production d'acide sulfurique ; la quantité d'éléments relargués en solution par les mortiers et enfin l'évolution de la microstructure ainsi que du profil de biodétérioration des mortiers.

La réalisation de l'essai de biodétérioration en triplicata a permis de se rendre compte que le protocole d'essai était performant et répétable. De plus, l'essai de biodétérioration est relativement court dans le temps. En effet, en seulement 6 semaines d'expérimentation, des différences sont observées sur les mortiers, les milieux réactionnels et les bactéries.

Les différents essais de biodétérioration ont révélé que les mécanismes de détérioration des mortiers sont complexes et plus ou moins dépendants de la nature neutrophile ou acidophile des bactéries présentes dans les milieux réactionnels principalement en fonction de la solubilité des minéraux vis-à-

vis d'un pH critique de 3 puisque seules les BSOA peuvent conduire à des pH plus bas. De façon complémentaire, la composition chimique du mortier, et, en particulier sa capacité à s'opposer à la décroissance du pH à travers la dissolution des minéraux de sa pâte de ciment, aura un impact sur l'activité bactérienne principalement des BSON. Vis-à-vis de la BSO *H. neapolitanus* étudiée dans ce travail, la production d'acide sulfurique sera d'autant plus grande que le pH pourra être maintenu à des valeurs supérieures à 4,7. Il est donc indispensable de connaître exactement la production d'acide sulfurique générée par les bactéries lors d'un essai, afin de rapporter les quantités d'éléments dissoutes à la quantité d'ions hydronium apportée au système chimique. Nous avons donc défini un indice d'attaque basé sur ces quantités.

L'étude de l'évolution de la microstructure des mortiers au cours du temps a également permis de mettre en évidence différentes étapes lors de la biodétérioration à travers la présence de zones plus ou moins altérées. Toutefois, pour des quantités proches d'éléments dissous, certaines attaques sont très intenses et localisées à la surface conduisant à réduire la taille de l'échantillon alors que d'autres se font sur une plus grande profondeur, mais conduisent à de moins grandes altérations, permettant ainsi de conserver la taille initiale de l'échantillon. Les propriétés d'usage des mortiers présentant ces deux évolutions de microstructure sont différentes et un indice d'attaque volumique a été défini pour différencier ces deux types d'attaque en privilégiant une logique sacrificielle pour le matériau à savoir une attaque intense et localisée en surface. La différence d'intensité de l'altération des zones a également un impact sur les mécanismes contrôlant la cinétique de relargage des éléments en solution. Généralement lors d'un essai de lixiviation avec des solutions ayant des pH légèrement acides, l'altération est modérée. Cette dernière se traduit par une augmentation de porosité ainsi que par la persistance de minéraux non solubles dans les conditions de l'essai. En conséquence, bien que certaines zones soient fortement altérées, seules les zones moins altérées contribueront à apporter de nouveaux éléments chimiques qui s'accumuleront dans la solution et ainsi la diffusion sera le mécanisme contrôlant la cinétique d'accumulation des éléments en solution. Ainsi, les quantités relarguées seront proportionnelles à la racine carrée du temps.

Dans notre essai, qui conduit à des pH très acides dans lesquels tous les minéraux à l'exception du gel de silice ont une importante solubilité, les zones fortement altérées auront également une contribution à l'accumulation des éléments en solution. Dans ce cas, la cinétique de relargage de ces zones sera contrôlée par la vitesse de dissolution des phases qui est proportionnelle au temps, à la surface du solide qui se dissout et à la sous-saturation de la solution par rapport à ce solide. En conséquence, le relargage des éléments sera gouverné à la fois par la diffusion dans les zones les moins dégradées et par la vitesse de dissolution dans les zones les plus dégradées.

Par contre, des critères couramment utilisés comme l'épaisseur altérée dépendront directement de la position spatiale des zones les moins dégradées et donc des mécanismes diffusifs. Ainsi, l'évolution de l'épaisseur dégradée évoluera de façon proportionnelle à la racine du temps et non pas en fonction du temps. Il est donc erroné de comparer des vitesses d'attaque définies en épaisseur dégradée par

un temps pour des échantillons qui auraient un âge différent. Il serait encore plus faux d'extrapoler linéairement une épaisseur dégradée à un temps plus long à partir d'une épaisseur dégradée à un temps donné. La vitesse de diffusion dépendra principalement du coefficient de diffusion qui lui-même dépend de la quantité de porosité connectée, de sa tortuosité ainsi que de la taille des pores.

Dans nos conditions expérimentales, une faible vitesse de diffusion conduira à une attaque localisée et très intense contrairement à une diffusion rapide qui conduira à une épaisseur dégradée plus importante avec des zones de plus en plus dégradées en se rapprochant de la surface. Les résultats tendent à indiquer que le mortier CAC a une attaque superficielle plus intense alors que le mortier OPC a principalement une attaque en profondeur. Nous n'avons pas mesuré les coefficients de diffusion des mortiers utilisés néanmoins le mortier OPC a une porosité totale presque deux fois plus importante que le mortier CAC avec toutefois une distribution de la taille des pores environ 10 fois plus petite. La connaissance du coefficient de diffusion semble donc être importante au niveau des améliorations potentielles de la méthode présentée. Nous avons donc choisi de présenter une synthèse des résultats par type de mortier plutôt que par type d'essai.

1. Synthèse des résultats pour les mortiers OPC

La littérature [De Belie *et al.*, 2004 ; Adenot, 1992 ; Bayoux *et al.*, 1990 ; Romben, 1979] stipule qu'au cours de l'attaque acide des mortiers OPC, la portlandite est la première phase de la pâte de ciment à être attaquée, avant les phases alumineuses (les alumino-ferrite tétracalciques et le monosulfo-aluminate de calcium hydraté) et les silicates de calcium hydratés. En effet, au cours de nos essais, il a été constaté que la portlandite est dissoute quel que soit le pH du milieu, les phases siliceuses pour des pH compris entre 4 et 2, les phases alumineuses pour des valeurs de pH inférieures à 3,3 et les phases ferriques pour des valeurs de pH inférieures à 2 (Figure 122). Ainsi, au cours de l'essai de biodétérioration du mortier OPC, Ca est relargué en solution quelle que soit la BSO. Par contre, Al sera relargué principalement en présence de la BSO acidophile tout comme Fe. De façon opposée, Si est accumulé en grande quantité en solution en présence de la BSO neutrophile choisie dans cette étude (gamme de pH allant de 6,5 à 3). La dissolution des phases du matériau cimentaire est liée à la quantité d'acide au contact du matériau, mais aussi à la valeur de pH du milieu au contact du matériau. Les vitesses de relargage des éléments assimilées à la pente des régressions linéaires en fonction du temps ou de la racine du temps mettent bien en évidence des différences (Figures 65 et 123, annexe 3-b). La valeur de la pente des régressions linéaires des éléments relargués en fonction de la quantité d'ions hydronium générés par les bactéries met aussi bien en évidence les différences de relargage en fonction du pH final de l'essai (pH de 3 pour *H. neapolitanus* et de 2 avec *A. thiooxidans*) (Figures 66 et 124, annexe 3-b). L'indice d'attaque, qui somme tous ces effets, est cohérent avec la forte accumulation du calcium en solution puisque l'indice d'attaque est élevé pour tous les essais (Tableaux 35 et 48, annexe 3-b). Ceci est d'autant plus visible si l'on considère un *IA* moyen pour les 4 cycles de biodétérioration et donc si l'impact de la pré-lixiviation est omis.

Les analyses MEB/EDS des mortiers issus des différents essais de biodétérioration ont également permis de mieux comprendre l'évolution des phases cimentaires au cours du temps ainsi que l'impact de la BSO neutrophile ou acidophile sur la dissolution des phases cimentaires des mortiers. En effet, les analyses réalisées sur le mortier ON2, mortier ayant subi 2 cycles de biodétérioration par la BSO *H. neapolitanus* et sur le mortier ON2A1, mortier ayant subi 2 cycles de biodétérioration par la BSO *H. neapolitanus* puis 1 cycle par la BSO *A. thiooxidans* permettent de retracer l'évolution du profil détérioré du mortier au cours de la succession de *H. neapolitanus* / *A. thiooxidans* (mortier ON2A2y). L'alumino-ferrite tétracalcique et les silicates de calcium présents à la surface du mortier après la phase *H. neapolitanus* sont dissous après le premier cycle de *A. thiooxidans*. La dissolution de ces phases est due à la diminution du pH du milieu qui passe d'une valeur supérieure à 3 au cours de la phase neutrophile à une valeur autour de 2 au cours de la phase acidophile. Par ailleurs, la comparaison entre le mortier ON2A2y (2 cycles de *H. neapolitanus* puis 2 cycles de *A. thiooxidans*) et le mortier OA4y (4 cycles de *A. thiooxidans*) révèle que les deux mortiers ont la même zonation (Figures 77 et 188, annexe 3-a).

2. Synthèse des résultats pour les mortiers CAC

La littérature scientifique [Scrivener *et al.*, 1999] indique que les phases constituant le mortier CAC ont des réactivités différentes selon le pH du milieu. En effet, au cours de nos essais, il a été constaté que les hydrates d'aluminates de calcium sont dissous quel que soit le pH, l'hydroxyde d'aluminium que pour les valeurs de pH inférieures à 4, les phases ferriques pour des valeurs de pH inférieures à 3 et les phases siliceuses pour des valeurs de pH comprises entre 1,3 et 4 (Figure 150). Ainsi, au cours de l'essai de biodétérioration du mortier CAC, contrairement au mortier OPC qui dépendait plus de la quantité d'ions hydronium ajoutée, le relargage de tous les éléments Ca, Si, Al et Fe du mortier CAC est essentiellement lié à la valeur de pH atteinte par le milieu réactionnel, donc à la nature neutrophile ou acidophile des bactéries impliquées. Ces différences sont notables si l'on considère la pente des régressions linéaires entre fractions cumulées en élément en fonction du temps ou de la racine carrée du temps ou même quantité d'ions hydronium produits entre l'essai avec *H. neapolitanus* ou avec *A. thiooxidans* (Figures 91, 92, 151 et 152, annexe 4-b). Par ailleurs, « l'effet mémoire » de la phase neutrophile, se traduisant par une forte accumulation d' AH_3 dans la zone périphérique du mortier, conduit à des relargages d'Al pendant la phase acidophile de l'essai par la succession bactérienne deux fois plus importants que ceux des cycles 3 et 4 de l'essai de biodétérioration avec *A. thiooxidans*.

L'indice d'attaque met bien en évidence cette différence marquée d'intensité entre *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans*. La performance des mortiers CAC est essentiellement due à leur résistance à la biodétérioration pendant la phase neutrophile au cours de laquelle le mortier est très faiblement attaqué ($IA = 28$) (Annexe 4-b). En effet, le passage de la phase neutrophile à la phase acidophile

induit une intensification de la biodétérioration, dont l'IA globale ($IA = 68$) atteint presque celui d'un essai de biodétérioration avec *A. thiooxidans* ($IA = 75$) (Annexe 4-b). La différence de performance est d'autant plus marquée si l'on considère l'indice d'attaque volumique, car le volume attaqué augmente fortement lors de l'attaque par la BSO acidophile (Annexe 4-a et Annexe 4-b).

L'indice d'attaque permet également de rendre compte de l'effet bénéfique de la moindre production d'acide sulfurique observée avec *H. neapolitanus*. En effet, la production d'acide sulfurique est en général 10 à 20% moins importante que celle en présence des mortiers OPC. Cette moindre production d'acide par les BSO *H. neapolitanus* en présence de mortiers CAC est due à la capacité de neutralisation moins importante de ces derniers pour les $pH > 3$, qui favorise l'accumulation d'intermédiaire soufré (le tétrathionate) non utilisé par les BSO. Si l'on compare les indices d'attaque entre mortiers OPC et CAC, la meilleure performance du mortier CAC est bien plus marquée dans la phase neutrophile que dans la phase acidophile.

Les analyses MEB/EDS réalisées sur le mortier CN2, mortier ayant subi 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* et sur le mortier ON2A1, mortier ayant subi 2 cycles de biodétérioration par *H. neapolitanus* puis 1 cycle par *A. thiooxidans*, permettent, comme dans le cas des mortiers OPC, de retracer l'évolution du profil détérioré du mortier au cours de la succession de *H. neapolitanus* / *A. thiooxidans* (mortier CN2A2y). Ainsi, le passage de la phase neutrophile à la phase acidophile entraîne la dissolution des hydrogénats, de la stratlingite, de l'ettringite, du monosulfoaluminate de calcium hydraté, des alumino-ferriques tétracalciques et surtout de l'hydroxyde d'aluminium. Il fait apparaître à la surface du mortier CN2A2y une bande exclusivement composée de grains de titanate de calcium, phase la plus résistante à l'attaque acide du mortier CAC. Ces résultats montrent bien que la performance des mortiers CAC réside surtout dans leur importante résistance au cours de la phase neutrophile pendant laquelle AH_3 mais également la variscite et la taranakite spécifiques à notre essai riche en phosphates, sont faiblement attaqués. Le passage à la phase acidophile conduit à une importante dissolution des AH_3 au point d'atteindre la même intensité d'attaque que des mortiers ayant été uniquement attaqués par les bactéries acidophiles, effaçant les bénéfices acquis au cours de la phase neutrophile (Figures 104 et 159, annexe 3-b). La comparaison entre le mortier CN2A2y (2 cycles de *H. neapolitanus* puis 2 cycles de *A. thiooxidans*) et le mortier CA4y (4 cycles de *A. thiooxidans*) révèle que les deux mortiers ont le même profil biodétérioré, donc la même composition minéralogique (Annexe 4-a).

En condition *in situ*, il se formerait une couche de gibbsite qui protégerait le matériau tant que le pH du milieu resterait supérieur à 3,5. Si la compacité de cette couche était importante, cette dernière pourrait également ralentir la vitesse de diffusion et ainsi réduire la vitesse de dégradation. Dans nos essais par contre cette couche de gibbsite n'a pas été produite lors de la phase neutrophile à cause de la forte concentration en phosphates dans nos milieux d'étude. Il s'est formé à la place une couche de taranakite non protectrice (Figures 104 et 159, annexe 4-a).

3. Impact des éléments relargués sur l'activité bactérienne

Un effet nocif des mortiers CAC sur les BSO n'a pas été mis en évidence dans cette étude. Nous avons seulement constaté la formation d'agrégats de bactéries à la fin des cycles de façon plus fréquente avec les mortiers CAC sans que ceci conduise à un plus grand nombre de bactéries mortes. La présence d'éléments métalliques traces contenus dans les ciments et/ou l'épuisement de certains nutriments dans le milieu réactionnel pourrait avoir une influence sur la formation de ces agrégations. Les concentrations maximales en Al au contact des bactéries dans les milieux réactionnels dépendent des solubilités de la taranakite, de la variscite et de la gibbsite ; solubilités qui sont principalement fonction du pH du milieu. Dans le cas de l'essai avec *A. thiooxidans*, la concentration maximale en Al est de $1,02 \times 10^{-2}$ mol/L alors qu'elle est dix fois plus faible lors de l'essai avec *H. neapolitanus*. La stratégie consistant à vouloir expliquer la meilleure résistance des mortiers CAC à cause d'un effet biocide induit par l'Al ne nous semble pas pertinente. En effet, dans nos essais, les mortiers CAC sont significativement plus performants que les mortiers OPC dans la partie neutrophile de la biodétérioration, au cours de laquelle la concentration en Al est faible. De plus, en considérant la solubilité des phases contenant Al pour des pH supérieurs à 3, les concentrations en Al seront toujours très faibles (Annexe 2). Par contre, le mortier CAC a un effet indirect sur la production d'acide générée par *H. neapolitanus* lors de période neutrophile de la biodétérioration. En effet le mortier CAC s'oppose moins que le mortier OPC à la diminution du pH du milieu, ce qui conduit à une plus grande formation de tétrathionate (de sodium), voire même de soufre élémentaire (équilibré par la formation de NaOH), à la place de l'acide sulfurique. Ainsi, une moindre quantité d'acide sulfurique est produite en présence du mortier CAC. Ceci est d'autant plus important que la résistance des mortiers CAC est bien plus grande que celle des mortiers OPC durant cette période neutrophile. En conséquence, la période neutrophile serait beaucoup plus longue pour un mortier CAC qu'un mortier OPC. D'autre part, on peut aussi supposer que la présence de gibbsite formée en quantité lors de la période neutrophile permet de garder un pH de surface entre 4 et 3,5 de façon prolongée par rapport au mortier OPC. Ainsi, la transition entre *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* pourrait aussi être retardée avec un mortier CAC. Toutefois, si le mortier CAC entre dans la période acidophile de la biodétérioration, la performance de ce dernier n'est plus vraiment meilleure que celle d'un mortier OPC. Donc, la meilleure performance des mortiers CAC est plus due à des aspects cinétiques qu'à un effet biocide de l'Al puisque si ce dernier existait réellement, il ne pourrait jamais se produire de dégradation totale des tuyaux contenant des aluminates de calcium, ce qui n'est pas le cas pour des temps (suffisamment) longs ou bien dans des conditions de température plus élevée qui augmentent la cinétique de diffusion et des réactions chimiques mais aussi l'activité bactérienne.

4. Quel essai choisir pour estimer en laboratoire la résistance d'un mortier à la biodétérioration par les BSO ?

Les résultats issus de ce travail indiquent clairement que les essais de biodétérioration réalisés avec *A. thiooxidans* ne sont pas assez discriminants bien que très destructeurs. La même remarque est valable pour les essais réalisés directement avec H_2SO_4 à des pH inférieurs ou égaux à 2. Le point clé d'une bonne résistance aux BSO est de maîtriser la période neutrophile et donc un essai de biodégradation réalisé avec *H. neapolitanus* est plus pertinent. Ce dernier est également préférable à une attaque acide avec H_2SO_4 ayant un pH supérieur ou égal à 3. En effet, la rétroaction du matériau sur le pH des milieux par un simple effet de réactions acido-basiques a une influence sur l'activité bactérienne. L'utilisation d'un essai de biodétérioration avec la succession bactérienne pourrait être envisagée dans un second temps pour trouver des moyens de retarder la transition neutrophile/acidophile. Toutefois, nous devons garder à l'esprit que l'essai mettant en jeu la succession qui est présentée dans ce mémoire ne permet pas d'indexer cet aspect spécifique puisque les deux souches ne sont pas présentes en même temps (*H. neapolitanus* est certainement présente au début du premier cycle avec *A. thiooxidans* mais ces dernières ne survivent pas longtemps lorsque le pH devient voisin de 2).

Il est également très difficile de comparer les différents essais rapportés dans la littérature car beaucoup de paramètres expérimentaux sont différents. Cela peut être une simple dimension d'échantillon, des temps d'essais variables mais aussi une simple pré-lixiviation réalisée dans des conditions différentes. Donc, il nous semble important que la communauté scientifique se mobilise pour avoir des procédures plus standards pour ces essais qui déjà sont suffisamment complexes. Toutefois la mesure de l'activité bactérienne est indispensable bien que très peu répandue dans les différents essais répertoriés.

Perspectives

Les perspectives portent d'une part sur une optimisation de l'essai de biodétérioration et d'autre part sur la compréhension des mécanismes de biodétérioration.

L'optimisation de l'essai commence par une meilleure caractérisation des échantillons notamment au niveau de leur porosité, distribution poreuse et si possible du coefficient de diffusion aussi bien au début de l'essai qu'à sa fin surtout pour les formulations contenant des aluminates de calcium. En effet, on peut estimer qu'après plusieurs semaines dans un milieu à 30°C, le phénomène de conversion ait eu lieu conduisant à une augmentation de la porosité. D'autre part, la méthodologie

pour la pré-lixiviation doit être similaire pour tous les essais et la moins agressive possible ; un pH de 3 pour la solution d'HCl utilisée est certainement un bon compromis.

La durée des cycles peut aussi être allongée pour conduire, si l'expérimentateur le souhaite, à la formation d'un biofilm. Ce dernier pourrait également éviter un encassement par de nouvelles bactéries à chaque nouveau cycle car seul un apport de nutriments serait suffisant. D'autre part, la présence d'un biofilm pourrait conduire à une activité bactérienne plus localisée à la surface de l'échantillon contrairement à l'essai de biodétérioration présenté dans lequel la majorité des bactéries est dans le milieu de culture. L'impact de cette activité plus localisée devrait toutefois être modéré, car le coefficient de diffusion d'un biofilm est élevé ainsi on devrait avoir des échanges de matière rapides avec le mortier et le milieu de culture.

Le milieu de culture pourrait également être modifié afin de réduire la concentration en phosphates pour diminuer les quantités de taranakite précipitées. Cependant, nous ne nous attendons pas à avoir une forte évolution de la concentration de l'Al en solution puisque l'évolution de la solubilité de la gibbsite en fonction du pH est très proche de celle de la taranakite. Au niveau analytique, le dosage des tétrathionates, au lieu de leur calcul à partir des autres espèces soufrées en solution, permettrait d'avoir plus de précision notamment quand du soufre élémentaire est observé durant les essais avec *H. neapolitanus*.

Un dernier point déjà évoqué pourrait être modifié afin d'avoir une « vraie » succession bactérienne en mélangeant *H. neapolitanus* et *A. thiooxidans* à chaque renouvellement. Il serait intéressant de pouvoir réaliser un comptage des souches bactériennes présentes en utilisant un séquençage à haut débit. Par ailleurs, une succession bactérienne prenant en compte toutes les BSO neutrophiles intervenant *in situ* pourrait également être envisagée. La succession serait calquée sur celle intervenant *in situ*. Elle débiterait avec *T. thioparus*, puis *S. novella*, suivi de *T. intermedius*, après *H. neapolitanus*.

La compréhension des mécanismes de biodétérioration passe par une meilleure quantification des minéraux formés dans les différentes zones attaquées des mortiers. Ainsi, des méthodes classiquement utilisées dans les essais de lixiviation pourraient être réalisées sur les mortiers attaqués tel qu'un meulage des différentes zones altérées suivi d'analyses DRX et ATD (notamment pour la gibbsite, C-S-H et le gel de silice).

Une étude plus précise des cinétiques de relargages des éléments chimiques des mortiers vers le milieu réactionnel pourrait également être envisagée afin de définir avec plus de précision les mécanismes gouvernant les relargages de chacun de ces éléments. Il suffirait d'évaluer à intervalle plus rapproché (par exemple toutes les semaines) les quantités d'éléments chimiques relargués en solution au cours de chaque cycle de biodétérioration.

Toutes ces données additionnelles devraient permettre d'arriver à modéliser à l'aide de logiciel de transport réactif, la biodétérioration d'une pâte de ciment dans un premier temps. Ainsi, pour caler certains paramètres de ces modèles, des essais de biodétérioration sur pâte de ciment pourraient être réalisés dans les mêmes conditions que les mortiers correspondants. La modélisation serait un outil fort utile pour comprendre pourquoi certaines formulations bien différentes de celles étudiées ici [Alexander and Fourie, 2011 ; De Belie *et al.*, 2004] peuvent être résistantes, mais aussi pour concevoir de nouvelles formulations encore plus performantes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adenot, F. (1992). Caractérisation et modélisation des processus physiques et chimiques de dégradation du ciment. Thèse de Doctorat, Université d'Orléans. 240 pages.
- Alarcon-Ruiz, L., Platret, G., Massieu, E., Ehrlacher, A. (2005). The use of thermal analysis in assessing the effect of temperature on a cement paste. *Cement and Concrete Research*. **35**(3): 609 - 613.
- Albert, B. (2002). Altération de matrices cimentaires par des eaux de pluie et des eaux sulfatées : approche expérimentale et thermodynamique. Thèse de Doctorat, École Nationale Supérieure des Mines de Saint Etienne et de l'Institut National Polytechnique de Grenoble. 294 pages.
- Alexander, M. G. and Fourie, C. (2011). Performance of sewer pipe concrete mixtures with Portland and calcium aluminate cements subject to mineral and biogenic acid attack. *Materials and Structures*. **44**: 313 - 330.
- Alexander, M. G., Goyns, A., Fourie, C. W. (2008). Experiences with a full-scale experimental sewer made with CAC and other cementitious binders in Virginia, South Africa. In: Proceedings, calcium aluminate cements, the centenary conference. *IHS BRE Press, Bracknell*. 279 - 292.
- Attiogbe, E. K. and Rizkalla, S. H. (1988). Response of concrete to sulphuric acid attack. *ACI Mater. J.* **84**: 481 - 488.
- Aviam, O., Bar-Nes, G., Zeiri, Y. and Sivan, A. (2004). Accelerated biodegradation of cement by sulfur-oxidizing bacteria as a bioassay for evaluating immobilization of low-level radioactive waste. *Applied and Environmental Microbiology*. **70**(10): 6031 - 6036.
- Barton L. (1995). *Sulfate-Reducing Bacteria*. Plenum Press, New York. 336 pages.
- Bassuoni M.T and Nehdi M.L. (2007). Resistance of self-consolidating concrete to sulphuric acid attack with consecutive pH reduction. *Cement and Concrete Research*. **37**(7): 1070 - 84.
- Bayoux, J. P., Letourneux, J. P., Marcargent, S. (1990). Acid corrosion of high alumina cement. International Symposium held at Quenn Mary Westfield College, University of London, 9 - 11 July 1990. Edited by Mangabhai R. J.
- Beech, I. .B. and Sunner, J. (2004). Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals. *Current Opinion in Biotechnology*. **15**(3): 181 - 186.
- Beijerinck, M. W. (1904). Ueber die Bakterien, welche sich im Dunkeln mit Kohlensäure als Kohlenstoffquelle ernähren können. *Centralbl Bakteriöl Parasitenkd Infektionskr Hyg Abt II II* : 593 ± 599. In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1957). 7th ed. Edited by Breed, S. R., Murray, E. G. D. and Smith, R. N. Baltimore. The Williams & Wilkins Company.
- Berland J. M. et Juery C. (2003). Inventaire et scénario de renouvellement du patrimoine d'infrastructures des services publics d'eau et d'assainissement – Synthèse. Office international de l'eau, Ministère de l'écologie et du développement durable.
- Bernard, A. (2003). Le plomb et le chrome dans les ciments : spéciation et modélisation du transfert au cours de la lixiviation. Thèse de Doctorat, Université de droit, d'économie et des sciences d'Aix-Marseille, Géosciences de l'environnement. 319 pages.
- Bertron, A., Duchesne, J., Escadeillas, G. (2005). Accelerated tests of hardened cement pastes alteration by organic acids: analysis of the pH effect. *Cement and Concrete Research*. **35**(1): 155 - 166.
- Carpentier B. (1999). Les biofilms dans l'industrie agro-alimentaire. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.* **14** (2) 105 - 111.
- Characklis, W. G. and Marshall K. C. (1989). Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach. Biofilm. *John Wiley and sons*. New-York. 3 - 15.
- Chen, K.Y. and Morris, J.C. (1972). Kinetics of oxidation of aqueous sulfide by O₂. *Environmental Science and Technology*. **6**: 529 - 537.
- Cho, K. S. and Mori, T. (1995). A newly isolated fungus participates in the corrosion of concrete sewer pipes. *Water Science and Technology*. **31**: 263 - 271.
- Costerton J.W., Lewandowski Z., De Beer D., Caldwell D., Korber D., James G. (1994). Minireview: biofilms, the customized microniche. *Journal of Bacteriology*. **176**: 2137 - 2142.

- Cote P.L. and Constable, T.W. (1987). An evaluation of cement-based waste forms using the results of approximately two year of dynamic leaching. *Nuclear and chemical Waster Management*. **7** : 129 – 139.
- Cwalina, B. (2008). Biodeterioration of concrete. *Architecture Civil Engineering Environment*. **4**: 133 – 140.
- Cypionka H. (2000). Oxygen Respiration by *Desulfovibrio* Species. *Annu Rev Microbiol*. **54**: 827 – 848.
- Davies, J.P., Clarke, B. A., Whiter, J. T., Cunningham, R. J. (2001). Factors influencing the structural deterioration and collapse of rigid sewer pipes. *Urban Water*. **3**: 73 – 89.
- Davis, J. L., Nica, D., Shields, K. and Roberts, D. J. (1998). Analysis of concrete from corroded sewer pipe. *International Biodeterioration and Biodegradation*. **42**(1): 75 – 84.
- De Belie, N. (2010). Microorganisms versus stony materials: a love – hate Relationship. *Materials and Structures*. **43**: 1191 – 1202.
- De Belie, N., Monteny, J., Beeldens, A., Vincke, E., Van Gemert, D. and Verstraete, W. (2004). Experimental research and prediction of the effect of chemical and biogenic sulfuric acid on different types of commercially produced concrete sewer pipes. *Cement and Concrete Research*. **34**(12): 2223 – 2236.
- De Belie, N. (1996). Influence of the sement type on the resistance of concrete to feed acids. *Cement and Concrete Research*. **26** (11) 1717 – 1725.
- De ceukeulaire, L. (1989). Mineralogie van beton in verband met verweingsverschijnselen. PhD thesis volume I. Ghent University, Belgium
- Diercks, M., Sand, W. and Bock, E. (1991). Microbial corrosion of concrete. *Experientia*. **47**: 514 – 516.
- Dubosc, A., Escadeillas, G. and Blanc, P.J. (2001). Characterization of biological stains on external concrete walls and influence of concrete as underlying material. *Cement and Concrete Research*. **31**(11): 1613 – 1617.
- Dupont, G. A. (1997). Understanding dental plaque, biofilm dynamics. *Journal of Veterinary Dentistry*. **14**(3): 91 – 93.
- Dutron, P. (1985). Le béton et l'eau. Saint-Rémy-lès-Chevreuse (France): Conseil international de la langue française. 1 – 211.
- Ehrich, S., Helard, L., Letourneux R., Willocq J., ASCE Member and Bock, E. (1999). Biogenic and chemical sulfuric acid corrosion of mortars. *Journal of materials in civil Engineering*. **11**(4): 340 – 344.
- Ehrich, S. (1998) *Untersuchungen zur biogenen Schwefelsäurekorrosion von zementgebundenen Baustoffen*. PhD dissertation.
- Elmaleh, S., Delgado, S., Alvarez, M., Rodriguez-Gomez, L. E., Aquiar, E. (1998). Forecasting of H₂S build-up in a reclaimed wastewater pipe. *Water Science and Technology*. **38**: 241 – 248.
- Encyclopédie Universalis (1977). **3**: 719 – 25.
- Exley, C., Birchall, J.D. (1992) The cellular toxicity of aluminium. *Journal of Theoretical Biology*. **159**: 83 – 98.
- Faucon, P., Adenot, F., Jacquinet, J. F., Petit, J. C., Cabrillac, R., Jorda, M. (1998). Long-term behaviour of cement pastes used for nuclear waste disposal: review of physicochemical mechanisms of water degradation. *Cement and Concrete Research*. **28**: 847 – 857.
- Faucon, P., Adenot, F., Jorda, M., Cabrillac, R. (1997). Behaviour of crystallized phases of Portland cement upon water attack. *Materials and Structures*. **30**: 480 – 485.
- Faucon, P., Le Bescop, P., Adenot, F., Bonville, P., Jacquinet, J. F., Pineau, F., Felix, B. (1996). Leaching of cement: study of the surface layer. *Cement and concrete Research*. **26**: 1707 – 1715.
- Feugeas, F. (2010). Bétons, bioréceptivité et biodétérioration. Anticorrosion et durabilité – dans le bâtiment, le génie civil et les ouvrages industriels. Audisio, S. et Béranger G. Broché. Collection Metis Lyon Tech. 730 pages.
- Fritz-Feugeas, F. (1998). Caractérisation des biofilms formés sur différents aciers plongés dans la nappe phréatique. Etude de leur influence sur la corrosion des aciers. Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur, Ingénierie des Matériaux. 179 pages.
- Fu, X. and Shen, W. (1990). Physical-Chemistry, vol. 4. *China Higher Education Publisher*. 247 – 248.

- Gaylarde, C.C. and Gaylarde, P.M. (2005). A comparative study of the major microbial biomass of biofilms on exteriors of buildings in Europe and Latin America. *International Biodeterioration and Biodegradation*. **55**: 131 – 139.
- Geoffroy, V. A., Bachelet, M., Crovisier, J-L., Aouad, G., Damidot, D. (2008). Evaluation of aluminium sensitivity on biodegrading bacteria *Acidithiobacillus thiooxidans*. Definition of specific growth medium.
- George, C.M. (1997). Durability of calcium aluminate cement concrete: understanding the evidence. In *Mechanisms of Chemical Degradation of Cement-based Systems*. Edited by K.L. Scrivener and J.F. Young. Published in 1997 E & FN Spon, 2 – 6 Boundary Row, London.
- Gervais, C., Garrabrants, A.C., Sanchez, F., Barna, R., Moszkowicz, P. and Kosson D.S. (2004). The effects of carbonation and drying during intermittent leaching on the release of inorganic constituents of cement-based matrix. *Cement and Concrete Research*. **34**: 119 – 131.
- Ghigo, J-M. (2002). Génétique des biofilms. Rapports d'activité 2002 - Institut Pasteur. <http://www.pasteur.fr/recherche/RAR/RAR2002/Ggb.html>.
- Gilchrist, F.M.C. (1953). Microbiological studies of the corrosion of concrete sewers by sulphuric acid producing bacteria. *South Africa Chemistry*. 214-215.
- Girardi, F., Vaona, W., Di Maggio, R. (2010). Resistance of different types of concretes to cyclic sulfuric acid and sodium sulfate attack. *Cement Concrete Composites*. **32** : 595 – 602.
- Goyns, A., Alexander, M. G., Fourie, C. W. (2008). Applying experimental data to concrete sewer design and rehabilitation. In: *Proceedings, calcium aluminate cements, the centenary conference*. *IHS BRE Press, Bracknell*. 293 – 308.
- Gu, J. D., Ford, T. E., Berke, N. S. and Mitchell, R. (1998). Biodeterioration of concrete by the fungus *Fusarium*. *International Biodeterioration and Biodegradation*. **41**(2): p. 101-109.
- Guillitte, O. (1995). Bioreceptivity: A new concept for building ecology studies. *Science of the Total Environment*. **167**(1-3): 215 – 220.
- Gutiérrez-Padilla, M. G. D., Bielefeldt, A., Ovtchinnikov, S., Hernandez, M. and Silverstein, J. (2010). Biogenic sulfuric acid attack on different types of commercially produced concrete sewer pipes. *Cement and Concrete Research*. **40**: 293 – 301.
- Hajj Chehade M. (2010). Biodétérioration du béton armé par les bactéries du types *Acidithiobacillus thiooxidans*, Thèse de Doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille. 223 pages.
- Harbulakova, V., Estokova, A., Luptakova, A., Stevulova, N., Janak, G. (2009). Concrete specimens biodeterioration by bacteria of *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Desulfovibrio* genera. *Pollack Periodica*. **4**: 83 – 92.
- Hempfling, W., Vishniac, W., 1967. Yield Coefficients of *Thiobacillus neapolitanus* in continuous culture. *Journal of Bacteriology*. **93**: 874 – 878.
- Herisson, J. (2012). Biodétérioration des matériaux cimentaires dans les ouvrages d'assainissement – Etude comparative duciment d'aluminate de calcium et du ciment Portland, Thèse de Doctorat, Université Paris – Est. 233 pages.
- Hernandez, M., Marchand, E.A., Roberts, D. and Peccia, J. (2002). In situ assessment of active *Thiobacillus* species in corroding concrete sewers using fluorescent RNA probes. *International Biodeterioration Biodegradation*. **49**: 271 – 276.
- Hobbie, J.E., Daley, R.J., Jasper, S. (1977). Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied and Environmental Microbiology* **33**: 1225 – 1228.
- Hondjuila Miokono, E., Lors, C., Lamberet, S., Damidot, D. (2011). Mise au point d'un test accéléré de biodétérioration de mortiers mettant en jeu une succession de bactéries sulfo-oxydantes. *Matériaux & Techniques*. **99**: 555 – 563.
- Hormann K., Hofmann, F.-J., and Schmidt, M. (1997). Concrete with grater resistance to acid and to biogenic sulphuric acid corrosion. Offprint from *Betonwerk+Fertigteil-Technik*. **4**: 1 – 8.

- Hutchinson, M., Johnstone, K. I. and White, D. (1969). Taxonomy of the genus *Thiobacillus* : The outcome of numerical taxonomy applied to the group as a whole. *Journal of General Microbiology*. 57(3): 397 – 410.
- Hueck, H. J. (1968). The biodeterioration of materials – an appraisal. *Biodeterioration of Material*. Eds. Walters A. H. and Elphick J. S. *Elsevier*. 6 – 12.
- Hvitved-Jacobsen, T., Vollertsen, J., Matos, J.S. (2002). The sewer as a bioreactor – a dry weather approach. *Water Science and Technology*. 45 (3): 11 – 24.
- Islander, R.L., Devinney, J.S., Mansfeld, F., Postyn, A. and Shih, H. (1991). Microbial ecology of crown corrosion in sewers. *Journal of Environmental Engineering*. 117: 751 – 770.
- Ismail, N., Nonaka, T., Noda, S., Mori, T. (1993). Effect of Carbonation on Microbial Corrosion of Concretes. *Journal of Construction Management and Engineering*. 20: 133 – 138.
- Ito, T., Okabe, S., Satoh, H., Watanabe, Y. (2002). Successional development of sulfate-reducing bacterial populations and their activities in a waste water biofilm growing under microaerophilic conditions. *Applied Environmental Microbiology*. 68(3): 1392 – 1402.
- Jain, J. and Neithalath, N. (2009). Analysis of calcium leaching behaviour of plain and modified cement pastes in pure water. *Cement and Concrete Composites*. 31(3):176 – 185.
- Jensen, H. S., Nielsen, A. H., Hvitved-Jacobsen, T., Vollertsen, J. (2008). Hydrogen sulphide initiated corrosion in concrete sewers – a conceptual approach for prediction, in: *Proceedings from 11th International Conference of Urban Drainage*, Edinburgh.
- Johnston F., Mc Amish, L., (1973). A study of the rates of sulphur production in acid thiosulphate solution using S-35. *Journal of Colloid and Interface Science*. 42: 112 – 119.
- Kaempfer, W. and Berndt, M. (1998). Polymer modified mortar with high resistance to acid and to corrosion by biogenous sulfuric acid. *Proceedings of the 9th ICPIG Congress*. Bologna (Italy), Sept. 14± 18: 681 ± 687.
- Kappler, U., Friedrich, C.G., Trüper, H.G. and Dahl, C. (2001). Evidence for two pathways of thiosulfate oxidation in *Starkeya novella* (formerly *Thiobacillus novellus*). *Archives of microbiology*. 175(2): 102 – 111.
- Karlik, S.J., Eichhorn, G.L., Lewis, P.N. and Crapper, D.R. (1980). Interaction of aluminum species with deoxyribonucleic acid. *Biochemistry*. 19: 5991 – 5998.
- Kelly, D.P. and Wood. A.P. (2000). Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 50: 511 – 516.
- Kelly P. D., McDonald, R. I., Wood, P. A. (2000). Proposal for the reclassification of *Thiobacillus novellus* as *Starkeya novella* gen. nov., comb. nov., in the *α*-subclass of the *Proteobacteria*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 50: 1797 – 1802.
- Kempner, E. S. (1966). Acid production by *Thiobacillus thiooxidans*. *Journal of Bacteriology*. 92(6): 1842 – 1843.
- Kluyver, A. J. and Van Niel, C. B. (1936). Prospects for a natural system of classification of bacteria. *Zentr. Bakt. Parasitenk.*, II. 94: 369 – 403. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1957). 7th ed. Edited by Breed, S. R., Murray, E. G. D. and Smith, R. N. Baltimore. *The Williams & Wilkins Company*.
- Knight, J., Cheeseman, C.R., Rogers, R. (2002). Microbial influenced degradation of solidified waste binder. *Waste Management*. 22 : 187 – 193.
- Kosmulski, M. (2001). *Chemical properties of materials surfaces*. Marcel Dekker. New York.
- Kowalik, R. (1980). Microbiodeterioration of Library Materials. Part 1, chapters 1 – 3. 4(2): 99 – 114. In *Restaurator. International Journal for the Preservation of Library and Archival Material*. Ed. by Banik, G. and Brückle, I.
- Kühl, M. and B. B. Jørgensen (1992). Microsensor Measurements of Sulfate Reduction and Sulfide Oxidation in Compact Microbial Communities of Aerobic Biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. 58(4): 1164 – 1174.

- Lamberet, S., Guinot, D., Lempereur, E., Talley, J., Alt, C. (2008). Field investigations of high performance calcium aluminate mortar for wastewater applications. In: Proceedings, calcium aluminate cements, the centenary conference. *IHS BRE Press, Bracknell*. 269 – 278.
- Lamberet, S. (2005). Durability of ternary binder based on Portland cement, calcium aluminate cement and calcium sulfate. Thèse de doctorat. École polytechnique Fédérale de Lausanne, Faculté Sciences et Techniques de l'Ingénieur. 211 pages.
- Lea F.M. (1970). The action of ammonium salts on concrete. *Magazine of Concrete Research*. **52**: 115 – 116.
- Lea, F. M. and Desch, C. H. (1936). The Chemistry of Cement and Concrete. *London : Edward Arnold*.
- Lee, E. Y., Lee, N. Y., Cho, K. S. and Ryu, H. W. (2006). Removal of hydrogen sulfide by sulfate-resistant *Acidithiobacillus thiooxidans* AZ11. *Journal of bioscience and bioengineering*. **101**(4): 309 – 314.
- Lee, E.Y., Cho, K.S., Ryu H.W. (2000). Characterization of Sulfur Oxidation by an Autotrophic Sulfur Oxidizer, *Thiobacillus* sp. ASWW-2. *Biotechnology Bioprocess Engineering*. **5**: 48-52.
- Lee, L.H., Lustigman, B., Chu, I.Y., Jou, H.L. (1991) Effect of aluminium and pH on the growth of *Anacystis nidulans*. *Bulletin of Environmental Contamination and toxicology*. **46**: 720 – 726.
- Leemann, A., Lothenbach, B., Hoffmann, C. (2010). Biologically induced concrete deterioration in a wastewater treatment plant assessed by combining microstructural analysis with thermodynamic modelling. *Cement and Concrete Research*. **40**: 1157 – 1164.
- Letourneux, R., and Scrivener, K.L. (1999). The resistance of calcium aluminate cements to acid corrosion in sea water applications. In *Modern concrete materials: binders, additions and admixtures* (T.E.D. R.K. Dhier, ed.): Dundee.
- Levenspiel, O. (1972). *Chemical reaction engineering*. New York etc.: Wiley. (Vol. 2, pp. 465-469)
- Little B. J. and Lee, J. S. (2009). Microbiologically influenced Corrosion. In: Kirk-Othmer *Encyclopedia of Chemical Technology*. A. Seidel, ed. Hoboken (NJ), John Wiley and Sons. 1-38.
- London, J. and Rittenberg, S. C. (1966). Effects of organic matter on the growth of *Thiobacillus intermedius*. *Journal of Bacteriology*. **91**(3): 1062 – 1069.
- London, J. (1963). *Thiobacillus intermedius* nov. sp. A novel type of facultative autotroph. *Archiv-f&M ikrobiologie*. **46**: 329 – 337.
- Lors, C., Hajj Chehade, M., Damidot, D. (2009). pH variations during growth of *Acidithiobacillus thiooxidans* in buffered media designed for an assay to evaluate concrete biodeterioration. *International Biodeterioration and Biodegradation*. **63**(7): 880 – 883.
- Macias, A., Kindness, A., Glasser, F. P. (1996). Corrosion behaviour of steel in high alumina cement mortar at 5, 25 and 55°C: chemical and physical factors. *J. Mat. Sci*. **31**: 2279 – 2289.
- Masau, R. J. Y., Oh, J. K. and Suzuki, I. (2001). Mechanism of oxidation of inorganic sulfur compounds by thiosulfate-grown *Thiobacillus thiooxidans*. *Canadian journal of microbiology*. **47**(4): 348 – 358.
- Matila-Sandholm T. and Wirtanen, G. (1992). Biofilm formation in the industry: a review. *Food Rev. Int*. **8**(4): 573 – 603.
- Medveczky, P., Szmola, R., Sahin-Toth, M. (2009). Proteolytic activation of human pancreatitis-associated protein is required for peptidoglycan binding and bacterial aggregation. *Biochemical Journal*. **420**: 335 – 343.
- Meyer, A.H. and Ledbetter, W. B. (1970). Sulphuric acid attack on concrete sewer pipes. *J ASCE (San Div)*. 1167 – 1182.
- Milde, K., Sand, W., Wolf, W. and Bock, E. (1983). Thiobacilli of the corroded concrete walls of the Hamburg sewer system. *Journal of General Microbiology*. **129**: 1327 – 1333.
- Moghanloo, G. M., Fatehifar, E., Saedy, S., Aghaeifar, Z. and Abbasnezhad, H. (2010). Biological oxidation of hydrogen sulfide in mineral media using a biofilm airlift suspension reactor. *Bioresource technology*. **101**(21): 8330 – 8335.
- Monfront, L. (2007). Réseau d'assainissement: gestion patrimoniale et tuyau en béton. Edition du CERIB.

- Monteny, J., De Belie, N., Vincke, E., Verstraete, W., Taerwe, L. (2001). Chemical and microbiological tests to simulate sulfuric acid corrosion of polymer-modified concrete. *Cement and Concrete Research*. **31**(9): 1359 – 65.
- Monteny, J., Vincke, E., Beeldens, A., De Belie, N., Taerwe, L., Van Gemert, D. and Verstraete, W. (2000). Chemical, microbiological, and in situ test methods for biogenic sulphuric acid corrosion of concrete. *Cement and Concrete Research*. **60**(4): 623 – 634.
- Mori, T., Nonaka, T., Tazaki, K., Koga, M., Hikosaka, Y. and Noda, S. (1992). Interactions of nutrients, moisture, and pH on microbial corrosion of concrete sewer pipes. *Water Research*. **26**: 29 – 37.
- Mori, T., Koga, M., Hikosaka, Y., Nonaka, T., Mishina, F., Sakai, Y. and Koizumi, J. (1991). Microbial corrosion of concrete sewer pipes, H₂S production from sediments and determination of corrosion rate. *Water Sciences*. **23**: 1275–1282
- Morton, R.L., Yanko, W.A., Grahom, D.W. and Arnold, R.G. (1991). Relationship between metal concentrations and crown corrosion in Los Angeles County sewers. *Research Journal of Water Pollution Control Federation*. **63**: 789 – 798.
- Moudilou, E. (2000). Cinétiques et mécanismes de relargage des métaux lourds présents en traces dans les matrices cimentaires. Thèse de l'Université d'Orléans. 218 pages.
- Muyzer, G. and Stams, A.J. (2008). The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature Reviews Microbiology*. **6**(6): 441 – 454.
- Nathansohn, A., 1902. Über eine neue Gruppe von Schwefelbakterien und ihren stoffwechsel. Mitt. Zool. Stn. Neapel. 15: 655 – 680. In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1957). 7th ed. Edited by Breed, S. R., Murray, E. G. D. and Smith, R. N. Baltimore. The Williams & Wilkins Company.
- Neville A. M. (2000). Propriétés des bétons, traduction de la version anglaise par le CRIB, Editions Eyrolles. 806 pages.
- Neville, A. M. (1973). Propriétés des bétons. Edition London, Pitman. 686 pages.
- NF EN 196-1 (2006). Méthodes d'essais des ciments – Partie 1: détermination de la résistance mécanique. *Association Française de Normalisation (AFNOR)*, France.
- Nica, D., Davis, J.L., Kirby, L., Zuo, G. and Roberts, D.J. (2000). Isolation and characterization of microorganisms involved in the biodeterioration of concrete in sewers. *International Biodeterioration and Biodegradation*. **46**: 61 – 68.
- Nielsen, A. H., Vollertsen, J., Jensen, H. S., Wium-Andersen, T., Hvitved-Jacobsen, T. (2008). Influence of pipe material and surfaces on sulfide related odor and corrosion in sewers. *Water research*. **42**: 4206 – 4214.
- Nielsen, A.H., Lens, P., Vollertsen, J., Hvitved-Jacobsen, T. (2005). Sulfide–iron interactions in domestic wastewater from a gravity sewer. *Water Research*. **39**: 2747 – 2755.
- Nguyen, V. H. (2005). Couplage dégradation chimique – comportement en compression du béton. Thèse de l'École Nationale des Ponts et Chaussées. 200 pages.
- O'Connell, M., McNally, C., Richardson, M. G. (2010). Biochemical attack on concrete in wastewater applications: A state of the art review. *Cement and Concrete Composites*. **32**: 479 – 485.
- Olmsted, F. H. and Hamlin H. (1900). Converting portions of the Los Angeles outfall sewer into a septic tank. *Engineering News*. **XLIV** (19): 317 – 318.
- Okabe, S., Odagiri, M., Ito, T. and Satoh, H. (2007). Succession of sulfuroxidizing bacteria in the microbial community on corroding concrete in sewer systems. *Applied and Environmental Microbiology*. **73** (3): 971 – 980.
- Okabe, S., Ito, T., Sugita, K., Satoh, H. (2005). Succession of internal sulfur cycles and sulfur-oxidizing bacterial communities in microaerophilic wastewater biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. **71**(5): 2520 – 2529.
- Okabe, S., Itoh, T., Satoh, H., Watanabe, Y. (1999). Analyses of spatial distributions of sulfate-reducing bacteria and their activity in aerobic wastewater biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. **65**(11): 5107 – 5116.

- OMS/UNICEF (2012). Rapport sur les progrès en matière d'assainissement et d'alimentation en eau. Programme commun Organisation mondiale de la Santé et UNICEF de suivi de l'approvisionnement en eau et de l'assainissement. *Bibliothèque de l'OMS*. 59 pages.
- OMS (2005). Célébration de la décennie internationale d'action l'eau, source de vie. Programme commun Organisation mondiale de la Santé et UNICEF de suivi de l'approvisionnement en eau et de l'assainissement. *Bibliothèque de l'OMS*. 34 pages.
- Oyarzun, P., Arancibia, F., Canales, C. and Aroca, G.E. (2003). Biofiltration of high concentration of hydrogen sulphide using *Thiobacillus thioparus*. *Process Biochemistry*. 39(2): 165 - 170.
- Parker, C. D. (1957). Genus V. *Thiobacillus* Beijerinck, 1904. In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1957). 7th ed. Edited by Breed, S. R., Murray, E. G. D. and Smith, R. N. Baltimore. The Williams & Wilkins Company.
- Parker, CD. and Prisk, A. (1953). The oxidation of inorganic compounds of sulphur by various sulphur bacteria. *Journal of General Microbiology*. 8: 344 - 364.
- Parker, C.D. (1951). Mechanics of corrosion of concrete sewers by hydrogen sulfide. *Sewage and Industrial Wastes*. 23: 1477 - 1485.
- Parker, C.D. (1947). Species of sulphur bacteria associated with the corrosion of concrete. *Nature*. 159: 439.
- Parker, C.D. (1945b). The corrosion of concrete 2. The function of *Thiobacillus concretivorus* nov. spec. in the corrosion of concrete exposed to atmospheres containing hydrogen sulphide. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*. 23: 91 - 98.
- Parker, C.D. (1945a). The corrosion of concrete 1. The isolation of a species of bacterium associated with the corrosion of concrete exposed to atmospheres containing hydrogen sulfide. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*. 23: 81 - 90.
- Pettipher, L. G., Mansell, R., McKinnon, H. C., Cousins M. C. (1980). Rapid Membrane Filtration-Epi-fluorescent Microscopy Technique for Direct Enumeration of Bacteria in Raw Milk. *Applied and environmental microbiology*. 39(2): 423 - 429.
- Philibert, J., Vignes, A., Bréchet, Y. et Combrade, P. (2002). Métallurgie du minéral au matériau. Dunod. 960 pages.
- Pina, R. G. and Cervantes, C. (1996). Microbial interactions with aluminium. *BioMetal*. 9: 311 - 316.
- Pundiene, I., Goberis, S., Antonovic, V., Stonys, R., Špokauskas, A. (2006). Carbonation of Alumina Cement-bonded Conventional Refractory Castable in Fireplace. *Materials science (Medžiagotyra)*. 12(4): 1392 - 1320.
- Regourd, M. (1982). La résistance du béton aux altérations physiques et chimique, Le béton hydraulique : connaissance et pratique, J.B.e.R SAUTEREY. Editeur, Presse de l'École des Ponts et Chaussées, Paris. 513 - 530.
- Rigdon, J.H. and Beardsley, C.W. (1956). Corrosion of concrete by autotrophes. *Corrosion*. 14: 60 - 62.
- Roberts, D.J., Nica, D., Zuo, G. and Davis, J. L. (2002). Quantifying microbially induced deterioration of concrete: Initial studies. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 49(4): 221 - 234.
- Rogers, R.D., Knight, J.J., Cheeseman, C.R., Wolfram, J.H., Idachaba, M., Nyavor, K. and Egiebor, N.O. (2003). Development of test methods for assessing microbial influenced degradation of cement-solidified radioactive and industrial waste. *Cement and concrete research*. 33(12): 2069 - 2076.
- Rogers, R.D., Hamilton, M.A. and McConnell, J.W. (1993). Microbial-Influenced Cement Degradation-Literature Review, NUREG/CR-5987. , U.S. Nuclear Regulatory Commission Washington DC, USA.
- Rombén, L. (1979). CBI Forrskning research. *Swedish Cement and Concrete Research*. Stockholm. Inst. at the Institute of Technology. 1(9): 78 - 79.
- Roux, S., F. Feugeas, and A. Cornet (2006). Biodeterioration of mortars and cement paste studied using ESEM, STEM and EDS. *Microscopy and Analysis*. 104: 15 - 17.
- Sakamoto, S. and Kudo, E. (2000). Carbonation of Alumina Cement-Bonded castable Refractories. *Journal of Technical Association of Refractories (Japan)*. 23: 18 - 23.

- Sand, W. (1997). Microbial mechanisms of deterioration of inorganic substrates - A general mechanistic overview. *International Biodeterioration and Biodegradation*. **40**(2-4): 183 - 190.
- Sand, W., Dumas, T., Marcdargent, S. (1992). Accelerated biogenic sulphuric-acid corrosion test for evaluating the performance of calcium-aluminate-based concrete in sewage applications. ASTM Spec. Tech. Publ. 94, STP1232 - Microbiologically influenced corrosion testing. *ASTM, West Conshohocken*. 234 - 249.
- Sand, W. (1987). Importance of hydrogen sulfide, thiosulfate, and methylmercaptan for growth of *Thiobacilli* during simulation of concrete corrosion. *Applied Environmental Microbiology*. **53**: 1645 - 1648.
- Sand, W., Bock, E. (1984). Concrete corrosion in the Hamburg sewer system. *Environmental Technology Letters*. **5**: 517-528.
- Santegoeds, C.M., Ferdelman, T.G., Muyzer, G., de Beer, D. (1998). Structural and functional dynamics of sulfate-reducing populations in bacterial biofilms. *Applied Environmental Microbiology*. **64**(10): 3731 - 3739.
- Santer, M., Margulies, M., Klinman, N., Kaback, R. (1960). Role of inorganic phosphate in thiosulfate metabolism by *Thiobacillus thioparus*. *Journal of Bacteriology*. **79** : 313 - 320.
- Saricimen H. and Maslehuiddin M. (1987). Case study of deterioration of concrete in sewerage environment in an Arabian Gulf Country. *Durability of Building Materials*. 5 145- 154.
- Satoh, H., Odagiri, M., Ito, T., Okabe, S. (2009). Microbial community structures and in situ sulfate-reducing and sulfur-oxidizing activities in biofilms developed on mortar specimens in a corroded sewer system. *Water research*. **43**: 4729 - 4739.
- Saucier, F. and Lamberet, S. (2009). Calcium aluminate concrete for sewers : going from qualitative to quantitative evidence of performance. In: Proceedings of the international RILEM TC-211 PAE final conference. Toulouse, June 2009. *RILEM Publications S.A.R.L., Bagneux*. 398 - 407.
- Sbordone, L. and Bortolaia, C. (2003). Oral microbial biofilms and plaque-related diseases : microbial communities and their role in the shift from oral health to disease. *Clinical Oral Investigations*. **7**(4): 181 - 188.
- Schmidt, M., Hormann, K., Hofmann, F. J. (1997). Concrete with greater resistance to acid and to biogenic sulphuric acid corrosion. *Betonwerk+Fertigteile-Technik*, **4**: 1 - 8.
- Schulze, E-D. and Mooney, H. A. (1993). Biodiversity and ecosystem function. *Springer-Verlag*. 88 - 90.
- Scrivener, K. (2003). Calcium aluminate cement. Advanced concrete technology: constituent materials. Edited by Newman J. and Choo B. S. 284 pages. Editeur Butterworth - Heinemann, Ltd. 63 - 94.
- Scrivener, K. L., Cabiron, J-L., Letourneux, R. (1999). High-performance concretes from calcium aluminate cements. *Cement and Concrete Research*. **29**: 1215 - 1223.
- Shirakawa, M.A., Beech, I.B., Tapper, R., Cincotto, M.A., Gambale, W. (2003). The development of a method to evaluate bioreceptivity of indoor mortar plastering to fungal growth. *International Biodeterioration & Biodegradation*. **51**(2): 83 - 92.
- Simonnet, C. (2005). Le béton, histoire d'un matériau. *Parenthèses*. 222 pages.
- Skalny J., Marchand J., Odler I. (2002). Sulfate attack on concrete. *London: Spon Press*.
- Smith, A.L., Kelly, D.P., Wood, A.P. (1980). Metabolism of *Thiobacillus* A2 grown under autotrophic, mixotrophic and heterotrophic conditions in chemostat culture. *Journal of General Microbiology*. **121**: 127 - 138.
- Soudee, E., Chabannet, M., Pera, J. (2002). Durabilité Des Ciments Phospho-Magnésiens. *Silicates industriels*. n°5-6: 66 - 72.
- Starkey, L. (1934). Cultivation of organisms concerned in the oxidation of thiosulphate. *Journal of Bacteriology*. **28**: 365.
- Steenkamp, D.J. and Peck, H.D. (1981) Protein translocation associated with nitrite respiration in *Desulfovibrio desulfuricans* . *Journal of Biological Chemistry*. **256**: 5450 - 5458.

- Stumm, W. and Morgan J. J. (1996). Aquatic chemistry: Chemical equilibria and rates in natural waters 3rd edition. Edited by Wiley, J. & Sons. New York, NY 10158 (USA). 1022 p
- Taylor, H.F.W. (1997). Cement Chemistry, *Thomas Telford*.
- Taché G. (1998). Corrosion bactérienne des bétons. Biodétérioration des matériaux. E. Science. *EDP Sciences*. 181 – 188.
- Taylor, A. W. and Gurney, E. L. (1961). Solubilities of potassium and ammonium taranakites. *Journal of Physical Chemistry*. **65**: 1613 – 1616.
- Thiery, M. (2005). Modélisation de la carbonatation atmosphérique des matériaux cimentaires - Prise en compte des effets cinétiques et des modifications microstructurales et hydriques. Thèse de doctorat. École Nationale des Ponts et Chaussée. Structures et matériaux. 347 pages.
- Thistlethwayte, D. K. and Goleb, E. E. (1972). Sewers and storm water, the composition of sewer air: advances in water pollution research. Proceedings of the 16th International Congress, Jerusalem. 281 – 289.
- Thomson G. (2000). Corrosion and rehabilitation of concrete access/inspection chambers. In: Proceedings of 63rd annual water industry engineers and operators' conference. *Brauer College, Warrnambool, Australia*. 28 – 35.
- Tomohiro, K., Beninger, P. G., Decottignies P., Mathot, K. J., Lund, D. R., Elner, R. W. (2008). Biofilm grazing in a higher vertebrate : the western sandpiper, *Calidris Mauri*. *Ecology*. **89**(3): 599 - 606.
- Torii, K. and kawamura, M. (1994). Effet of fly ash and silica fume on the resistance of mortar to sulphuric acid and sulphate attack. *Cement and Concrete Research*. **24**(2): 361 - 370.
- Tulliani, J.-M., Montanaro, L., Negro, A. and Collepardi, M. (2002). Sulfate attack of concrete building foundations induced by sewage waters. *Cement and Concrete Research*. **32**(6): 843 - 849.
- USEPA (1985). Odor and corrosion control in sanitary sewerage systems and treatment plants, USEPA 625/1-85/018, Washington D. C. USA.
- US Environmental Protection Agency (1991). Hydrogen sulphide corrosion in wastewater collection and treatment system. *Technical Report*. 430/09-91-010.
- Vincke, E., Van Wanseele, E., Monteny, J., Beeldens, A., De Belie, N., Taerwe, L., Van Gemert, D. and Verstraete, W. (2002). Influence of polymer addition on biogenic sulfuric acid attack of concrete. *International Biodeterioration and Biodegradation*. **49**(4): 283 - 292.
- Vincke, E., Boon, N. and Verstraete, W. (2001). Analysis of the microbial communities on corroded concrete sewer pipes – a case study. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **57**(5-6): 776 - 785.
- Vincke, E., Verstichel, S., Monteny, J. and Verstraete, W. (1999). A new test procedure for biogenic sulfuric acid corrosion of concrete. *Biodegradation*. **10**(6): 421 - 428.
- Vishniac, W. and Santer, M. (1957). The *Thiobacilli*. *Bacteriological Reviews*. **21**: 195 - 213.
- Vishniac, W. (1952). The metabolism of *Thiobacillus thioparus*. 1. The oxidation of thiosulphate. *Journal of Bacteriology*. **64**: 363.
- Vollertsen, J., Nielsen, A.H., Jensen, H.S., Wium-Andersen, T., Hvitved-Jacobsen, T. (2008). Corrosion of concrete sewers – the kinetics of hydrogen sulfide oxidation. *Science of the Total Environment*. **394**(1): 162 – 170.
- Vrignaud, E. (1998). La détérioration des canalisations, in Le monde enterré des canalisations publiques, Mem. D.U. "Eau et environnement", D.E.P. Université de Picardie: Amiens. 53 pages.
- Waksman S. A. and Joffe J. S. (1922). Microorganisms concerned in the oxidation of sulfur in the soil II. *Thiobacillus thiooxidans*, a new sulfur-oxidizing organism isolated from the soil. *Journal of Bacteriology*. **7**: 239 – 56.
- Warscheid, T. and Braams, J. (2000). Biodeterioration of stone: a review. *International Biodeterioration and Biodegradation*. **46**(4): 343 - 368.

- Wiktor, V. (2008). Biodétérioration d'une matrice cimentaire par des champignons : Mise au point d'un test accéléré de laboratoire, Thèse de Doctorat, École Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, Génie des procédés. 182 pages.
- Webb, S. J., Nixon, M., Eastwood, M. I., Greenhalgh, M., Robson, D. G., Handley, S. P. (2000). Fungal Colonization and Biodeterioration of Plasticized Polyvinyl Chloride. *Applied Environmental Microbiology*. **66**(8): 3194 – 3200.
- Wood, A. P., Woodall, C. A. and Kelly, D. P. (2005). *Halothiobacillus neapolitanus* strain OSWA isolated from “The Old Sulphur Well” at Harrogate (Yorkshire, England). *Systematic and applied microbiology*. **28**(8): 746 – 748.
- Yang, W., Vollertsen, J., Hvitved-Jacobsen, T. (2005). Anoxic sulphide oxidation in wastewater of sewer networks. *Water Science Technology*. **52**(30): 191 – 199.
- Yongsiri, C., Vollertsen, J., Hvitved-Jacobsen, T. (2005). Influence of wastewater constituents on hydrogen sulfide emission in sewer networks. *Journal of Environmental Engineering*. **131**(12): 1676 – 1683.
- Yongsiri, C., Hvitved-Jacobsen, T., Vollertsen, J., Tanaka, N. (2003). Introducing the emission process of hydrogen sulfide to a sewer process model (WATS). *Water Science Technology*. **47**: 85 – 92.
- Yoshida, N., Morinaga, T. and Musooka, Y. (1993). Characterization and identification of bacterial strains isolated from corroded concrete in the accumulation stratum and their resistance level to heavy metals. *Journal of Fermentation and bioengineering*. Osaka, Japan. **76**: 400 – 402.
- Zhang, L., De Schryver, P., De Gussemme, B., De Muynck, W., Boon, N., Verstraete, W. (2008). Chemical and biological technologies for hydrogen sulfide emission control in sewer systems: a review. *Water Research*. **42**(1–2): 1 – 12.
- Zimmermann, R., Iturreaga, A., Becker-Birk, J. (1978). Simultaneous determination of the total number of aquatic bacteria and the number thereof involved in respiration. *Applied Environmental Microbiology*. **36**: 926 – 935.
- Zivica, V. and Bajza, A. (2002). Acidic attack of cement based materials – a review. Part 2. Factors of rate of acidic attack and protective measures. *Construction and Building Materials*. **16**(4): 215 – 222.
- Zivica, V. and Bajza, A. (2001). Acidic attack of cement based materials — a review. Part 1. Principle of acidic attack. *Construction and Building Materials*. **15**(8): 331 – 340.

LISTES DES FIGURES

&

TABLEAUX

Liste des figures

Figure 1 : Proportion de la population utilisant des installations d'assainissement améliorées en 2010 (OMS/UNICEF, 2012) -----	1
Figure 2 : Exemples de détérioration de matériaux en environnement naturel -----	3
Figure 3 : Schématisation du cycle du soufre dans les tuyaux d'égout avant l'étude de Parker en 1945a (A) et après l'étude de Parker en 1945a (B) (modifié de Roberts <i>et al.</i> , 2002) -----	7
Figure 4 : Schématisation du développement d'un biofilm bactérien (modifié de Ghigo, 2002) -----	12
Figure 5 : Photographies de différents types de tuyaux d'égout. a – tuyau d'égout en pierre Texas, USA ; b – tuyau d'égout en brique New York, USA ; c - tuyau d'égout en béton Texas, USA -----	19
Figure 6 : Zonation d'une pâte de ciment OPC après lixiviation à l'eau dé-ionisée et maintenue à pH 7, d'après Adenot (1992) -----	25
Figure 7 : Schématisation de la zonation d'un matériau CAC après lixiviation à l'eau, inspirée de Bayoux <i>et al.</i> (1990) -----	25
Figure 8 : Schématisation de la zonation d'une pâte OPC après attaque à l'acide sulfurique -----	30
Figure 9 : A - Photographie de l'intérieur d'un égout expérimental montrant la performance de différents matériaux cimentaires après 12 ans d'opération, Virginia (Afrique du Sud). B - Echantillons de mortier OPC et CAC après une exposition de 17 mois dans un égout [Alexander and Fourie, 2011] -----	30
Figure 10 : Schématisation de la zonation d'une pâte de ciment CAC après attaque à l'acide sulfurique pH < 3,5 -----	31
Figure 11 : Schématisation du processus de biodétérioration dans les égouts et des changements théoriques des propriétés biologiques et physiques du béton (modifié de Roberts <i>et al.</i> , 2002 et d'Islander <i>et al.</i> , 1991) -----	33
Figure 12 : Dispositifs expérimentaux de différents essais de biodétérioration en laboratoire ou in situ -----	37
Figure 13 : Biodétérioration de mortiers OPC par <i>A. thiooxidans</i> [Mori <i>et al.</i> , 1992] -----	38
Figure 14 : Perte de la masse de différentes formulations de mortier au cours des essais de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> [Hormann <i>et al.</i> , 1997] -----	39
Figure 15 : Image MEB de la pâte de ciment OPC après un contact de 40 jours avec une culture de <i>A. thiooxidans</i> . Le bord exposé se situe à gauche [Rogers <i>et al.</i> , 2003] -----	40
Figure 16 : Évolution comparative du relargage du calcium d'échantillons de pâte de ciment OPC/cobalt exposés à une culture mature de <i>A. thiooxidans</i> (pH = 1,9) ou à un milieu stérile d'acide sulfurique (pH = 1,9) [Rogers <i>et al.</i> , 2003] -----	41
Figure 17 : Dispositif expérimental permettant d'accélérer la dégradation d'échantillons de béton [De Belie <i>et al.</i> , 2004] -----	42
Figure 18 : A – Surface détériorée d'un échantillon de béton contenant des agrégats siliceux B- Surface détériorée d'un échantillon de béton contenant des agrégats calcaires. Les échantillons ont été soumis à un test biologique [De Belie <i>et al.</i> , 2004] -----	43
Figure 19 : Évolution dans le temps du pH de surface et de la masse des échantillons (A) ; des espèces bactériennes à la surface des échantillons (B) [Okabe <i>et al.</i> , 2007] -----	44

Figure 20 : Évolution dans le temps de l'aspect, des dimensions et de la structure des échantillons placés dans un tuyau d'égout [Okabe <i>et al.</i> , 2007]	44
Figure 21 : A - Évolution des concentrations des BSON, des BSOA ainsi que des BH exprimées en NPP de bactéries/mL et du pH au cours du temps (Cycle 1). B - Évolution des concentrations d'ions calcium relargués dans le milieu au cours des deux cycles de biodétérioration d'échantillons de béton exposés aux BSO et BH (SOM) ou à l'eau distillée (WW) [Gutiérrez-Padilla <i>et al.</i> , 2010]	45
Figure 22 : A - Analyse visuelle des mortiers OPC CEM I + sable, OPC CEM III + sable, CAC + Sable, CAC + Laitier et CAC + Alag après 1 an d'expérimentation. B - Observation au MEB de la surface des mortiers exposés durant 281 j dans l'enceinte de biodétérioration [Herisson, 2012]	47
Figure 23 : A - Photographies de l'évolution des échantillons de mortier OPC et CAC sur le site d'exposition. B - Mesure d'ATP dans l'eau des manches des échantillons en fonction de la concentration en aluminium total [Herisson, 2012]	48
Figure 24 : A - Biofilm bactérien d' <i>A. thiooxidans</i> formé à la surface du mortier OPC. B - Cartographie d'une section polie de mortier OPC après 5 mois de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> [Hajj Chehade, 2010]	49
Figure 25 : Représentation schématisée des interactions lors de l'essai de biodétérioration	55
Figure 26 : Logigramme de la démarche expérimentale utilisée pour l'essai de biodétérioration	57
Figure 27 : Courbes thermogravimétriques du ciment OPC	62
Figure 28 : Analyse DRX du ciment OPC et détermination des phases majeures présentes	64
Figure 29 : Courbes thermogravimétriques du ciment CAC	64
Figure 30 : Analyse DRX du ciment CAC et détermination des phases majeures présentes	66
Figure 31 : Géométrie du mortier cylindrique	67
Figure 32 : Distribution poreuse des mortiers OPC et CAC de E/C = 0,5	68
Figure 33 : Analyse DRX du mortier OPC et détermination des phases majeures présentes	68
Figure 34 : Analyse DRX du mortier CAC et détermination des phases majeures présentes	69
Figure 35 : Capacité de neutralisation des pâtes de ciment OPC et CAC [Letourneux and Scrivener, 1999]	70
Figure 36 : Dispositif expérimental pour la pré-lixiviation des échantillons de mortiers	71
Figure 37 : Évolution du rapport Ca/Si dans le mortier OPC (A), observations MEB (B) et analyses EDS (Za, Zb et Zc) du mortier OPC pré-lixivié 5 h dans une solution d'HCl à pH = 2	74
Figure 38 : Évolution du rapport Ca/Si dans le mortier CAC (A), observations MEB (B) et analyses EDS (Za, Zb et Zc) du mortier CAC pré-lixivié 12 h dans une solution d'HCl à pH = 2	75
Figure 39 : Schéma résumant procédure expérimentale pour le suivi des cultures bactériennes	79
Figure 40 : Évolution théorique d'une culture bactérienne [modifié de l'Encyclopédie Universalis, 1977]	80
Figure 41 : A - Évolution du pH des cultures de BSO réalisées dans le milieu II. B - Évolution du nombre de bactéries actives des cultures de BSO réalisées dans le milieu II. Les barres d'erreur représentent la limite de confiance à 95% des triplicatas	80
Figure 42 : A - Évolution du pH des cultures de <i>H. neapolitanus</i> et <i>A. thiooxidans</i> réalisées dans le milieu III. B - Évolution du nombre de bactéries actives des cultures de <i>H. neapolitanus</i> et <i>A. thiooxidans</i> réalisées dans le milieu III. Les barres d'erreur représentent la limite de confiance à 95% des triplicatas	83
Figure 43 : A - Évolution de la quantité d'ions sulfate produits, d'ions thiosulfate consommés et d'ions tétrathionate accumulés par les cultures de <i>H. neapolitanus</i> réalisées dans le milieu III. B - Évolution de la	

quantité d'ions sulfate produits, d'ions thiosulfate consommés et de soufre élémentaire accumulé par les cultures de <i>A. thiooxidans</i> réalisées dans le milieu III	84
Figure 44 : Évolution des quantités d'ions hydronium générés par les bactéries ou calculés à partir du pH pour des cultures de <i>H. neapolitanus</i> (A) ou de <i>A. thiooxidans</i> (B) réalisées dans le milieu III	87
Figure 45 : Analyse DRX du précipité formé dans le milieu III à pH > 6,5	89
Figure 46 : A - Évolution du pH des cultures de <i>H. neapolitanus</i> et B - Évolution du nombre de bactéries actives des cultures de <i>H. neapolitanus</i> réalisées dans le milieu III à différents pH initiaux. Les barres d'erreur représentent la limite de confiance à 95% des triplicatas	90
Figure 47 : A - Évolution du taux de croissance et de la production d'ions hydronium et B - Évolution de la quantité d'ions sulfate produite, d'ions thiosulfate consommés et d'ions tétrathionate accumulés par les cultures de <i>H. neapolitanus</i> en fonction du pH initial du milieu de culture	92
Figure 48 : A - Évolution du pH des cultures de <i>A. thiooxidans</i> et B - Évolution du nombre de bactéries actives des cultures de <i>A. thiooxidans</i> réalisées dans le milieu III à différents pH initiaux. Les barres d'erreur représentent la limite de confiance à 95% des triplicatas	93
Figure 49 : A - Évolution du taux de croissance et de la production d'ions hydronium et B - Évolution de la quantité d'ions sulfate produite, d'ions thiosulfate consommée et de soufre élémentaire accumulée par les cultures de <i>A. thiooxidans</i> en fonction du pH initial du milieu de culture	93
Figure 50 : Dispositif expérimental de l'essai de biodétérioration des mortiers OPC ou CAC	97
Figure 51 : Schématisation du protocole expérimental utilisé pour l'essai de biodétérioration	98
Figure 52 : Schématisation de l'application des trois volets de l'essai de biodétérioration	101
Figure 53 : Évolution du pH des milieux réactionnels en contact de mortiers OPC (OA4x, OA4y, OA2) au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> (↑ renouvellement du milieu réactionnel)	103
Figure 54 : pH moyens finaux des milieux réactionnels en contact de mortiers OPC au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	103
Figure 55 : Etat du milieu réactionnel avant et après la mise en œuvre de cycle de biodétérioration de mortiers OPC avec <i>A. thiooxidans</i>	104
Figure 56 : Analyse DRX du précipité obtenu dans le milieu réactionnel à la fin du cycle 1 au cours de l'essai de biodétérioration des mortiers OPC par <i>A. thiooxidans</i>	105
Figure 57 : Évolution des ions thiosulfate (A) et sulfate (B) en solution dans les milieux réactionnels en contact des mortiers OPC (OA4x, OA4y, OA2) au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> (↓ renouvellement du milieu réactionnel)	106
Figure 58 : A - Quantité d'ions hydronium générés par <i>A. thiooxidans</i> et neutralisés par le mortier au cours de l'essai de biodétérioration. B - Quantité d'ions sulfate générés par les bactéries, présents en solution et précipités dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration	106
Figure 59 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration	108
Figure 60 : Évolution du nombre de bactéries actives dans les milieux réactionnels en contact des mortiers OPC (OA4x, OA4y, OA2) au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> (↓ renouvellement du milieu réactionnel)	109

Figure 61 : Quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC à la fin de la prélixiviation et des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	110
Figure 62 : Évolution des quantités de Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC en fonction du pH final des milieux réactionnels -----	110
Figure 63 : Vitesses moyennes de relargage en solution des éléments Si, Al, Fe et Ca par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	111
Figure 64 : Ratio molaire Ca/Si calculé à partir des quantités moyennes cumulées des éléments Ca et Si contenus dans les mortiers OPC ou relargués en solution par ces derniers au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	112
Figure 65 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relargués en solution par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction du temps (A) et de la racine carrée du temps (B) ; les droites représentent les régressions linéaires des courbes -----	113
Figure 66 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relargués en solution par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium générés par <i>A. thiooxidans</i> (A) ou neutralisés par le mortier (B) -----	114
Figure 67 : Mortiers OPC après 2 et 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	116
Figure 68 : Coupes transversales des mortiers OPC OA2, OA4y et OA4x après 2 ou 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	116
Figure 69 : Observations au MEB du mortier OPC OA4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	119
Figure 70 : Analyses EDS de certaines zones du mortier OA4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	120
Figure 71 : Analyses EDS de certaines zones du mortier OA4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	121
Figure 72 : A - Photographie de l'intérieur d'un égout dont les parois sont recouvertes d'une couche de gypse [Herisson, 2012]. B – Analyse MEB de cristaux de gypse formé dans la pâte de ciment à côté d'un granulats siliceux après attaque par l'acide sulfurique [Monteny et al., 2010] -----	123
Figure 73 : Cartographies des éléments Ca, Si, Al, Fe et Ti contenus dans la bordure du mortier OPC OA4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	124
Figure 74 : Cartographies des éléments S, P, K, Na et Cl contenus dans la bordure du mortier OPC OA4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	125
Figure 75 : Observations au MEB du mortier OPC OA2 après 2 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	130
Figure 76 : Quelques analyses EDS de certaines zones du mortier OA2 après 2 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	131
Figure 77 : Représentation schématique de la zonation des mortiers AO4y et AO2 après respectivement 4 cycles et 2 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> . L'indice « a » indique que les phases ne sont pas stables et donc sont partiellement dissoutes dans la zone -----	132

Figure 78 : Évolution dans le temps des épaisseurs des différentes zones composant le mortier OPC soumis à un essai de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	133
Figure 79 : Évolution du pH des milieux réactionnels en contact de mortiers CAC (CA4x, CA4y, CA2) au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> (↑ renouvellement du milieu réactionnel) -----	135
Figure 80 : pH moyens finaux des milieux réactionnels en contact de mortiers CAC et OPC au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	135
Figure 81 : Etat du milieu réactionnel avant et après la mise en œuvre de cycle de biodétérioration de mortiers CAC avec <i>A. thiooxidans</i> -----	136
Figure 82 : Analyses DRX et MEB du précipité obtenu dans le milieu réactionnel à la fin du cycle I au cours de l'essai de biodétérioration des mortiers CAC par <i>A. thiooxidans</i> -----	136
Figure 83 : Évolution des ions thiosulfate (A) et sulfate (B) en solution dans les milieux réactionnels en contact des mortiers CAC (CA4x, CA4y, CA2) au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> (↓ renouvellement du milieu réactionnel) -----	137
Figure 84 : A – Quantité d'ions hydronium générés par <i>A. thiooxidans</i> et neutralisés par le milieu et le mortier au cours de l'essai de biodétérioration. B – Quantité d'ions sulfate générés par les bactéries, présents en solution et précipités dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration -----	138
Figure 85 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration -----	139
Figure 86 : Évolution du nombre de bactéries actives dans les milieux réactionnels en contact des mortiers CAC (CA4x, CA4y, CA2) au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> (↓ renouvellement du milieu réactionnel) -----	140
Figure 87 : Formation d'agrégats de <i>A. thiooxidans</i> après 21 j de croissance dans le milieu réactionnel en contact de mortiers CAC -----	141
Figure 88 : Évolution des quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC en fonction des pH des milieux réactionnels -----	142
Figure 89 : Vitesses moyennes de relargage en solution des éléments Si, Al, Fe et Ca par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	143
Figure 90 : Ratio molaire Ca/Al calculé à partir des quantités moyennes des éléments Ca et Al contenus dans les mortiers CAC ou relargués en solution par ces derniers au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	143
Figure 91 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relargués en solution par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction du temps (A) et de la racine carrée du temps (B) ; les droites représentent les régressions linéaires des courbes -----	145
Figure 92 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relargués en solution par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium générés par <i>A. thiooxidans</i> (A) ou neutralisés par le mortier (B) -----	145
Figure 93 : Mortiers CAC après 2 cycles et 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	146
Figure 94 : Coupes transversales des mortiers CAC CA2, CA4x et CA4y après 2 ou 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	147

Figure 95 : Observations au MEB du mortier CAC CA4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	149
Figure 96 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CA4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	150
Figure 97 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CA4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	151
Figure 98 : Cartographies de Si, Al, Fe et Ti contenus dans la bordure du mortier CAC CA4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	154
Figure 99 : Cartographies de P, K, Na et Cl contenus dans la bordure du mortier CAC CA4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	155
Figure 100 : Image MEB d'une section polie du mortier CA4y après 4 cycles de biodétérioration	156
Figure 101 : Observations au MEB du mortier CAC CA2 après 2 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	158
Figure 102 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CA2 après 2 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	159
Figure 103 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CA2 après 2 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	160
Figure 104 : Représentation schématique de la zonation des mortiers CA4y et CA2 après respectivement 4 cycles et 2 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	161
Figure 105 : Évolution dans le temps des épaisseurs des différentes zones composant le mortier CAC soumis à un essai de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	162
Figure 106 : Évolution du pH des milieux réactionnels en contact des OA4y et CA4y au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> (↑ renouvellement du milieu réactionnel)	164
Figure 107 : Production d'ions hydronium dans les milieux réactionnels en contact de mortiers OA4y et CA4y au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	164
Figure 108 : Représentation schématique de la zonation des mortiers OA4y et CA4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	167
Figure 109 : Évolution des Indices d'attaque des mortiers OPC et CAC au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	168
Figure 110 : Évolution des Indices d'attaque global des mortiers OPC et CAC au cours de l'essai de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	169
Figure 111 : Évolution du pH des milieux réactionnels en contact de mortier OPC (ON4x, ON2, ON4y) au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> (↑ renouvellement du milieu réactionnel)	171
Figure 112 : pH moyens finaux des milieux réactionnels en contact de mortiers OPC au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	171
Figure 113 : Etat du milieu réactionnel avant et après un cycle de biodétérioration de mortier OPC avec <i>H. neapolitanus</i>	172
Figure 114 : Évolution des ions thiosulfate (A) et sulfate (B) en solution dans les milieux réactionnels en contact des mortiers OPC (ON4x, ON4y, ON2) au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> (↓ renouvellement du milieu réactionnel)	173

Figure 115 : A – Quantité d'ions hydronium générés par <i>H. neapolitanus</i> et neutralisés par le mortier au cours de l'essai de biodétérioration. B - Quantité d'ions sulfate générés par les bactéries, présents en solution et précipités dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration. Les ions hydronium non générés correspondent au tétrathionate accumulé	174
Figure 116 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution à la fin de cycle et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration	175
Figure 117 : Évolution du nombre de bactéries actives dans les milieux réactionnels en contact des mortiers OPC (ON4x, ON4y, ON2) au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> (↓ renouvellement du milieu réactionnel)	176
Figure 118 : Quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC au cours de la prélixiviation et des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	177
Figure 119 : Évolution des quantités de Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC en fonction des pH des milieux réactionnels (agrandissement de la figure précédente)	177
Figure 120 : Vitesses moyennes de relargage en solution des éléments Si, Al, Fe et Ca par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	178
Figure 121 : Ratio molaire Ca/Si calculé à partir des quantités moyennes des éléments Ca et Si relargués en solution par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	179
Figure 122 : Évolution des quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC au cours des essais de biodétérioration de <i>H. neapolitanus</i> et <i>A. thiooxidans</i> représentée en fonction des pH des solutions pré-lixiviantes et des milieux réactionnels	179
Figure 123 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relargués en solution par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction du temps (A) et de la racine carrée du temps (B) ; les droites représentent les régressions linéaires des courbes	180
Figure 124 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relargués en solution par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium générés par <i>H. neapolitanus</i> (A) ou neutralisés par le mortier (B)	180
Figure 125 : Mortier OPC après 2 cycles et 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	181
Figure 126 : Coupes transversales des mortiers OPC ON2, ON4y et ON4x après 2 ou 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	182
Figure 127 : Observations au MEB du mortier OPC ON4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	184
Figure 128 : Analyses EDS de certaines zones du mortier ON4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	185
Figure 129 : Analyses EDS de certaines zones du mortier ON4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	186
Figure 130 : Analyses EDS des éléments Ca, Si, Al, Fe et Ti contenus dans la bordure du mortier OPC ON4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	188
Figure 131 : Cartographies des éléments S, P, K, Na et Cl contenus dans la bordure du mortier OPC ON4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	189

Figure 132 : Observations au MEB du mortier OPC ON2 après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	192
Figure 133 : Analyses EDS de certaines zones du mortier ON2 après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	193
Figure 134 : Représentation schématique de la zonation des mortiers ON4y et ON2 après respectivement 4 cycles et 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> . L'indice « a » indique que les phases ne sont pas stables et donc sont partiellement dissoutes dans la zone	194
Figure 135 : Évolution dans le temps des épaisseurs des différentes zones composant le mortier OPC soumis à un essai de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	195
Figure 136 : Évolution du pH des milieux réactionnels en contact de mortier CAC (CN4x, CN2, CN4y) au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> (↑ renouvellement du milieu réactionnel)	197
Figure 137 : pH moyens finaux des milieux réactionnels en contact de mortiers CAC et OPC au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	197
Figure 138 : Etat du milieu réactionnel avant et après la mise en œuvre de cycles de biodétérioration de mortier CAC avec <i>H. neapolitanus</i>	198
Figure 139 : Analyses DRX et MEB du précipité obtenu dans le milieu réactionnel à la fin du cycle 1 au cours de l'essai de biodétérioration des mortiers CAC par <i>H. neapolitanus</i>	198
Figure 140 : Analyse visuelle de l'évolution de la couche de revêtement au cours des cycles de biodétérioration du mortier CAC par <i>H. neapolitanus</i>	199
Figure 141 : Analyses MEB du précipité obtenu à la surface des mortiers CAC à la fin du cycle 4 au cours de l'essai de biodétérioration des mortiers CAC par <i>H. neapolitanus</i>	199
Figure 142 : Évolution des ions thiosulfate (A) et sulfate (B) en solution dans les milieux réactionnels en contact des mortiers CAC (CN4x, CN4y, CN2) au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> (↓ renouvellement du milieu réactionnel)	200
Figure 143 : A – Quantité d'ions hydronium générés par <i>H. neapolitanus</i> et neutralisés par le mortier au cours de l'essai. B - Quantité d'ions sulfate générés par les bactéries, présents en solution et précipités dans le mortier. Les ions hydronium non générés correspondent au tétrathionate accumulé	200
Figure 144 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier et en solution au cours de l'essai de biodétérioration	203
Figure 145 : Évolution du nombre de bactéries actives dans les milieux réactionnels en contact des mortiers CAC (CN4x, CN4y, CN2) au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> (↓ renouvellement du milieu réactionnel)	204
Figure 146 : Formation d'agrégats de <i>H. neapolitanus</i> après 21 j de croissance dans le milieu réactionnel en contact des mortiers CAC. Observations sous microscope à épifluorescence après coloration à l'acridine orange	205
Figure 147 : Évolution des quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC en fonction des pH des milieux réactionnels	206
Figure 148 : Vitesses moyennes de relargage en solution des éléments Si, Al, Fe et Ca par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	207

Figure 149 : Ratio molaire Ca/Al calculé à partir des quantités moyennes des éléments Ca et Al relargués en solution par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	208
Figure 150 : Évolution des quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC au cours des essais de biodétérioration de <i>H. neapolitanus</i> et <i>A. thiooxidans</i> en fonction du pH des solutions prélixivantes et des milieux réactionnels -----	208
Figure 151 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction du temps (A) et de la racine carrée du temps (B) ; les droites représentent les régressions linéaires des courbes -----	209
Figure 152 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium générés par <i>H. neapolitanus</i> (A) ou neutralisés par le milieu et le mortier (B) -----	209
Figure 153 : Coupes transversales des mortiers CAC CN2, CN4y et CN4x après 2 ou 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> . Le diamètre initial des mortiers est de 2,9 cm -----	211
Figure 154 : Observations au MEB du mortier CAC ON4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	213
Figure 155 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CN4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	214
Figure 156 : Cartographies des éléments Ca, Si, Al, Fe, Ti, S, P, K, Na et Cl contenus dans la bordure du mortier CAC CN4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	215
Figure 157 : Observations au MEB du mortier CAC ON2 après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	217
Figure 158 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CN2 après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	218
Figure 159 : Représentation schématique de la zonation des mortiers CN4y et CN2 après respectivement 4 cycles et 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	220
Figure 160 : Évolution dans le temps des épaisseurs des différentes zones composant le mortier CAC soumis à un essai de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	220
Figure 161 : Évolution du pH des milieux réactionnels en contact des ON4y et CN4y au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> (↑ renouvellement du milieu réactionnel) -----	222
Figure 162 : Production d'ions hydronium dans les milieux réactionnels en contact de mortiers ON4y et CN4y au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	222
Figure 163 : Représentation schématique de la zonation des mortiers ON4y et CN4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	224
Figure 164 : Évolution des indices d'attaque des mortiers OPC et CAC au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> et <i>A. thiooxidans</i> -----	226
Figure 165 : Évolution des Indices d'attaque globaux des mortiers OPC et CAC au cours de l'essai de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> -----	226

Figure 166 : Évolution du pH des milieux réactionnels au contact de mortiers OPC (ON2A1, ON2A2x, ON2A2y) au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> (↑ renouvellement du milieu réactionnel) -----	228
Figure 167 : pH moyens finaux des milieux réactionnels au contact de mortiers OPC au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	228
Figure 168 : Etat du milieu réactionnel au cours de la biodétérioration de mortiers OPC par la succession bactérienne -----	229
Figure 169 : Évolution des ions thiosulfate (A) et sulfate (B) en solution dans les milieux réactionnels au contact des mortiers OPC (ON2A1, ON2A2x, ON2A2y) au cours des cycles de biodétérioration par la succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> (↓ renouvellement du milieu réactionnel) -----	229
Figure 170 : A – Quantités d'ions hydronium générés par les BSO et neutralisés par le milieu et le mortier au cours de l'essai de biodétérioration. B - Quantité d'ions sulfate générés par les BSO, présents en solution et précipités dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration -----	230
Figure 171 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration -----	231
Figure 172 : Évolution du nombre de bactéries actives dans les milieux réactionnels au contact des mortiers OPC (ON2A1, ON2A2x, ON2A2y) au cours des cycles de biodétérioration par la succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> (↓ renouvellement du milieu réactionnel) -----	232
Figure 173 : Quantités de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC au cours de la prélixiviation et des cycles de biodétérioration par la succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	232
Figure 174 : Vitesses moyennes de relargage en solution des éléments Si, Al, Fe et Ca par les mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par la succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	233
Figure 175 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC après la biodétérioration par la phase <i>H. neapolitanus</i> (A) ou la phase <i>A. thiooxidans</i> (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction du temps -----	234
Figure 176 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC après la biodétérioration par la phase <i>H. neapolitanus</i> (A) ou la phase <i>A. thiooxidans</i> (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la racine carrée du temps -----	235
Figure 177 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC après la biodétérioration par la phase <i>H. neapolitanus</i> (A) ou la phase <i>A. thiooxidans</i> (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium générée par les bactéries -----	236
Figure 178 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relarguées en solution par les mortiers OPC après la biodétérioration par la phase <i>H. neapolitanus</i> (A) ou la phase <i>A. thiooxidans</i> (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium neutralisée par les mortiers -----	236
Figure 179 : Mortier OPC après 2 cycles, 3 cycles et 4 cycles de biodétérioration par une succession de <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	237
Figure 180 : Coupes transversales des mortiers OPC ON2A1, ON2A2y et ON2A2x après 3 ou 4 cycles de biodétérioration par une succession de <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	237
Figure 181 : Observations au MEB du mortier OPC ON2A2y après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 2 cycles par <i>A. thiooxidans</i> -----	239

Figure 182 : Analyses EDS de certaines zones du mortier ON2A2y après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 2 cycles par <i>A. thiooxidans</i> -----	240
Figure 183 : Analyses EDS de certaines zones du mortier ON2A2y après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 2 cycles par <i>A. thiooxidans</i> -----	241
Figure 185 : Analyses EDS des éléments S, P, K, Na et Cl contenus dans la bordure du mortier OPC ON2A2y après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 2 cycles par <i>A. thiooxidans</i> -----	243
Figure 184 : Cartographies des éléments Ca, Si, Al, Fe et Ti contenus dans la bordure du mortier OPC ON2A2y après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 2 cycles par <i>A. thiooxidans</i> -----	245
Figure 186 : Observations au MEB du mortier OPC ON2A1 après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 1 cycles par <i>A. thiooxidans</i> -----	246
Figure 187 : Analyses EDS de certaines zones du mortier ON2A1 après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 1 cycles par <i>A. thiooxidans</i> -----	247
Figure 188 : Représentation schématique de la zonation des mortiers ON2A2y et ON2A1 après la succession bactérienne <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> . L'indice « a » indique que les phases ne sont pas stables et donc sont partiellement dissoutes dans la zone -----	249
Figure 189 : Évolution dans le temps des épaisseurs des différentes zones composant le mortier OPC soumis à un essai de biodétérioration par une succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	249
Figure 190 : Évolution des Indices d'attaque pour chaque cycle des mortiers OPC au cours des essais de biodétérioration avec <i>A. thiooxidans</i> , <i>H. neapolitanus</i> ou avec la succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	251
Figure 191 : Évolution du pH des milieux réactionnels au contact de mortiers CAC (CN2A1, CN2A2x, CN2A2y) au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> (↑ renouvellement du milieu réactionnel) -----	251
Figure 192 : pH moyens finaux des milieux réactionnels au contact de mortiers CAC au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	252
Figure 193 : Etat du milieu réactionnel au cours de la biodétérioration de mortiers CAC par la succession bactérienne -----	252
Figure 194 : Analyse DRX des précipités obtenus dans les milieux réactionnels à la fin des cycles de biodétérioration des mortiers CAC par <i>H. neapolitanus</i> (A) et <i>A. thiooxidans</i> (B). Analyses MEB des précipités (C) avec <i>H. neapolitanus</i> et (D) avec <i>A. thiooxidans</i> -----	253
Figure 195 : Analyse visuelle de l'évolution de la couche de revêtement au cours des cycles de biodétérioration du mortier CAC par la succession de <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	254
Figure 196 : Évolution des ions thiosulfate (A) et sulfate (B) en solution dans les milieux réactionnels au contact des mortiers CAC (CN2A1, CN2A2x, CN2A2y) au cours des cycles de biodétérioration par la succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> (↓ renouvellement du milieu réactionnel) -----	254
Figure 197 : A – Quantités d'ions hydronium générées par les BSO et neutralisées par le milieu et le mortier au cours de l'essai de biodétérioration. B – Quantité d'ions sulfates générées par les BSO, présentes en solution et précipitées dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration -----	255
Figure 198 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration -----	256

Figure 199 : Évolution du nombre de bactéries actives dans les milieux réactionnels en contact des mortiers CAC (CN2A1, CN2A2x, CN2A2y) au cours des cycles de biodétérioration par la succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> (↓ renouvellement du milieu réactionnel)	257
Figure 200 : Quantités de Ca, Si, Al, et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC au cours de la prélixiviation et de la succession de <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i>	258
Figure 201 : Vitesses moyennes de relargage en solution des éléments Si, Al, Fe et Ca par les mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par la succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i>	259
Figure 202 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC après la biodétérioration par la phase <i>H. neapolitanus</i> (A) ou la phase <i>A. thiooxidans</i> (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction du temps	260
Figure 203 : Fractions cumulées de Ca, Si, Al et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC après la biodétérioration par la phase <i>H. neapolitanus</i> (A) ou la phase <i>A. thiooxidans</i> (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la racine carrée du temps	260
Figure 204 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC après la biodétérioration par la phase <i>H. neapolitanus</i> (A) ou la phase <i>A. thiooxidans</i> (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium générée par les bactéries	261
Figure 205 : Fractions cumulées de Ca, Al, Si et Fe relarguées en solution par les mortiers CAC après la biodétérioration par la phase <i>H. neapolitanus</i> (A) ou la phase <i>A. thiooxidans</i> (B) normalisées à la surface des échantillons et représentées en fonction de la quantité d'ions hydronium neutralisée par les mortiers	261
Figure 206 : Mortier CAC après 3 cycles et 4 cycles de biodétérioration par la succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i>	262
Figure 207 : Coupes transversales des mortiers CAC CN2A1, CN2A2y et CN2A2x après 3 ou 4 cycles de biodétérioration par la succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i>	263
Figure 208 : Observations au MEB du mortier CAC CN2A2y après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 2 cycles par <i>A. thiooxidans</i>	265
Figure 209 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CN2A2y après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 2 cycles par <i>A. thiooxidans</i>	266
Figure 210 : cartographies des éléments Ca, Si, Al, Fe et Ti contenus dans la bordure du mortier CAC CN2A2y après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 2 cycles par <i>A. thiooxidans</i>	267
Figure 211 : Cartographies des éléments S, P, K, Na et Cl contenus dans la bordure du mortier CAC CN2A2y après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 2 cycles par <i>A. thiooxidans</i>	268
Figure 212 : Observations au MEB du mortier CAC CN2A1 après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 1 cycle par <i>A. thiooxidans</i>	270
Figure 213 : Analyses EDS de certaines zones du mortier CN2A1 après 2 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis 1 cycle par <i>A. thiooxidans</i>	271
Figure 214 : Représentation schématique de la zonation des mortiers CN2A2y et CN2A1 après la succession bactérienne	272
Figure 215 : Évolution dans le temps des épaisseurs des différentes zones composant le mortier CAC soumis à un essai de succession de BSO	273

Figure 216 : Évolution des Indices d'attaque des mortiers CAC au cours des essais de biodétérioration avec les BSO <i>A. thiooxidans</i> ou avec la succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	274
Figure 217 : Évolution du pH des milieux réactionnels au contact des ON2A2y et CN2A2y au cours de la succession bactérienne (↑ renouvellement du milieu réactionnel) -----	275
Figure 218 : Production d'ions hydronium dans les milieux réactionnels au contact des ON2A2y et CN2A2y au cours des cycles de biodétérioration avec la succession bactérienne -----	275
Figure 219 : Évolution des Indices d'attaque des mortiers OPC et CAC au cours de chaque cycle de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> . Les lignes pleines représentent l'IA global pour les deux essais -----	277

Liste des tableaux

<u>Tableau 1</u> : Caractéristiques de croissance des BSO responsables de la biodétérioration	18
<u>Tableau 2</u> : Abréviations utilisées pour décrire la chimie des différents constituants du ciment	20
<u>Tableau 3</u> : Composition en éléments chimiques du ciment OPC	63
<u>Tableau 4</u> : Composition molaire moyenne des principaux éléments chimiques de la pâte de ciment contenue dans le mortier OPC. Écart-types calculés sur trois échantillons de mortiers de différentes masses	63
<u>Tableau 5</u> : Composition en éléments chimiques du ciment CAC	65
<u>Tableau 6</u> : Composition molaire moyenne des principaux éléments chimiques de la pâte de ciment contenue dans le mortier CAC. Écart-types calculés sur trois échantillons de mortiers de différentes masses	65
<u>Tableau 7</u> : Porosité totale des mortiers étudiés	67
<u>Tableau 8</u> : Quantités des principaux éléments chimiques relargués par le mortier au cours de la pré-lixiviation à pH=2 des mortiers OPC et CAC destinés à la biodétérioration pour les BSON permettant de calculer l'indice d'attaque pour l'étape de pré-lixiviation	72
<u>Tableau 9</u> : Quantités des principaux éléments chimiques relargués par le mortier au cours de la pré-lixiviation à pH=1 des mortiers OPC et CAC destinés à la biodétérioration pour les BSOA permettant de calculer l'indice d'attaque pour l'étape de pré-lixiviation	72
<u>Tableau 10</u> : Composition chimique des milieux préconisés par DMSZ	76
<u>Tableau 11</u> : Critères de sélection de la source de soufre. (+) Action possible, (-) action impossible	77
<u>Tableau 12</u> : Composition chimique du milieu II	78
<u>Tableau 13</u> : Paramètres de croissance des espèces BSO dans le milieu II	81
<u>Tableau 14</u> : Composition chimique du milieu III	82
<u>Tableau 15</u> : Paramètres de croissance de <i>H. neapolitanus</i> et <i>A. thiooxidans</i> dans le milieu III	82
<u>Tableau 16</u> : Quantités d'acide sulfurique calculée à partir du pH et variation par rapport à la quantité d'acide sulfurique attendue au cours des croissances de <i>H. neapolitanus</i> et <i>A. thiooxidans</i> dans le milieu III	83
<u>Tableau 17</u> : Quantités de composés soufrés initiales, produites et accumulées au cours des croissances de <i>H. neapolitanus</i> et <i>A. thiooxidans</i> dans le milieu III. Quantité d'ions hydronium utilisés pour neutraliser le milieu III	85
<u>Tableau 18</u> : Évolution du milieu III en fonction du pH, (-) absence de précipité blanc, (+) présence de précipité blanc	89
<u>Tableau 19</u> : Paramètres de croissance des cultures de <i>H. neapolitanus</i> et <i>A. thiooxidans</i> dans le milieu III à différents pH initiaux	91
<u>Tableau 20</u> : Quantités de composés soufrés produits, accumulés et quantité d'ions hydronium utilisés pour neutraliser le milieu au cours des croissances de <i>H. neapolitanus</i> dans le milieu III à différents pH initiaux	92
<u>Tableau 21</u> : Quantités de composés soufrés produits, accumulés et quantité d'ions hydronium utilisés pour neutraliser le milieu au cours des croissances de <i>A. thiooxidans</i> dans le milieu III à différents pH initiaux	94
<u>Tableau 22</u> : Nomenclature des trois variantes de l'essai de biodétérioration. Avec : O pour mortier OPC ; C pour mortier CAC ; A pour BSOA <i>A. thiooxidans</i> ; N pour BSON <i>H. neapolitanus</i> ; (1, 2, 3 ou 4) pour le nombre de cycles et (x, y) pour les doublons	100

<u>Tableau 23</u> : Etat du milieu réactionnel et production moyenne de soufre élémentaire après 21 jours pour chaque cycle de biodétérioration des mortiers OPC par <i>A. thiooxidans</i> . (+) présence de précipité, (-) absence de précipité	105
<u>Tableau 24</u> : Quantités de composés soufrés produits, accumulés et des quantités d'ions hydronium neutralisés par le milieu et le mortier OPC au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	107
<u>Tableau 25</u> : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration	108
<u>Tableau 26</u> : Moyennes des quantités d'éléments chimiques relargués en solution par les mortiers OPC au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	112
<u>Tableau 27</u> : Mesures des diamètres et des épaisseurs perdues par les mortiers OPC après l'essai de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> . Le diamètre initial du mortier est de 29 mm. nd = non déterminé	117
<u>Tableau 28</u> : Évolution de la masse de taranakite précipitée dans le milieu réactionnel au cours des cycles de biodétérioration de mortiers CAC par <i>A. thiooxidans</i>	137
<u>Tableau 29</u> : Quantités de composés soufrés produits, accumulés et quantité d'ions hydronium neutralisés par le milieu et le mortier au cours des croissances de <i>A. thiooxidans</i> dans le milieu III à différents pH initiaux	138
<u>Tableau 30</u> : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration	139
<u>Tableau 31</u> : Moyennes des quantités d'éléments chimiques relargués en solution par les mortiers CAC au cours des cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	144
<u>Tableau 32</u> : Mesures des diamètres, des épaisseurs perdues et des vitesses de détérioration des mortiers CAC après l'essai de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i> . Le diamètre initial du mortier est de 29 mm. Nd = non déterminé	147
<u>Tableau 33</u> : Vitesses de détérioration de mortiers/bétons au cours d'essai de biodétérioration	148
<u>Tableau 34</u> : Evaluations macroscopiques et microscopiques des épaisseurs et des vitesses de détérioration, d'altération et d'attaque des mortiers OA4y et CA4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>A. thiooxidans</i>	165
<u>Tableau 35</u> : Indices d'attaque de l'essai de biodétérioration des mortiers OPC et CAC	168
<u>Tableau 36</u> : Quantités de composés soufrés produits, accumulés et des quantités d'ions hydronium neutralisés par le milieu et le mortier au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	174
<u>Tableau 37</u> : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de chaque cycle de l'essai de biodétérioration	175
<u>Tableau 38</u> : Moyennes des quantités d'éléments chimiques relargués en solution par les mortiers OPC au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	179
<u>Tableau 39</u> : Mesures des diamètres, des épaisseurs perdues et des vitesses de détérioration des mortiers OPC après l'essai de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> . Le diamètre initial du mortier est de 29 mm. Nd = non déterminé	182
<u>Tableau 40</u> : Évolution de la masse de taranakite précipitée dans le milieu réactionnel au cours des cycles de biodétérioration de mortiers CAC par <i>H. neapolitanus</i>	198
<u>Tableau 41</u> : Quantités de composés soufrés produits, accumulés et des quantités d'ions hydronium neutralisés par le mortier au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i>	201

Tableau 42 : Quantités de composés soufrés accumulés dans le milieu et dans le mortier au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	202
Tableau 43 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier et en solution au cours de l'essai de biodétérioration -----	203
Tableau 44 : Quantité d'ions phosphate en solution, précipitée dans/sur le mortier au cours des essais de biodétérioration -----	204
Tableau 45 : Moyennes des quantités d'éléments chimiques relargués en solution par les mortiers CAC au cours des cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	207
Tableau 46 : Mesures des diamètres, des épaisseurs perdues et des vitesses de détérioration des mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> . Le diamètre initial du mortier est de 29 mm -----	211
Tableau 47 : Evaluations macroscopiques et microscopiques des épaisseurs et des vitesses de détérioration, d'altération et d'attaque des mortiers ON4y et CN4y après 4 cycles de biodétérioration par <i>H. neapolitanus</i> -----	223
Tableau 48 : Indices d'attaque de l'essai de biodétérioration des mortiers OPC et CAC -----	225
Tableau 49 : Quantités de composés soufrés produites, accumulées et quantités d'ions hydronium neutralisées par le mortier OPC au cours des cycles de biodétérioration par la succession <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	230
Tableau 50 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration -----	231
Tableau 51 : Mesures des diamètres, des épaisseurs perdues et des vitesses de détérioration des mortiers OPC après les cycles de biodétérioration par une succession de <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	238
Tableau 52 : Indice d'attaque de l'essai de biodétérioration des mortiers OPC -----	250
Tableau 53 : Analyses DRX/RIETVELD des précipités obtenus dans les milieux réactionnels au cours des cycles de biodétérioration avec la succession bactérienne. Quantités de taranakite et soufre accumulées dans les milieux -----	253
Tableau 54 : Quantités de composés soufrés produites, accumulées et des quantités d'ions hydronium neutralisées par le milieu et le mortier OPC au cours des cycles de biodétérioration par la succession bactérienne -----	255
Tableau 55 : Quantité d'ions phosphate initiale, présente en solution et précipitée dans le mortier au cours de l'essai de biodétérioration -----	257
Tableau 56 : Mesures des diamètres, des épaisseurs perdues et des vitesses de détérioration des mortiers CAC après les cycles de biodétérioration par une succession de <i>H. neapolitanus</i> puis <i>A. thiooxidans</i> -----	263
Tableau 57 : Indice d'attaque de l'essai de biodétérioration des mortiers CAC -----	274
Tableau 58 : Evaluations macroscopiques et microscopiques des épaisseurs et des vitesses de détérioration, d'altération et d'attaque des mortiers ON2A2y et CN2A2y après la succession bactérienne -----	276

ANNEXES

Annexe 1 : Les techniques utilisées pour évaluer la biodétérioration

Les différentes études de laboratoire réalisées sur la biodétérioration montrent que l'évaluation de la biodétérioration des matériaux cimentaires nécessite une approche pluridisciplinaire. Les techniques d'analyse couramment utilisées pour l'étude de la biodétérioration sont empruntées à la microbiologie pour l'analyse de la communauté microbienne (méthodes classiques de microbiologie, méthodes moléculaires, ...), et au domaine des matériaux pour la caractérisation de la matrice (MEB, DRX, ATD-TG, porosimétrie ...). Les techniques d'analyses utilisées dans cette étude sont décrites ci-après.

1. Techniques microbiologiques d'évaluation de la population bactérienne

La détermination du nombre de bactéries au cours des essais de biodétérioration va entre autres servir à corrélérer le nombre de bactéries se trouvant dans le milieu réactionnel ou sur les échantillons à la vitesse de détérioration du matériau. Les techniques microbiologiques nécessitent de travailler en environnement stérile.

1.1. Techniques de dénombrement par culture cellulaire

La technique de dénombrement des bactéries par culture cellulaire la plus souvent utilisée dans les essais de biodétérioration est le nombre le plus probable (NPP) [Gutiérrez-Padilla *et al.*, 2010 ; Roberts *et al.*, 2002 ; Sand, 1987]. Cette technique fait appel à une méthode de culture en tubes multiples, au cours de laquelle une série de dilutions décimales du milieu réactionnel estensemencée dans des éprouvettes de milieu de culture spécifique avant d'être incubée à la température optimale, pendant une période donnée. Les éprouvettes sont analysées et la corrélation entre le degré de dilution et la présence ou l'absence de croissance permet d'estimer le nombre le plus probable de micro-organismes présents à l'aide d'un tableau statistique standard. Dans certaines études, des indicateurs de pH ont été ajoutés aux milieux de culture pour dénombrer des bactéries sulfoxydantes neutrophiles (Bromocresol Green) ou des bactéries sulfoxydantes acidophiles (Thymol Blue) [Roberts *et al.*, 2002].

1.2. Techniques de dénombrement par microscopie à épifluorescence

La microscopie à épifluorescence consiste à rendre les cellules bactériennes visibles au microscope par l'utilisation de différents types de coloration. Certains colorants sont fluorescents à une longueur d'onde donnée et permettent, sous microscope à épifluorescence, de compter les cellules ainsi que de distinguer leur forme sans les enlever du substrat, tel est le cas du DAPI (4',6 diamino-2-phenyllindole). D'autres colorants en plus d'être fluorescents permettent de différencier les cellules vivantes ou actives des cellules mortes ou non actives, tel est le cas de l'acridine orange, pour lequel sous microscope à épifluorescence, à une longueur de 490 nm, les cellules vivantes fluorescent en orange tandis que les cellules mortes fluorescent en vert.

L'acridine orange est un fluochrome utilisé en microbiologie de routine pour différencier, sous lumière UV à une longueur de 490 nm, les bactéries inactives des bactéries actives au cours de croissances de cultures pures [Hondjuila Miokono *et al.*, 2011 ; Pettipher *et al.* 1980; Zimmermann *et al.* 1978; Hobbie *et al.* 1977]. Les bactéries, quelque soit leur état de croissance contiennent de l'ADN, mais seules les bactéries vivantes, actives, renferment de l'ARN. Cette différence de composition rend possible leur distinction, car lorsque l'acridine orange se lie à l'acide désoxyribonucléique (ADN), il forme un complexe qui fluoresce en vert sous rayonnement UV, tandis que le complexe formé avec l'acide ribonucléique (ARN) fluoresce en rouge (Figure 1).

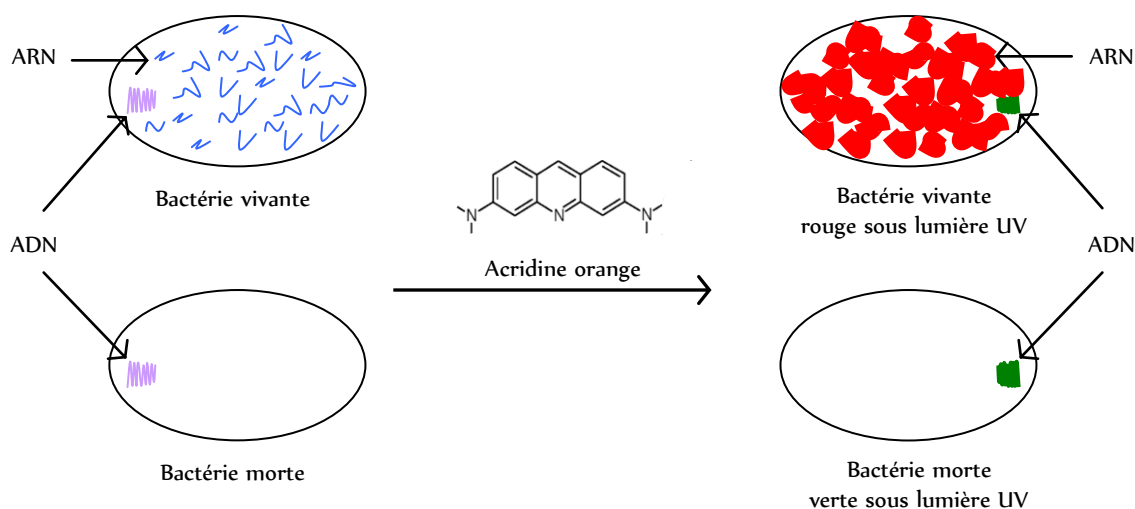


Figure 1 : Schéma du principe de la coloration des bactéries à l'acridine orange

2. Techniques chimiques d'évaluation de l'évolution du milieu agressif

Un matériau cimentaire soumis à la biodétérioration relargue principalement dans le milieu réactionnel du calcium, du silicium, de l'aluminium et du fer issu de la dissolution des phases composant sa pâte cimentaire. La concentration de chacun de ces éléments peut être mesurée par spectrométrie d'émission atomique à source plasma (ICP-AES) [Hajj Chehade, 2010 ; Gutiérrez-Padilla *et al.*, 2010]. La dissolution des phases cimentaires s'accompagne d'une diffusion de composés alcalins (Na^+ , K^+), d'ions hydroxydes (OH^-) et des éléments chimiques (essentiellement Ca, Si, Al et Fe) du matériau vers le milieu. La diffusion des composés alcalins (Na^+ , K^+) et des ions hydroxydes (OH^-) entraîne une alcalinisation du milieu réactionnel [Adenot, 1992], ainsi l'évaluation du pH du milieu au cours de l'essai de biodétérioration permet de suivre l'évolution de la biodétérioration.

Par ailleurs, au cours des essais de biodétérioration en laboratoire, les BSO se développent en métabolisant les composés soufrés, en l'occurrence $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ et $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$ dans cette étude, en ions hydronium (H^+) et en ions sulfate (SO_4^{2-}). Dans un essai de biodétérioration, la quantité de sulfates libre, c'est-à-dire celle n'ayant pas réagi avec le mortier, peut être évaluée par chromatographie

ionique [Harbulakova *et al.*, 2009]. Les BSO utilisent également les ions phosphates au cours de leur croissance dans les composés soufrés pour fixer le CO₂, ainsi le phosphate est également ajouté dans le milieu de culture [Lee *et al.*, 2000, Parker and Prisk, 1953]. Cependant, ce dernier peut également réagir avec certains éléments relargués en solution par le mortier, tels que l'aluminium ainsi que le calcium, et former de la taranakite, de la variscite et/ou des hydroxyapatites [Hajj Chehade, 2010]. D'où l'importance de mesurer l'évolution des ions phosphate au cours de l'essai de biodétérioration par chromatographie ionique.

2.1. La chromatographie ionique

La chromatographie ionique ou chromatographie à échange d'ions est un type de chromatographie en phase liquide permettant d'isoler un composé ioniquement chargé d'un mélange liquide. Elle a pour principe l'échange d'ions sur une résine chargée positivement (pour séparer les anions) ou négativement (pour séparer les cations). Dans l'évaluation de la biodétérioration, la chromatographie permet de suivre l'activité des BSO en dosant la quantité de sulfates produite (donc la quantité d'ions hydronium) mais également la quantité de thiosulfate résiduelle quand ce dernier est utilisé comme source de soufre. La mesure de ces deux éléments permet de réaliser un bilan de matière et de déterminer une éventuelle formation d'intermédiaires soufrés, tels que le soufre élémentaire ou le tétrathionate [Parker and Prisk, 1953]. La chromatographie ionique permet également de suivre l'évolution des ions phosphate au cours du temps, donc d'évaluer par déduction les quantités d'éléments du mortier ayant précipitées (sous forme de taranakite, de variscite et/ou d'hydroxyapatites).

2.1. La spectrométrie d'émission atomique à source plasma (ICP-AES)

L'ICP-AES est une technique d'analyse des éléments chimiques après acidification préalable à l'acide. Les échantillons sont injectés dans un plasma d'argon. L'ensemble des atomes est alors excité et leur retour à l'état fondamental entraîne une émission de lumière dont les pics d'intensité sont mesurés aux longueurs d'onde des éléments dosés grâce à un détecteur. Les aires de ces pics sont proportionnelles aux concentrations des éléments et chaque élément émet sur une longueur d'onde qui lui est propre.

L'ICP-AES est une méthode d'analyse très puissante, car il peut analyser simultanément jusqu'à 40 éléments différents par échantillon. Elle est couramment utilisée dans l'évaluation de la biodétérioration en suivant les fractions cumulées lixiviées en solution. Vincke *et al.*, (2002 ; 1999) par exemple démontrent qu'au cours d'un essai de biodétérioration de mortier, la présence du Ca dans le milieu réactionnel constitue la « preuve » qu'une biodétérioration se produit. La quantité de ce dernier permet, quant à elle, d'évaluer l'intensité de la biodétérioration [Aviam, *et al.*, 2004].

Ainsi, l'ICP-AES offre la possibilité de quantifier la totalité d'éléments relargués en solution par le matériau cimentaire au cours de l'essai de biodétérioration. Il permet par conséquent de réaliser un bilan de matière entre la composition chimique initiale du matériau et les quantités des éléments relargués dans le milieu réactionnel pendant l'essai de biodétérioration ou de lixiviation. Ce bilan de matière permet par la suite de définir les mécanismes de relargage (diffusion pure et/ou dissolution) de chacun des éléments en se basant par exemple sur le modèle cinétique des relargages de Cote et Constable (1987) [Herisson, 2012 ; Hajj Chehade, 2010 ; Nguyen, 2005 ; Bernard, 2003 ; Moudilou, 2000 ; Adenot, 1992].

En effet, ce modèle semi-empirique prend en compte les interactions entre les milieux réactionnels et les matériaux cimentaires subissant l'attaque acide. Ces interactions sont : les phénomènes de relargage de surface (qui sont en général très important en début d'essai), le transport diffusionnel pur des espèces de la matrice cimentaire au milieu réactionnel et les réactions chimiques de dissolution des phases cimentaires (qui contrôle le relargage des espèces en solution). Ainsi, en se basant sur ce modèle, il est possible de définir dans le temps la cinétique de relargage des espèces chimiques composant les matrices cimentaires selon la relation :

$$F.C.L. (t) = \frac{M_i (t)}{M_o} = k_1 \cdot (1 - e^{-k_2 \cdot t}) + k_3 \cdot \sqrt{t} + k_4 \cdot t$$

k_1 et k_2 : composante du relargage de surface ; k_3 : composante diffusionnelle
 k_4 : composante réactionnelle $F.C.L. (t)$: fraction cumulée lixiviée

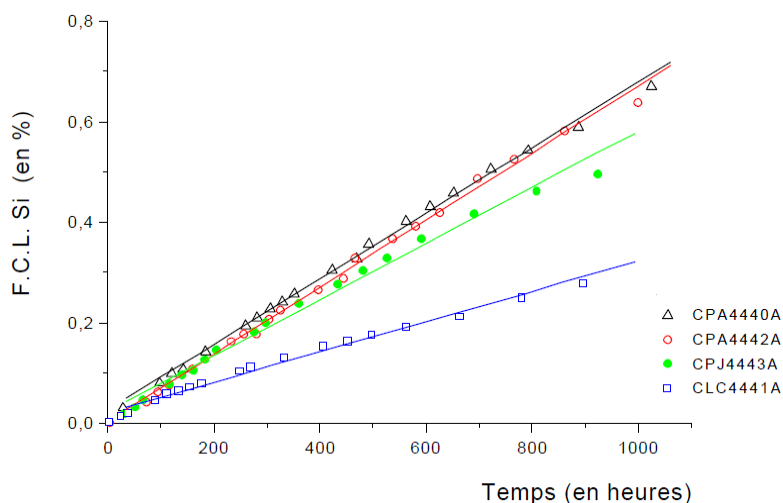


Figure 2 : Cinétique de relargage du silicium lors de la lixiviation des quatre pâtes de ciment (E/C=0,5) à 20°C et pH=5 [Moudilou, 2000].

Ce modèle a été utilisé par plusieurs auteurs pour l'exploitation des résultats de leurs essais de lixiviation de matériaux cimentaires contenant des métaux lourds [Bernard, 2003 ; Moudilou, 2000 ; Cote et Constable, 1987].

Moudilou (2000) en se basant sur le modèle de Cote et Constable (1987) a pu déterminer que le relargage du silicium lors de la lixiviation de pâtes de ciment par une solution d'acide nitrique à pH = 5 se fait selon un mécanisme de dissolution (Figure 2). En effet, les cinétiques de relargage du silicium représentées en fonction du temps sont linéaires, preuve de l'existence d'une réaction chimique de premier ordre : $F.C.L(t) = k \cdot t$.

Par ailleurs, Benard (2003) a montré qu'au cours de la lixiviation de pâtes de ciment par une solution d'acide nitrique à pH = 5, le relargage du calcium se fait selon un mécanisme de diffusion pure (Figure 3). En effet, les courbes obtenues sont compatibles avec une loi d'évolution linéaire des fractions relarguées cumulées en fonction de la racine carrée du temps : $e_p(t) = k\sqrt{t}$.

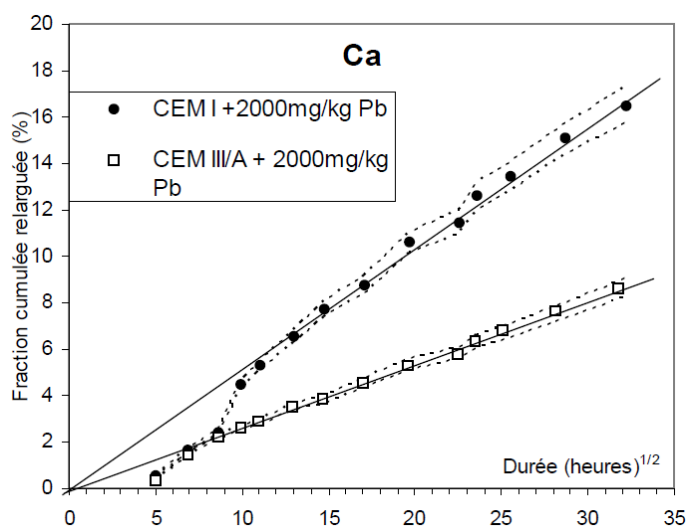


Figure 3 : Cinétique de relargage du calcium lors de la lixiviation des deux pâtes de ciment (E/C=0,5) à 40°C et pH=5 [Benard, 2003].

En outre, la combinaison entre le bilan de matière réalisé par ICP-AES et la quantité d'ions hydrogène (correspondant à la quantité d'ions sulfate) mesurée par chromatographie permet de déterminer un Indice d'attaque (IA). Ce dernier permet de comparer la résistance de plusieurs types de matrices cimentaires entre elles [Hajj Chehade, 2010] ainsi que les intensités d'attaque de différents types de BSO. Cet indice représente le total de tous les ratios entre la quantité cumulée de chaque élément (calcium, aluminium, fer et silicium) relargué en solution par le mortier et la quantité totale d'acide sulfurique apportée ou produite par les bactéries au contact du mortier. La quantité cumulée de chaque élément relargué dans le milieu réactionnel est normalisée à sa valeur initiale dans le ciment correspondant et normalisée à 100 selon la formule :

$$IA = \sum_{(Ca + Al + Si + Fe)} \frac{\frac{\text{Elément relargué en solution}}{\text{Quantité initiale dans le mortier}} \times \frac{\text{Elément relargué en solution}}{\sum \text{Eléments relargués en solution}} \times 100}{\sum H^+ \text{ produit au contact du mortier}}$$

En se basant sur cet indice d'attaque, Hajj Chehade (2010) a montré qu'au cours d'un essai de biodétérioration par des bactéries sulfo-oxydantes acidophiles, *A. thiooxidans*, la résistance des mortiers Portland (OPC) était 18 à 78 % inférieure à celle des mortiers d'aluminates de calcium (CAC).

3. Techniques physico-chimiques d'évaluation de matériaux biodétériorés

Au cours de la biodétérioration, les phases cristallines du matériau cimentaire sont dissoutes induisant une modification de ses propriétés chimiques, physiques et structurelles. L'évolution de ces propriétés peut être évaluée par différentes techniques.

3.1. Techniques physiques : échelle macroscopique

Les paramètres physiques les plus évalués dans les études de biodétérioration sont les évolutions de l'aspect des échantillons, de la masse, de l'épaisseur (diamètre ou section), du pH de surface et de la porosité totale ou de la distribution poreuse.

3.1.1 L'observation visuelle

L'observation visuelle consiste à évaluer l'apparence et l'intégrité macroscopique de l'échantillon. L'accent est mis sur la modification de la morphologie de l'échantillon (angles, arrêtes), sur la perte de cohérence et d'intégrité [Wiktor, 2008].

3.1.2 L'évolution de la masse

La perte de masse de l'échantillon est liée au relargage des produits issus de la dissolution de la matrice cimentaire au cours de l'attaque acide [Gutiérrez-Padilla *et al.*, 2010 ; Ehrich *et al.*, 1999 ; Sand, 1987 ; Gu *et al.*, 1998 ; Hormann *et al.*, 1997]. Il est préférable de l'utiliser en fin d'expérimentation. Les échantillons subissent en général plusieurs cycles de séchage/pesée afin de stabiliser la masse. Le séchage est réalisé dans une étuve ou à l'air libre.

3.1.3 L'évolution de l'épaisseur dégradée

La diminution de l'épaisseur de l'échantillon est liée à l'avancement du front de dégradation [Adenot, 1992]. Au cours de l'attaque acide biogénique, la pâte de ciment qui assure la cohésion des agrégats va se dissoudre, entraînant le détachement de ces derniers, d'où la diminution de l'épaisseur observée [Hajj Chehade, 2010 ; Gutiérrez-Padilla *et al.*, 2010 ; Mori *et al.*, 1992]. A la fin de l'essai, l'échantillon est séché et ses dimensions sont mesurées par le biais d'un double décimètre à l'œil ou à la loupe. Ces derniers peuvent également être scannés et analysés sous un logiciel, par exemple Image J.

3.1.4 L'évolution du pH de surface

Au cours de la biodétérioration, les BSO produisent de l'acide sulfurique à la surface de l'échantillon qui attaque et dissout les phases de ce dernier provoquant une diminution du pH de surface. Les BSO neutrophiles diminuent le pH de 9 à 5 tandis que les BSO acidophiles le diminuent de 5 à 1. Ainsi, le pH de surface des échantillons peut également servir d'indicateur dans l'évolution de la biodétérioration [Herisson, 2012 ; Satoh *et al.*, 2009 ; Islander *et al.*, 1991 ; Sand, 1987]. Ce dernier est mesuré grâce à une électrode pH de surface ou du papier pH.

3.1.5 L'évolution de la porosité totale

L'attaque à l'acide sulfurique induit une augmentation de la porosité des matériaux cimentaires [Nguyen, 2005 ; De Belie *et al.*, 2004 ; Davis *et al.*, 1998]. Ainsi, la mesure de porosité peut servir à discriminer différentes formulations de mortier. A la fin de l'essai de biodétérioration, l'échantillon est séché plusieurs jours à 60 °C. La porosité est mesurée par intrusion de mercure, dont le principe consiste à injecter sous pression un liquide non mouillant, le mercure, dans le réseau poreux de l'échantillon sous vide. Le mercure pénètre dans des pores de diamètre d'entrée d'autant plus petits que la pression exercée est élevée, selon la loi de Laplace.

P_1 et P_2 : pressions dans les milieux a et b au niveau de l'interface

$$P_2 - P_1 = \gamma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right)$$

γ : coefficient de tension superficielle

R_1 et R_2 : rayons de courbure principaux de la surface au point considéré

La mesure consiste à relier le volume de mercure, qui pénètre dans l'échantillon à chaque palier de pression. L'interprétation de cette mesure permet de donner la fonction de distribution des tailles de pores et la porosité totale du milieu.

3.2 Techniques chimiques et minéralogiques : échelle microscopique

Les techniques chimiques les plus courantes sont la spectroscopie de Fluorescence X, la Diffraction aux Rayons X et la Microscopie Électronique à Balayage. En effet, la minéralogie de la pâte de ciment influe fortement sur la résistance à la biodétérioration [Giraldi *et al.*, 2010 ; Hajj Chade, 2010 ; Bassuoni *et al.*, 2007 ; Ehrich *et al.*, 1999]. Ainsi, la connaissance de la minéralogie initiale du ciment permet de prévoir le comportement des matériaux cimentaires au cours de la biodétérioration, tandis que celle à la fin de biodétérioration permet de connaître les phases les plus touchées par l'attaque.

3.2.1 La Spectroscopie de Fluorescence X

La Spectroscopie de Fluorescence X (FRX) consiste à soumettre un échantillon à un rayonnement X. De ce fait, chaque élément chimique présent dans l'échantillon émet un rayonnement électromagnétique secondaire de longueur d'onde spécifique qui est détecté par un système optique

dispersif. Elle est utilisée pour la caractérisation de la composition chimique des matériaux cimentaires par la quantification des teneurs en éléments chimiques. C'est une technique très répandue dans l'étude de la biodétérioration, car la composition chimique élémentaire permet par exemple de globalement situer : la résistance d'un échantillon ou l'intensité de l'activité bactérienne à sa surface par rapport à un autre, cas des mortiers/bétons CAC et OPC [De Belie *et al.*, 2004 ; Ehrich *et al.*, 1999].

Par ailleurs, la connaissance de la composition chimique élémentaire d'un échantillon permet également de réaliser un bilan de matière au cours de l'essai de biodétérioration [Hajj Chehade, 2010 ; Bernard, 2003 ; Moudilou, 2000]. Cependant, la technique de FRX ne prend pas en compte l'élément carbone. Ainsi, il est recommandé de préalablement déterminer la teneur en carbone de l'échantillon par analyse thermogravimétrique, afin de corriger les résultats de FRX.

L'analyse thermogravimétrique (ATG) consiste à mesurer la variation de masse d'un échantillon en fonction de la température. Les courbes obtenues mettent en évidence les pertes d'eau, les recristallisations, les recombinaisons et les phénomènes d'oxydation de matière organique. La teneur en carbone est indirectement mesurée par évaluation de la perte de masse liée à la décarbonatation de la calcite entre 500 et 900 °C (Équation 1) [Alarcon-Ruiz *et al.*, 2005] :



3.2.2 La diffraction des rayons X

La diffraction aux rayons X (DRX) est une technique d'analyse fondée sur la diffraction des rayons X réalisée sur la matière cristallisée. Elle permet d'identifier, par comparaison avec des spectres de références, les phases cristallines d'une poudre ou d'un solide. Dans l'étude de la biodétérioration, elle est le plus souvent utilisée pour la caractérisation des matériaux cimentaires avant et après l'essai de biodétérioration. En effet, la connaissance des phases présentes dans l'échantillon avant l'essai de biodétérioration permet d'estimer la résistance de ce dernier à la biodétérioration [Scrivener *et al.*, 1999].

De même, il est possible à la fin de la biodétérioration de rechercher les produits de détérioration formés dans les couches superficielles d'un matériau ayant subi une biodétérioration [Gutiérrez-Padilla *et al.*, 2010 ; Bertron *et al.*, 2005 ; Tulliani *et al.*, 2002 ; Davis *et al.*, 1998]. La couche superficielle est grattée, moulue et analysée (Figure 4) [Davis *et al.*, 1998].

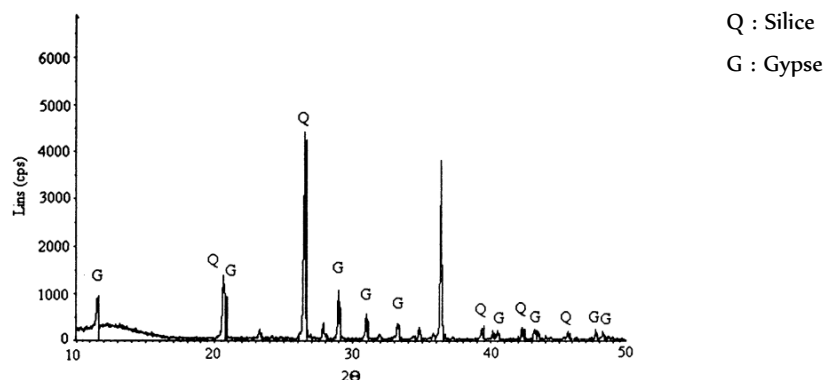


Figure 4 : Analyse DRX des produits de détérioration contenue dans les couches supérieures d'un tuyau en béton dans les égouts de Houston [Davis *et al.*, 1998].

3.2.3 La microscopie électronique à balayage

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique dont le principe consiste en un faisceau d'électrons balayant la surface de l'échantillon à analyser qui en réponse réémet certaines particules. Les échantillons sont préparés sous forme de sections polies, ce qui permet de mettre en évidence les différentes zones constituant l'échantillon de la surface au cœur tout en délimitant les zones dégradées de la zone saine (Figure 5) [Hajj Chehade, 2010]. Couplée à une analyse EDS, elle permet de déterminer la composition chimique des phases cimentaires, donc la minéralogie de chaque zone ainsi que d'obtenir le profil de concentration en élément. Ainsi, elle permet une analyse macroscopique et locale des différentes zones composant la matrice cimentaire [Leemann *et al.*, 2010 ; Rogers *et al.*, 2003 ; Knight *et al.*, 2002 ; Tulliani *et al.*, 2002 ; Mori *et al.*, 1992]. Lorsqu'elle fonctionne sous pression partielle de vapeur d'eau (microscope électronique environnemental), elle permet d'évaluer l'importance de la colonisation de l'échantillon par les microorganismes ainsi que la structure du biofilm recouvrant l'échantillon [Roux *et al.*, 2006 ; Gu *et al.*, 1998].

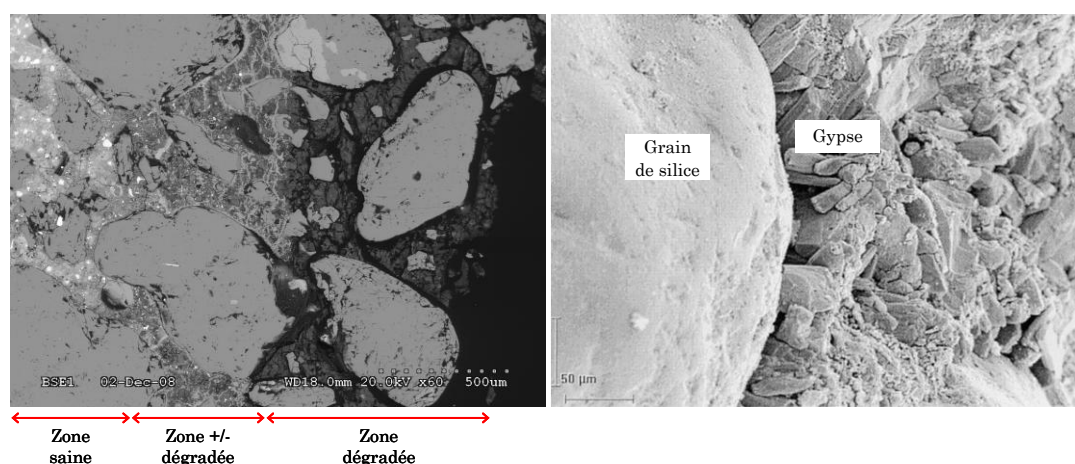


Figure 5 : Observation MEB de mortier OPC biodétérioré par *A. thiooxidans* (gauche) [Hajj Chehade, 2010], illustration de la formation de gypse dans une pate de ciment OPC attaqué par l'acide sulfurique (droite) [Monteny *et al.*, 2000].

Annexe 2 : Solubilité de la taranakite de potassium

La solubilité de la taranakite est très faible pour un pH du milieu supérieur à 3 néanmoins cette dernière augmente rapidement pour des valeurs du pH inférieures à 2,5 [Taylor and Gurney, 1961]. Dans nos expériences la concentration en ions aluminate du milieu est contrôlée par solubilité de la taranakite. La figure 6 présente le calcul de la concentration en ions aluminate pour la taranakite en équilibre avec le milieu III de plus en plus oxydé (pH décroissant) qui représente un milieu simplifié par rapport aux essais puisque l'on ne tient pas compte des éléments relargués en solution notamment du calcium. On constate que pour un pH de 3, la concentration en aluminate en équilibre est très faible, environ 0,01 mmol/l, ce qui est compatible avec les concentrations voisines de 0,1 mmol/l observées lors des essais avec les BSON sachant que lors des essais, le milieu doit être légèrement sursaturé vis-à-vis de la taranakite. La concentration en aluminate en équilibre pour un pH de 2 est de 0,8 mmol/l : cette dernière est également comparable à 1 mmol/l trouvée à la fin des essais avec les BSOA.

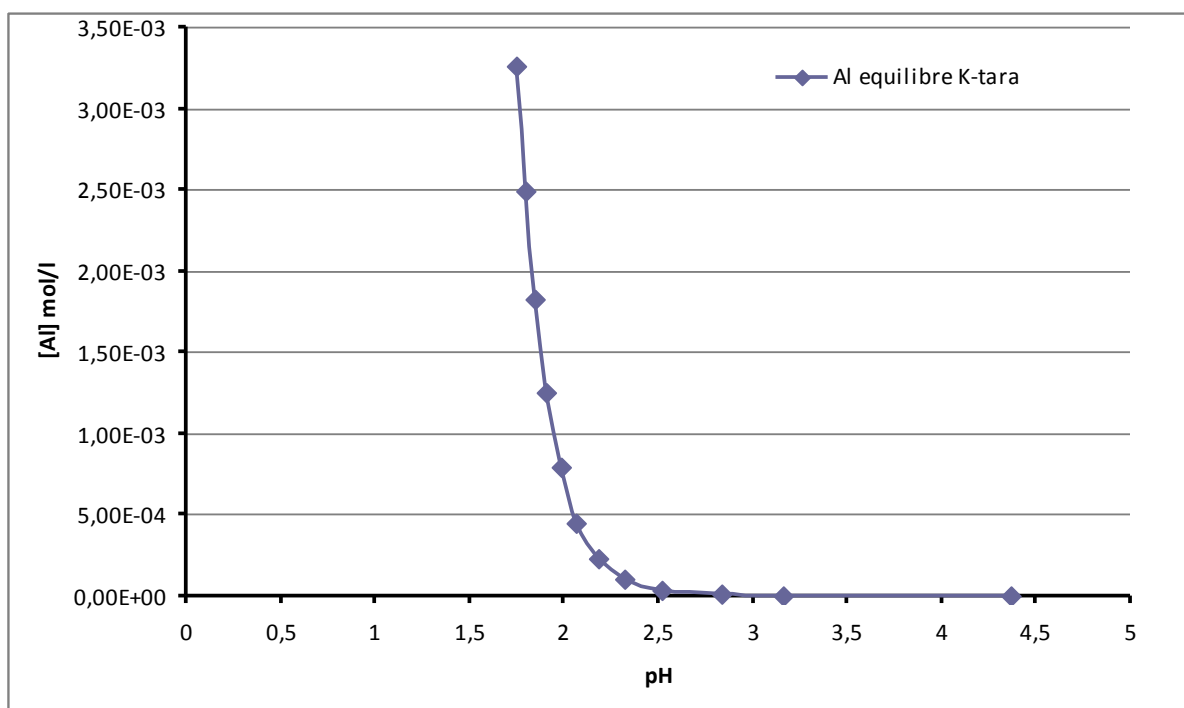
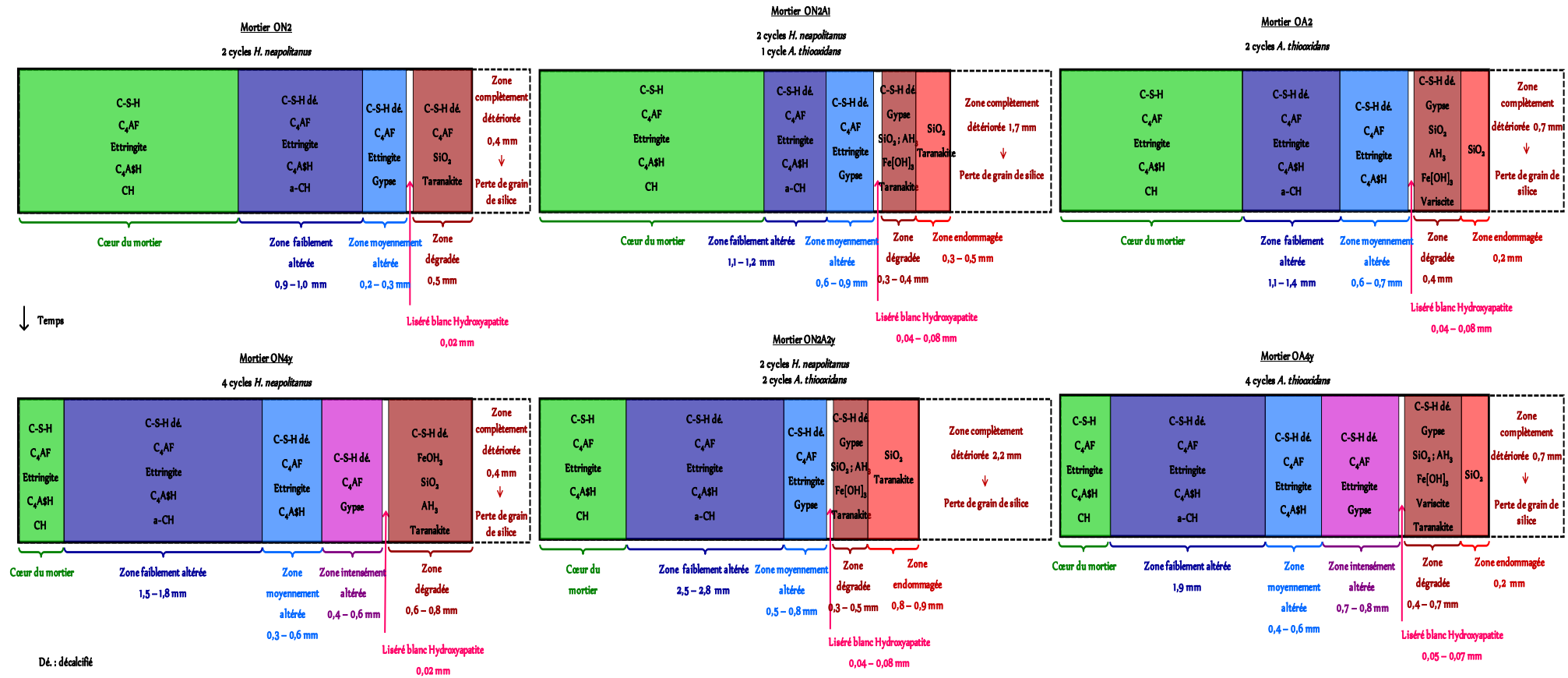


Figure 6 : calcul de la concentration en ions aluminate pour la taranakite de K en équilibre avec le milieu III de plus en plus oxydé (pH décroissant)

Annexe 3 : Schématisation de l'évolution de l'attaque des mortiers OPC. Paramètres de biodétérioration des mortiers OPC au cours des essais

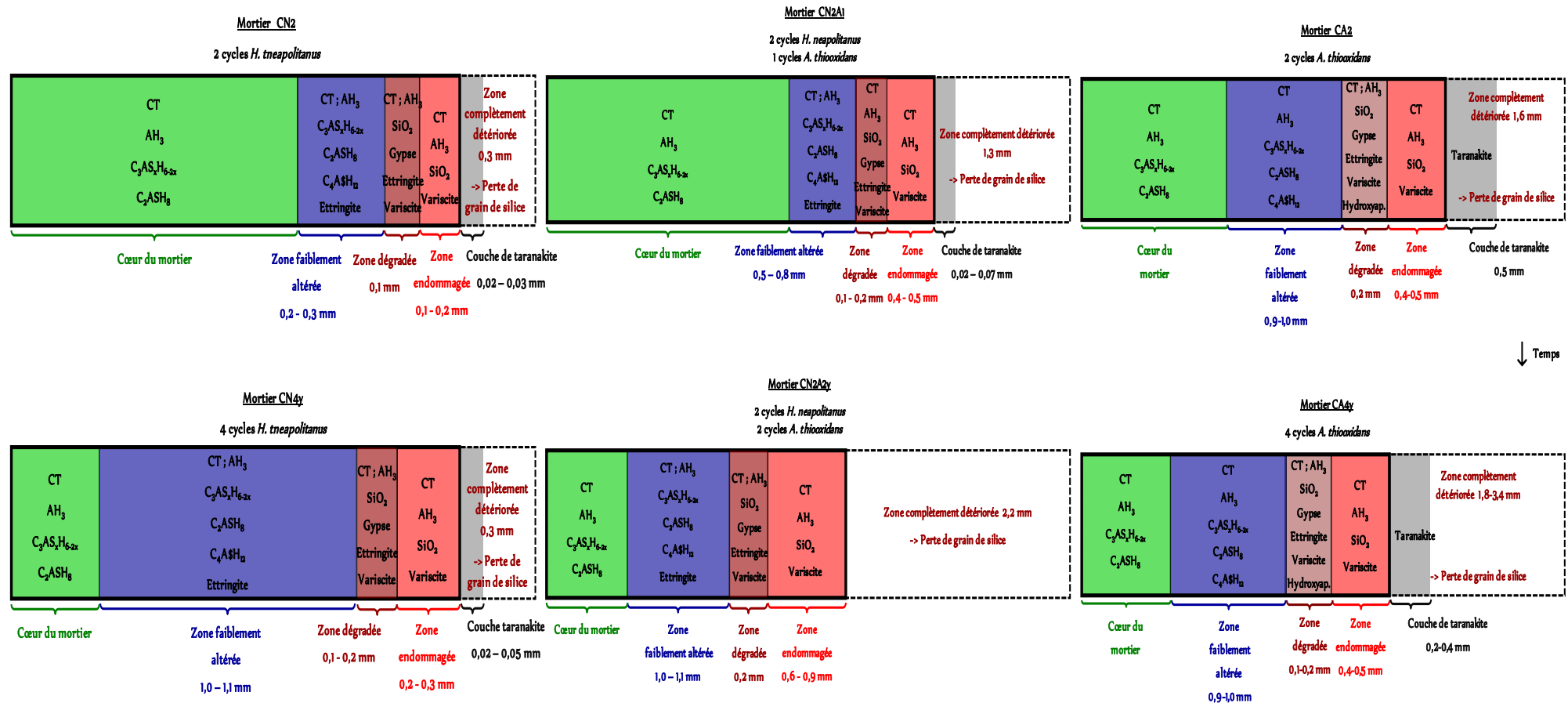


Annexe 3-a : Schématisation de l'évolution de l'attaque des mortiers OPC au cours des essais de biodétérioration

		<i>H. neapolitanus</i>		<i>H. neapolitanus</i> / <i>A. thiooxidans</i>				<i>A. thiooxidans</i>	
		F.C.L[t]=k.t mole/m ²	F.C.L[t]=k√t mole/m ²	F.C.L[t]=k.t mole/m ²	F.C.L[t]=k√t mole/m ²	F.C.L[t]=k.t mole/m ²	F.C.L[t]=k√t mole/m ²	F.C.L[t]=k.t mole/m ²	F.C.L[t]=k√t mole/m ²
Vitesse de relargage en fonction du temps ou √temps Mécanisme de relargage	Ca	k = 0,094 R = 0,991	k = 1,306 R = 1	k = 0,114	k = 1,264	k = 0,104	k = 1,794	k = 0,087 R = 1	k = 1,235 R = 0,990
	Si	k = 0,011 R = 0,998	k = 0,157 R = 0,996	k = 0,010	k = 0,115	k = 0,001	k = 0,017	k = 0,007 R = 0,992	k = 0,091 R = 0,999
	Al	k = 0,001 R = 0,983	k = 0,173 R = 0,999	k = 0,001	k = 0,014	k = 0,016	k = 0,270	k = 0,004 R = 0,893	k = 0,056 R = 0,829
	Fe	nd	nd	nd	nd	k = 0,007	k = 0,122	k = 0,002 R = 0,910	k = 0,021 R = 0,852
Vitesses de relargage en fonction de H ⁺ produit ou neutralisé par les mortiers		F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ total mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ neutralisé mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ total mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ neutralisé mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ total mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ neutralisé mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ total mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ neutralisé mole/m ²
	Ca	k = 30,759 R = 0,998	k = 31,365 R = 0,998	k = 33,751	k = 33,949	k = 27,553	k = 31,332	k = 21,902 R = 1	k = 43,967 R = 0,998
	Si	k = 3,698 R = 1	k = 3,771 R = 1	k = 3,070	k = 3,087	k = 0,257	k = 0,292	k = 1,630 R = 0,993	k = 3,282 R = 0,997
	Al	k = 0,407 R = 0,993	k = 0,413 R = 0,993	k = 0,37	k = 0,372	k = 4,145	k = 4,713	k = 1,020 R = 0,890	k = 2,021 R = 0,866
	Fe	k = 0,023	k = 0,023	k = 0,247	k = 0,248	k = 1,869	k = 2,125	k = 0,376 R = 0,908	k = 0,745 R = 0,886
Analyse Macroscopique	Epaisseur totale détériorée (mm)	0,4 ± 0,1		2,2 ± 0,1				0,7	
	Vitesse de détérioration (mm.an ⁻¹)	1,6 ± 0,5		9,7 ± 0,7				2,9	
Analyse Microscopique	Epaisseur attaquée (mm)	3,1 ± 0,2		4,2 ± 0,3				4,0 ± 0,2	
	Vitesse d'attaque (mm.an ⁻¹)	13,5 ± 0,8		18,4 ± 1,1				17,4 ± 0,8	
Analyse Microscopique	Epaisseur totale attaquée (mm)	3,5 ± 0,2		6,5 ± 0,3				4,7 ± 0,3	
	Vitesse totale d'attaque (mm.an ⁻¹)	15,2 ± 1,1		28,0 ± 2,1				19,7 ± 1,9	
	Vitesse volumique d'attaque (mm.an ⁻¹ .cm ⁻³)	0,8 ± 0,1		0,9 ± 0,1				0,8 ± 0,1	
Production totale d'acide sulfurique (mole)		0,29		0					

Annexe 3-b : Paramètres de biodétérioration des mortiers OPC

Annexe 4 : Schématisation de l'évolution de l'attaque des mortiers CAC. Paramètres de biodétérioration des mortiers CAC au cours des essais



Annexe 4-a : Schématisation de l'évolution de l'attaque des mortiers CAC au cours des essais de biodétérioration

		<i>H. neapolitanus</i>		<i>H. neapolitanus</i> / <i>A. thiooxidans</i>				<i>A. thiooxidans</i>	
		F.C.L[t]=k.t mole/m ²	F.C.L[t]=k√t mole/m ²	F.C.L[t]=k.t mole/m ²	F.C.L[t]=k√t mole/m ²	F.C.L[t]=k.t mole/m ²	F.C.L[t]=k√t mole/m ²	F.C.L[t]=k.t mole/m ²	F.C.L[t]=k√t mole/m ²
Vitesse de relargage en fonction du temps ou √temps Mécanisme de relargage	Ca	k = 0,016 R = 0,994	k = 0,226 R = 1	k = 0,022	k = 0,243	k = 0,078	k = 1,342	k = 0,057 R = 0,999	k = 0,780 R = 0,983
	Si	k = 0,002 R = 0,994	k = 0,028 R = 0,998	k = 0,003	k = 0,034	k = 0,004	k = 0,062	k = 0,003 R = 0,998	k = 0,046 R = 0,997
	Al	k = 0,020 R = 0,977	k = 0,274 R = 0,997	k = 0,034	k = 0,370	k = 0,164	k = 2,833	k = 0,069 R = 0,998	k = 0,953 R = 0,979
	Fe	nd	nd	nd	nd	k = 0,002	k = 0,034	k = 0,002 R = 0,990	k = 0,023 R = 0,963
Vitesses de relargage en fonction de H ⁺ produit ou neutralisé par les mortiers		F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ total mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ neutralisé mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ total mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ neutralisé mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ total mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ neutralisé mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ total mole/m ²	F.C.L[H ⁺]=k.H ⁺ neutralisé mole/m ²
	Ca	k = 5,473 R = 0,998	k = 5,728 R = 0,998	k = 6,440	k = 6,518	k = 23,201	k = 25,084	k = 16,726 R = 0,998	k = 27,525 R = 0,997
	Si	k = 0,665 R = 0,997	k = 0,696 R = 0,996	k = 0,906	k = 0,917	k = 1,076	k = 1,163	k = 0,981 R = 0,997	k = 1,617 R = 0,999
	Al	k = 8,510 R = 0,986	k = 8,908 R = 0,986	k = 9,834	k = 9,953	k = 48,986	k = 52,962	k = 20,307 R = 0,998	k = 36,038 R = 0,997
	Fe	k = 0,025 R = 0,969	k = 0,027 R = 0,968	k = 0,021	k = 0,022	k = 0,586	k = 0,634	k = 0,486 R = 0,990	k = 0,798 R = 0,985
Analyse Macroscopique	Epaisseur totale détériorée (mm)	0,3 ± 0,2				2,20		2,6 ± 0,8	
	Vitesse de détérioration (mm.an ⁻¹)	1,3 ± 1,2				9,44		11,2 ± 4,9	
Analyse Microscopique	Epaisseur attaquée (mm)	1,4 ± 0,1				1,6 ± 0,1		1,7 ± 0,1	
	Vitesse d'attaque (mm.an ⁻¹)								

Annexe 4-b : Paramètres de biodétérioration des mortiers CAC

RESUME

La biodétérioration de mortiers a été étudiée au cours d'un essai spécifique mettant en œuvre *Halothiobacillus neapolitanus* comme bactérie sulfo-oxydante (BSO) neutrophile et *Acidithiobacillus thiooxidans* comme BSO acidophile. Cet essai a permis de réaliser en laboratoire une succession bactérienne comme observée in situ dans les tuyaux d'égout. L'originalité de l'essai provient de l'approche pluridisciplinaire considérant l'impact du mortier sur les BSO, l'évolution de la microstructure et de la chimie du mortier. L'intensité de l'attaque a été définie par un indice d'attaque (IA) qui prend en compte la production d'acide sulfurique des BSO, les relargages d'éléments chimiques du mortier et son évolution physique. Quelle que soit la BSO considérée, le mortier à base de ciment d'aluminate de calcium (CAC) présente une meilleure résistance, donc un IA plus faible, que le mortier à base de ciment Portland (OPC). La meilleure performance du mortier CAC, plus prononcée avec *H. neapolitanus*, n'a pu être reliée au relargage plus important de l'aluminium en solution. Par contre, il a été montré qu'en présence du mortier CAC, *H. neapolitanus* diminue plus rapidement le pH du milieu à 3 et accumule du tétrathionate et du soufre en solution. Cette accumulation induit une moindre biogénération d'acide, d'où la moindre attaque du mortier. Ainsi, la performance du mortier CAC est essentiellement due à sa résistance à la biodétérioration pendant la phase neutrophile quand l'attaque est faible. Par conséquent, pour estimer la performance potentielle de formulations de mortier, il semble préférable de faire des essais avec *H. neapolitanus* au lieu de *A. thiooxidans* comme couramment utilisé.

Mots-clés : biodétérioration, mortier, *Halothiobacillus neapolitanus*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, acide sulfurique, ciment Portland, ciment d'aluminate de calcium

ABSTRACT

Biodeterioration of mortars was investigated in a specific test implementing *Halothiobacillus neapolitanus* as neutrophilic sulfur-oxidizing bacteria (SOB) and *Acidithiobacillus thiooxidans* as acidophilic SOB. This test has achieved into laboratory bacterial succession as observed in the sewer pipes. The originality of the test results from the multidisciplinary approach that considers the impact of the mortar on the BSO, the evolution of the microstructure and the mortar chemistry. The intensity of the attack was defined by an attack index (AI) which takes into account the sulfuric acid production of SOB, the releases of the mortar's chemical elements and its physical evolution. Whatever SOB is chosen, the mortar containing Calcium Aluminate Cement (CAC) has a higher resistance, so a lower AI rate than the basic mortar made of Portland cement (OPC). It was not possible to demonstrate that the best performance achieved by CAC mortar, more pronounced with *H. neapolitanus*, was due to the release of more considerable volume of aluminum in the solution. Although, it has been shown that in presence of CAC mortar, *H. neapolitanus* decreases faster the pH of the medium to 3 and accumulates tetrathionate and sulfur in solution. This accumulation induces less acid biogeneration which leads to the mortar to be slightest attack. Thus, the performance of the CAC mortar is mainly due to its resistance to biodeterioration during neutrophilic stage when the attack is weak. To estimate the potential performance of mortar formulations, it seems preferable to experiment with *H. neapolitanus* instead of *A. thiooxidans* as commonly used.

Key words: biodétérioration, mortar, *Halothiobacillus neapolitanus*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, sulfuric acid, Portland cement, calcium aluminate cement