
Matériaux et roches dans leur environnement

Interaction entre les différentes pâtes de ciment et un environnement naturel : action des microorganismes

Sébastien Roux – Françoise Feugeas – Alain Cornet

Laboratoire de GEénie de la COncception
Groupe du Laboratoire d'Ingénierie des Surfaces de Strasbourg
INSA de Strasbourg
24 boulevard de la Victoire
F-67084 Strasbourg cedex
sebastien.roux@insa-strasbourg.fr

RÉSUMÉ. Le vieillissement des matériaux cimentaires est lié aux interactions du matériau avec son environnement contenant des microorganismes. Cet article présente une méthode d'évaluation de l'évolution de la porosité d'échantillons cimentaires liée à la colonisation bactérienne. Des résultats concernant la colonisation par des microorganismes d'échantillons de 3 types de pâtes de ciment immergés un an dans la nappe phréatique Rhénane ont permis d'évaluer leur bioréceptivité. Les résultats montrent que toutes les nuances cimentaires sont colonisées au bout d'un an par des Bactéries Thiosulfato-Réductrices (BTR) et des Bactéries Sulfo-Oxydantes (BSO). Seul le CEM3 présente à sa surface des Bactéries Sulfato-Réductrices (BSR) et des BSO dont l'association peut mener à la métabolisation d'acide sulfurique, particulièrement dommageable pour les ciments.

ABSTRACT. The weathering of cementitious materials is linked to the material-environment interactions. Among the weathering factors, microorganisms are often neglected. The aim of this article is to present a method developed to evaluate the evolution of the porous network of cementitious samples due to bacterial colonisation. The bioreceptivity of 3 cement pastes immersed one year in the Rhenish ground water table have been evaluated by bacteriological colonisation tests. These results show that all the cement based are colonised after one year immersion by Thiosulphate-Reducing Bacteria and Sulpho-Oxidising Bacteria. However, only the CEM3 sample is colonised by SOB and Sulpho-Reducing Bacteria which association can lead the formation of sulphuric acid that is very damageable for the concretes.

MOTS-CLÉS : Pâte de ciment, colonisation bactérienne, ultramicrotome, STEM, BTR, BSR, BSO

KEYWORDS: Cement paste, bacterial colonisation, ultramicrotome, STEM, TRB, SRB, SOB

1. Introduction

Comme tous les matériaux, les bétons souffrent de vieillissement. Les facteurs de vieillissement des bétons sont d'origine physique, chimique ou biologique et sont généralement combinés. Le facteur biologique, trop souvent négligé, peut induire des modifications d'état du matériau allant de l'apparition de tâches et de salissures sur les façades ou parements en béton (Gaylarde 2005) à la ruine de l'ouvrage (Vincke 2001; Tulliani 2002). C'est en 1945 que Parker (Parker 1945) a isolé pour la première fois une espèce microbienne dégradant le béton : les *Thiobacilli Concretivorus* aujourd'hui appelées *Thiobacilli Thiooxidans*.

La colonisation de la surface du matériau par les éléments biologiques est le préambule indispensable à toute bioaltération et toute biodégradation. Les altérations n'entraînent pas de remise en cause de la structure de l'ouvrage alors que les dégradations atteignent la structure de l'ouvrage. Elles sont toutes deux d'origine biologique, liées à l'action des microorganismes. Ces éléments biologiques sont regroupés sous forme d'un tissu vivant recouvrant tout ou partie de la surface du matériau appelé biofilm. Il faut noter que la présence d'un biofilm à la surface d'un matériau n'entraîne pas systématiquement de dégradation de l'état du matériau, mais tout matériau en contact avec un environnement naturel se recouvre d'un biofilm dont l'évolution et la capacité à agir en synergie avec des paramètres physiques et/ou chimiques peut devenir néfaste à la durabilité de l'ouvrage. « La capacité d'un matériau à être colonisé par un ou plusieurs groupes d'éléments biologiques sans nécessairement entraîner de biodégradation » a été définie par Guillitte comme étant la bioréceptivité de ce matériau (Guillitte 1995). La bioréceptivité d'un matériau est influencée par de nombreux facteurs propres au matériau tels que son état de surface, sa porosité, sa composition chimique mais également par des facteurs liés à l'environnement auquel il est soumis tels que la physico-chimie du milieu et les microorganismes qui y sont présents.

La nappe phréatique Rhénane est un immense réservoir naturel d'eau douce d'environ 35 milliards de m³ qui s'étend sur environ 2800 km². La profondeur du toit de cette nappe phréatique étant faible, généralement limitée à quelques mètres, de nombreux bâtiments construits en Alsace reposent sur des fondations en contact avec cette eau. Le but de l'étude dans laquelle le travail présenté ici s'inscrit est de déterminer l'importance du facteur biologique dans l'évolution des matériaux cimentaires en contact avec les eaux douces naturelles telles que la nappe phréatique rhénane.

Les méthodes d'évaluation de la bioréceptivité de mortiers plongés dans en eau douce naturelle (nappe phréatique) développées dans cette étude ont permis de déterminer l'importance qualitative et quantitative de la colonisation de pâtes de ciment (E/C=0,4), de base cimentaire CEM I 42.5 R CE CPS, CEM III/C 32.5 N CE PM-ES et CEM V/A (S-V) 32.5 N CE PM-ES CP1, immergées dans la nappe phréatique Rhénane pendant un an.

Une technique d'observation et d'analyse en Microscopie Electronique à Transmission de coupes ultraminces d'échantillons de pâte de ciment a été développée afin d'analyser la pénétration des microorganismes dans les réseaux poreux des échantillons ainsi que l'évolution de leur porosité.

2. Matériel et méthodes

2.1. Echantillons

Les échantillons utilisés sont des échantillons de pâtes de ciment de 10x5x50 mm³ dont la gâchée est composée de 180 grammes d'eau distillée et de 450 grammes de ciment. Les trois nuances cimentaires utilisées sont :

- un ciment Portland CEM I 42.5 R CE CPS (Norme française EN 197-1 2001) composé de 95,4% de clinker et de 4,6% de constituants secondaires
- un ciment de haut fourneau CEM III/C 32.5 N CE PM-ES (Norme française EN 197-1 2001) composé de 82,2% de laitier granulé de haut fourneau et de 17,8% de clinker.
- un ciment composé CEM V/A (S-V) 32.5 N CE PM-ES CP1 (Norme française EN 197-1 2001) composé de 51% de clinker, de 23% de laitier granulé de haut fourneau et de 26% de cendres volantes siliceuses.

Tous les échantillons ont été réalisés en suivant les procédures de fabrication et de maturation décrites par la norme EN 196-1 (Norme française EN 196-1 1994).

2.2. Milieux – conditions d'incubation - dénombrement

Les échantillons ont été plongés pendant un an dans la nappe phréatique rhénane à Strasbourg. Les principales caractéristiques physico-chimiques de ce milieu sont résumées dans le tableau 1 ⁽¹⁾ prélèvement et analyses faits à Strasbourg le 29/01/2007, ⁽²⁾ mesure APRONA – Inventaire 1996/1997 moyenne des résultats).

Tableau 1. Analyse physico-chimique de l'eau de la nappe phréatique rhénane

Substance	Valeur	Substance	Valeur
pH ⁽¹⁾	7,2 UpH	Ca ²⁺ ⁽¹⁾	80,2 mg/l
Température ⁽¹⁾	13°C	Mg ²⁺ ⁽¹⁾	15,0 mg/l
CO ₂ dissout ⁽¹⁾	8,55mg/l	O ₂ dissout ⁽¹⁾	40,3 mg/l
Cl ⁻ ⁽¹⁾	43,3 mg/l	NO ₃ ⁻ ⁽²⁾	10,6 mg/l
Na ²⁺ ⁽²⁾	36,7 mg/l	SO ₄ ²⁻ ⁽²⁾	49,3 mg/l

Après un an d'immersion dans le milieu naturel, les échantillons ont été individuellement plongés dans une quantité connue d'eau distillée puis stérilisée par autoclavage. Les éléments biologiques recouvrant les échantillons ont été mis en suspension dans l'eau distillée à l'aide d'un laveur ultrasons (37kHz) pendant 10 minutes.

Les dépôts ont été analysés par culture sur trois milieux de cultures sélectifs gélosés développés respectivement pour la croissance des bactéries sulfato-réductrice (BSR) (Starkey 1958), des bactéries thiosulfato-réductrices (BTR) (Magot 1988) et des bactéries sulfo-oxydantes (BSO) (Gubner 1998).

L'incubation des boîtes de Pétri a été faite dans une étuve non ventilée à $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 3 semaines. Les BSR et les BTR étant des microorganismes anaérobies, ces boîtes de Pétri ont préalablement été placées dans une jarre anaérobie pourvue d'absorbants d'oxygène.

Le dénombrement des bactéries sur les boîtes de Pétri a été mené en faisant l'hypothèse qu'une colonie s'étant développée sur la gélose n'est issue que d'une unique cellule mère.

2.3. Découpe de lames ultraminces de pâtes de ciment

Des échantillons de pâtes de ciment ont été découpés sous forme de lames ultraminces suivant les opérations suivantes :

- mise en forme des échantillons par découpe et polissage, dimensions obtenues : $5\times 2\times 0,5\text{ mm}^3$.
- enrobage des échantillons dans de la résine Araldite 6005 choisie pour sa dureté après polymérisation
- polissage des échantillons pour obtenir une extrémité pointue la plus fine possible puis enrobage dans de la résine Araldite 6005
- découpe de lame ultramince à l'aide d'un ultramicrotome Leica EM UC6 équipé d'un couteau diamant Diatome présentant un angle de d'inclinaison de 35° . Les lames découpées présentent une épaisseur comprise entre 80 et 100 nanomètres.

Une fois découpées, les lames ultraminces sont déposées sur des grilles de microscopie électronique à transmission 300 Mesh en cuivre. Pour les premiers essais, les grilles étaient utilisées sans préparation préalable. Au cours des séries d'essais suivantes, les grilles ont été recouvertes d'une membrane de formvar.

2.4. Microscopie électronique

Les analyses sont faites à l'aide d'un microscope électronique à balayage environnemental Philips XL 30 ESEM[®] utilisé en balayage et en transmission (STEM) et d'un module de spectroscopie à dispersion d'énergie (EDX) EDAX[®]. Les tensions d'accélération des électrons utilisées sont comprises entre 15kV et 25kV et permettent d'obtenir une énergie de faisceau suffisante pour l'analyse des éléments recherchés (principalement calcium). Les observations et analyses ont été menées sous pression partielle de vapeur d'eau de 1 Torr (133Pa) et 2,3 Torr (306,6 Pa). Le montage STEM utilisé est présenté ci-dessous (figure 1) :

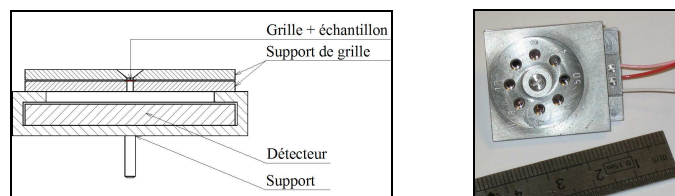


Figure 1 : Montage STEM (microscopie électronique à balayage en transmission)

3. Résultats

3.1. Analyses STEM et EDS de lames ultraminces de pâtes de ciment

Les premiers résultats ont permis de confirmer la possibilité de découper le ciment à l'aide d'un ultramicrotome. Des coupes sont présentées en figure 2. Cette figure représente une image de contraste chimique de la coupe étudiée en microscopie électronique à balayage (imagerie d'électrons secondaires). La seconde image est une image de la même coupe en microscopie électronique à balayage en transmission. Les parties sombres correspondent aux parties de la coupe freinant les électrons incidents avant leur arrivée au détecteur. Ces zones correspondent donc au matériau cimentaire. A l'inverse, les zones plus claires correspondent à la résine.

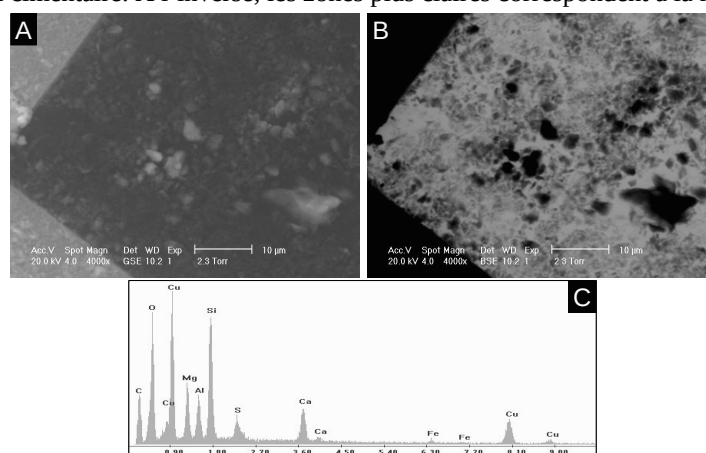


Figure 2 : Analyse en microscopie électronique à balayage (A), en microscopie électronique à balayage en transmission (B) d'une coupe ultramince d'une pâte de ciment de base cimentaire CEM I et analyse EDS associée (C).

3.2. Colonisation des échantillons

L'observation des échantillons après trois ans d'immersion dans la nappe phréatique rhénane à l'aide d'un microscope électronique environnemental a permis de constater la présence de dépôts discrets disséminés aléatoirement à la surface du matériau. Une analyse EDS locale de ce type de dépôt a montré la présence de fer,

alors que les zones non recouvertes du mortier n'en contiennent pas comme le montre l'analyse globale de la figure 3.

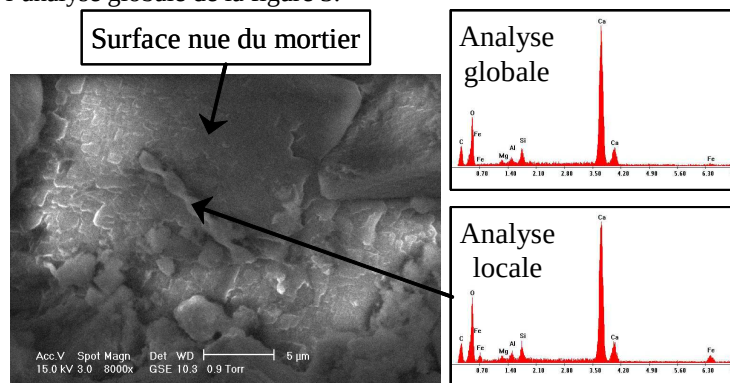


Figure 3 : Observation et analyses d'un échantillon de mortier normalisé, immersion 3 ans dans la nappe phréatique rhénane

La mise en culture des biofilms recouvrant les échantillons plongés dans la nappe phréatique a permis d'obtenir les résultats présentés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Colonisation des pâtes de ciment plongées dans la nappe phréatique Rhénane : densité de colonisation de BSR, BTR et BSO selon la nuance cimentaire

	Densité de microorganismes [bactéries/cm ²]		
	BSR	BTR	BSO
CEMI	0	9400	205
CEMIII	195	590	390
CEMV	0	4800	2100

4. Discussion

4.1. Analyses STEM et EDS de lames ultraminces de pâtes de ciment

La majorité des granulats utilisés en France sont des granulats siliceux chimiquement inertes. La dégradation chimique des bétons est donc liée à la dégradation de la matrice cimentaire. L'étude de la biodégradation des bétons peut ainsi, dans un premier temps, se limiter à l'étude de la dégradation de cette matrice cimentaire. C'est pourquoi ce travail se base sur l'étude de pâtes de ciment plutôt que de mortiers ou de bétons. Pour étudier la pénétration du biofilm dans le réseau poreux du mortier, il est intéressant de visualiser une coupe de l'échantillon perpendiculaire à la surface en microscopie électronique en transmission (TEM) ou/et en microscopie électronique à balayage en transmission (STEM). Nos essais de découpe et d'observations STEM de mortier ont pour objectif de mettre au point les procédures et méthodes de préparation et d'analyse afin de pouvoir étudier des échantillons recouverts de biofilm. La découpe ultramince de matériaux cimentaires

à l'aide d'un couteau diamant pose généralement le problème de la présence de granulats siliceux d'une grande dureté. Bien que la théorie autorise de telles découpes, une usure accélérée du couteau est très nettement observable (Roux 2006). Les pâtes de ciment posent moins de problèmes d'usures lors de la découpe ultramince des échantillons. Les premiers résultats obtenus ont permis de confirmer la conservation du matériau sous forme de lames ultraminces. Les analyses EDS montrent la présence de calcium dans la lame ultramince, celui-ci ne pouvant provenir que du ciment.

4.2. Colonisation des échantillons

Les microorganismes les plus largement incriminés dans la littérature sont les bactéries sulfo-oxydantes (BSO) du genre *Thiobacilli*. Dans les réseaux d'assainissement, les bactéries sulfato-réductrice (BSR) réduisent les sulfates charriés par les eaux usées pour former du sulfure d'hydrogène qui se dépose sous forme de produits oxydés sur les parois de la canalisation (soufre élémentaire par exemple). Les BSO utilisent ces composés pour métaboliser de l'acide sulfurique qui réagit avec la matrice cimentaire pour former du gypse et de l'ettringite (De Belie 2004). Les essais menés montrent que tous les échantillons plongés pendant un an dans le milieu naturel sont colonisés par des microorganismes. Les BTR sont les bactéries ayant le plus densément colonisé chacun des échantillons. Bien que cette colonisation renseigne sur la bioréceptivité relative des différents échantillons (Guillitte 1995), cette colonisation n'est pas, selon la bibliographie, la plus dommageable pour les matériaux cimentaires. Les bactéries les plus fréquemment incriminées dans les processus de biodégradation, les BSO, colonisent toutes les nuances cimentaires après une durée d'immersion relativement faible. La dégradation des matériaux cimentaires due à l'action de l'acide sulfurique d'origine biologique est liée à l'action combinée des BSR et des BSO en présence de sulfates. Les BSR n'ont été détectées que sur les échantillons de CEMIII. Bien qu'étant la nuance cimentaire présentant la plus faible densité de bactéries à sa surface, ces échantillons présentent à leur surface le consortium microbien permettant une dégradation liée à la métabolisation d'acide sulfurique.

5. Conclusion

Les essais menés au cours de ce travail ont permis :

- de développer une méthode originale d'observation et d'analyses de lames ultraminces de la couche superficielle d'échantillons de matériaux cimentaires. Ces essais sont poursuivis afin d'évaluer l'évolution du réseau poreux en fonction du temps d'immersion des échantillons dans différents milieux. La pénétration des microorganismes dans le réseau poreux du matériau pourra également être analysée.
- d'évaluer la bioréceptivité de 3 nuances cimentaires en fonction des microorganismes présents dans le milieu et réputés induire des problèmes de bioaltération et/ou de biodégradation.

Remerciements : Ce travail est effectué dans le cadre du projet « Evaluation des risques de biodégradation des bétons en contact avec des eaux naturelles » soutenu par la Région Alsace.

6. Bibliographie

- De Belie, N., J. Monteny, et al. « 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* vol. 34 n° 12, 2004, p. 2223-2236.
- Gaylarde, C. C. and P. M. Gaylarde. « A comparative study of the major microbial biomass of biofilms on exteriors of buildings in Europe and Latin America.» *International Biodeterioration and Biodegradation* vol. 55 n° 2, 2005, p. 131-139
- Gubner, R. J., Biofilms and accelerated low-water corrosion of carbon steel piling in tidal waters, Thèse de doctorat, University of Portsmouth, 1998
- Guillitte, O. « Bioreceptivity: A new concept for building ecology studies.» *Science of the Total Environment* vol. 167 n° 1-3, 1995, p. 215-220.
- Magot, M., L. Mondeil, et al., « Detection of Sulphate Reducing Bacteria », Proceedings of a Joint Meeting between the Biodeterioration Society and the French Microbial Corrosion Group Kew, UK, C. C. a. M. Gaylarde, L.H.G., Eds., p. 37-43
- Norme française EN 196-1 (1994). Méthodes d'essais des ciments. Partie 1 : Détermination des résistances mécaniques. AFNOR: 1-25.
- Norme française EN 197-1 (2001). Ciment - Partie 1 : composition, spécifications et critères de conformité des ciments courants AFNOR: 1-41.
- Parker, C. « The corrosion of concrete, Isolation of species of bacterium associated with the corrosion of concrete exposed to atmospheres containing hydrogen sulfide.» *Australian Journal Experimental Biology Medical Science* vol. 23, 1945, p. 81-90.
- Roux, S., F. Feugeas, et al. « Biodeterioration of mortars and cement paste studied using ESEM, STEM and EDS.» *Microscopy and Analysis* vol. 104, 2006, p. 15-17.
- Starkey, R. L. « The general physiology of the sulfate-reducing bacteria in relation to corrosion.» *Producers Monthly* vol. 22 n°, 1958, p. 12-16.
- Tulliani, J.-M., L. Montanaro, et al. « Sulfate attack of concrete building foundations induced by sewage waters » *Cement and Concrete Research* vol. 32 n° 6, 2002, p. 843-849.
- Vincke, E., N. Boon, et al. « Analysis of the microbial communities on corroded concrete sewer pipes – a case study.» *Applied Microbiology and Biotechnology* vol. 57 n° 5-6, 2001, p. 776-785.