

Lyon
5-6 juillet 2012

Biocicatrisation pour le traitement des fissures dans les matériaux cimentaires : étude de l'influence des souches bactériennes et du milieu précurseur

J. Ducasse-Lapeyresse^{1,2}, R. Gagné¹, C. Lors^{2,3} et D. Damidot^{2,3}

¹ Centre de recherche sur les infrastructures en béton (CRIB), Université de Sherbrooke, Québec, Canada

² École des mines de Douai, LGCgE-GCE, Douai, France

³ Université Lille Nord de France, Lille, France

RÉSUMÉ : Pour accélérer le processus naturel d'autocicatrisation et pour parvenir à cicatriser complètement des fissures larges ($> 200 \mu\text{m}$), la biocicatrisation semble l'un des moyens le plus prometteur. L'objectif principal de cette recherche est de mieux comprendre les mécanismes de la biocicatrisation des matériaux cimentaires pour pouvoir accélérer la cinétique et maximiser l'efficacité du colmatage des fissures relativement importantes. L'approche de biocicatrisation étudiée consiste à imprégner les fissures à l'aide d'un milieu de culture (milieu précurseur) contenant des souches bactériennes. Cette publication présente les premiers résultats d'une recherche comportant deux volets: Une étude sur les mortiers et une étude sur les bactéries. L'étude sur les mortiers porte plus spécifiquement sur la cicatrisation naturelle mais aussi sur l'influence de deux milieux précurseurs (lactate et gluconate de calcium) sur cette autocicatrisation. L'étude sur les bactéries vise à sélectionner et à suivre le développement des bactéries dans différents milieux et à différents pH en vue de leur future utilisation dans les fissures de mortier. Des éprouvettes de mortier ($E/C = 0,485$) ont été soumises à une fissuration contrôlée à 28 jours (sous chargement soutenu) à l'aide d'un cœur expansif. Deux catégories de fissures ont été créées ($100 \pm 5 \mu\text{m}$ $195 \pm 30 \mu\text{m}$). La cinétique de l'autocicatrisation est évaluée à l'aide d'une cellule de perméabilité à l'air qui permet de mesurer l'évolution, au cours du temps (1, 3 et 6 mois de conservation à $23 \text{ }^\circ\text{C}$ et $100\% \text{ H.R.}$), de l'ouverture apparente des fissures en cours d'autocicatrisation. L'autocicatrisation est globalement plus rapide et plus complète lorsque les fissures sont imprégnées de lactate ou de gluconate de calcium immédiatement après la fissuration. C'est principalement l'autocicatrisation des grosses fissures ($> 150 \mu\text{m}$) qui est nettement meilleure en présence des précurseurs. Avec les précurseurs, les produits d'autocicatrisation sont systématiquement composés d'ettringite. Toutes les surfaces internes des fissures imprégnées de lactate de calcium ou de gluconate de calcium sont entièrement recouvertes d'ettringite. Les souches bactériennes retenues, *Bacillus pseudofirmus* et *Bacillus cohnii*, présentent une croissance rapide (milieu NB à pH 9,7) sans phase de latence avec une phase exponentielle suivie d'une phase stationnaire. Les résultats montrent que *B. pseudofirmus* et *B. cohnii* sont capable de se développer dans des milieux ayant un pH compris entre 7,5 et 10,5. Cette gamme de pH correspond au pH d'un béton de surface carbonaté / lixivié mais aussi du béton d'une fissure qui a commencé à être autocicatrisée. En revanche, aucune croissance n'a été détectée à pH de 11,5 pour les deux souches testées.

1. INTRODUCTION

Chaque année de significatives ressources financières et techniques sont dévolues à la maintenance, à la réparation et à la reconstruction de structures en béton armé. La durabilité des ouvrages est plus que jamais un impératif essentiel pour nos sociétés où les coûts d'entretien pèsent lourdement sur les finances publiques.

La fissuration est un des paramètres clé de la durabilité des ouvrages. Son impact sur la longévité est complexe du fait notamment de l'évolution possible des propriétés des fissures durant la vie de l'ouvrage. L'autocicatrisation est un des mécanismes qui influent sur les changements de géométrie et de propriétés de transport dans les fissures. L'autocicatrisation se définit comme le rétablissement de certaines propriétés physiques et mécaniques des matériaux cimentaires placés dans un environnement favorable (température et humidité) (Sukhotskaya et coll. 1983). L'autocicatrisation peut donc contribuer à la cimentation et au colmatage des fissures. L'intérêt est donc grand de comprendre et de favoriser ce phénomène qui a un impact direct sur la durabilité des structures.

L'autocicatrisation est accomplie selon deux mécanismes principaux : 1- L'hydratation des grains de ciment anhydres et 2- La carbonatation (Edvardsen 1999, Jacobsen et coll. 1998). Le premier mécanisme repose sur la formation de nouveaux produits d'hydratation formés grâce à la pénétration de l'eau, via les fissures, jusqu'aux grains de ciment encore non hydratés. Le second mécanisme repose sur la formation de calcite (CaCO_3) dans la fissure. Le CO_2 et l'eau pénétrant dans la fissure engendrent une réaction de carbonatation de la portlandite (Ca(OH)_2). Les deux mécanismes contribuent progressivement au remplissage du volume de la fissure par la formation de composés stables. Sous certaines conditions, la cicatrisation de la fissure peut être complète (Argouges et Gagné 2009).

La cinétique de l'autocicatrisation est influencée par l'ouverture initiale de la fissure. Les fissures fines ($<100 \mu\text{m}$) cicatrisent rapidement le premier mois, puis plus lentement par la suite. Dans les fissures plus larges ($>100 \mu\text{m}$), l'autocicatrisation est plus progressive. Néanmoins, le phénomène d'autocicatrisation est toujours ralenti avec la formation progressive des produits dans les fissures. Les réactifs présents dans la pâte de ciment (les grains de ciment anhydre et la portlandite) sont plus difficiles d'accès. Ainsi, les fissures larges ne se cicatrisent pas complètement et la cinétique de cicatrisation diminue rapidement au cours du temps (Gagné et Argouges 2012).

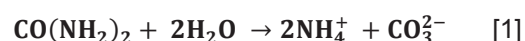
Pour accélérer le processus naturel d'autocicatrisation et pour parvenir à cicatriser complètement des fissures larges, la biocicatrisation semble l'un des moyens le plus prometteur. L'objectif est d'utiliser le potentiel de certains microorganismes pour favoriser la précipitation de composés chimiques dans les fissures.

Trois approches sont principalement retenues pour la biocicatrisation : Le traitement de l'ensemble du volume du matériau, le traitement de la surface ou l'injection dans les fissures. La première approche nécessite l'inclusion de bactéries au sein même de la matrice cimentaire. Elles font alors partie intégrante de la composition du matériau. Ces trois approches de biocicatrisation comportent, d'une part, un apport de bactéries dans la matrice cimentaire (ou dans la fissure) et, d'autre part, un apport de milieu de culture permettant leur survie et leur croissance.

Les modes d'action de la biocicatrisation sont nombreux, le principal consiste à favoriser le phénomène de carbonatation dans les fissures. Le métabolisme bactérien peut aboutir à la formation d'espèces chimiques qui formeront par la suite de la calcite : les ions carbonate ou les ions calcium. Mais les microorganismes peuvent agir plus indirectement sur la formation du carbonate de calcium : en augmentant localement le pH ou en constituant des sites favorables à la nucléation des cristaux de calcite (Castanier et coll. 1999, De Muyndk et coll. 2010).

Les souches bactériennes potentiellement actives, et déjà identifiées, sont principalement issues du genre *Bacillus* : *Bacillus alkalinitrilicus*, *Bacillus cohnii*, *Bacillus pseudofirmus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pasteurii*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus cereus*, etc. Mais on peut noter également *Micrococcus* sp., *Pseudomonas putida*, *Myxococcus xanthus* et d'autres bactéries « exotiques » spécifiquement étudiées dans le cadre de la biocicatrisation par exemple proche de *Thermoanaerobactor* sp. (De Muyndk et coll. 2010, Biswas et coll. 2010).

Bacillus pasteurii et *Bacillus sphaericus* ont la capacité d'hydrolyser l'urée. La dégradation de l'urée ($\text{CO(NH}_2)_2$) par les bactéries aboutit à la production d'ions ammonium (NH_4^+) et d'ions carbonate (CO_3^{2-}). Les ions ammonium, en augmentant le pH, facilitent la carbonatation et l'ion carbonate est l'un des deux réactifs nécessaires pour la formation de la calcite.



Bacillus cohnii, *Bacillus pseudofirmus* et *Bacillus alkalinitrilicus* sont utilisées en présence de lactate de calcium ($\text{CaC}_6\text{H}_{10}\text{O}_6$), leur métabolisme permet sa conversion en calcite.



La souche bactérienne proche de *Thermoanaerobactor* sp., isolée par M. Biswas et coll. (2010), a une action radicalement différente sur la matrice cimentaire. C'est la production d'une enzyme qui relâche la silice des matériaux cimentaires et permet la formation avec les différents oxydes de la géhlénite ($\text{Ca}_2\text{Al}(\text{AlSiO}_7)$).

Les autres souches bactériennes ont une action plus indirecte sur la formation de calcite. C'est l'augmentation du pH par leur activité métabolique qui favorise la précipitation des cristaux de carbonate de calcium.

Un autre levier d'action des bactéries sur la formation des cristaux de calcite réside dans la nature de leur paroi cellulaire. Cette dernière est chargée négativement, la mesure de cette charge est donnée par le ζ -potentiel de la bactérie. Cette caractéristique permet aux bactéries d'attirer les ions calcium, chargés positivement. Il en ressort une sursaturation locale et une précipitation hétérogène de carbonate de calcium aux alentours de la bactérie.

Les matrices cimentaires sont des milieux agressifs pour les bactéries, notamment du fait de leur pH élevé. Le milieu de culture doit permettre la croissance et la survie des bactéries en régulant le pH et en apportant les sources de nutriments nécessaires. En plus de ce rôle nourricier et protecteur primordial, le milieu de culture doit apporter les substrats essentiels au métabolisme bactérien contribuant à la formation de calcite. Ainsi, la composition de ces milieux devient complexe, avec la présence de glucose, de bouillons nutritifs, d'extrait de levure pour les sources de nutriment auxquels s'ajoutent urée ou lactate de calcium ou acétate de calcium ou chlorure d'ammonium et les solutions d'ajustement du pH.

L'influence de ces milieux sur les matrices cimentaires n'est pas neutre. Leur présence peut être nuisible ou parfois favorable au matériau (Jonkers et coll. 2010). Il convient d'en tenir compte dans les études.

Enfin, les facteurs environnementaux influencent la biocicatrisation. En plus de leurs effets sur les mécanismes chimiques de l'autocicatrisation, la température et l'humidité impactent la cinétique de croissance et le métabolisme des bactéries. Globalement, le processus de biocicatrisation est donc un phénomène complexe qui repose sur des mécanismes très variés et fait intervenir un grand nombre de facteurs d'influence.

2. BUT DE LA RECHERCHE

L'objectif principal de cette recherche est de mieux comprendre les mécanismes de la biocicatrisation des matériaux cimentaires pour pouvoir accélérer la cinétique et maximiser l'efficacité du colmatage des fissures relativement importantes ($> 200 \mu\text{m}$).

Cet objectif global comporte les objectifs spécifiques suivants :

- Évaluer la cicatrisation naturelle des mortiers testés.
- Évaluer la cicatrisation de ces mêmes mortiers en présence de solutions contenant des précurseurs de précipitation et en présence des milieux de culture sans bactéries.
- Évaluer la biocicatrisation de ces mêmes mortiers en présence des milieux de culture avec les bactéries tout en mesurant l'activité bactérienne. Pour réaliser ces essais, il conviendra préalablement de :
 - Sélectionner des souches bactériennes conduisant à précipiter la calcite dans des environnements ayant un pH voisin de 9.
 - Développer des milieux de culture conduisant à une bonne activité bactérienne tout en n'entraînant pas une attaque chimique du mortier.
 - Établir une méthode de suivi de l'activité bactérienne lors des essais de biocicatrisation.

- Comparer la performance des différentes méthodes de cicatrization en fonction de la taille des fissures.

La cicatrization des matériaux cimentaires, et plus encore, le métabolisme des microorganismes sont sensibles à de nombreux paramètres. Le projet se limite à considérer certaines variables :

- Une composition de mortier : celui préconisé dans la norme ASTM C109-C109M
- Deux ouvertures de fissure : 100 μm et 200 μm
- Trois souches bactériennes : *Bacillus pseudofirmus*, *Bacillus cohnii* et *Bacillus sphaericus*.
- Trois solutions contenant des précurseurs de précipitation : Lactate de calcium, Gluconate de calcium et Urée.

3. PROGRAMME EXPÉRIMENTAL

Le programme expérimental faisant l'objet de cette publication ne concerne que la phase initiale du projet de recherche plus vaste décrit dans la section précédente. Actuellement, il se décompose en deux parties encore indépendantes : une étude sur les mortiers et une étude sur les bactéries (Figure 1). L'étude sur les mortiers est réalisée à l'Université de Sherbrooke. Elle porte plus spécifiquement sur la cicatrization naturelle mais aussi l'influence des précurseurs de précipitation sur cette aut cicatrization. L'étude sur les bactéries est réalisée à l'École des Mines de Douai. Elle vise à sélectionner et à suivre le développement des bactéries dans différents milieux et à différents pH en vue de leur future utilisation dans les fissures de mortier.

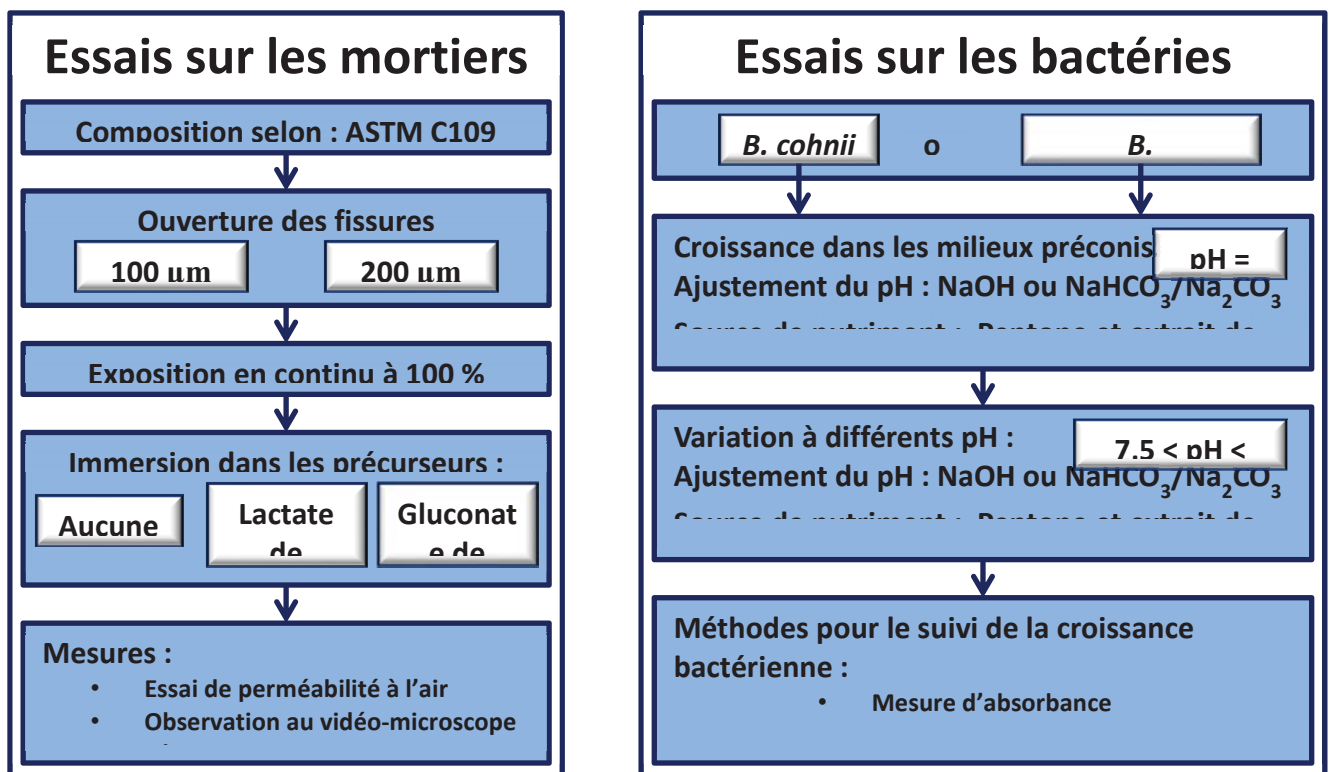


Figure 1. Description du programme expérimental

3.1 Essais de cicatrization sur les mortiers fissurés

La méthodologie globale des essais de cicatrization des mortiers est similaire à celle déjà utilisée pour des recherches antérieures réalisées à l'Université de Sherbrooke (Argouges et Gagné 2009, Argouges et Gagné 2011, Ismail 2006, Gagné et Argouges 2012).

3.1.1 Formulation des mortiers

La composition du mortier est conforme à la norme ASTM C109-C109M. Le rapport sable/ciment est de 2,75 et le rapport eau/ciment est égal à 0,485 (Tableau 1). Le sable siliceux est conforme à la ASTM C778 (sable d'Ottawa). Toutes les particules passent le tamis n° 20 (850 µm) et la densité est de 2,65. Tous les mortiers sont fabriqués avec un ciment hydraulique canadien à usage général (type Gu).

Tableau 1. Formulation des éprouvettes de mortier

E/C	Sable/Ciment	Ciment GU (kg)	Sable d'Ottawa (kg)	Eau (kg)
0,485	2,75	2,361	6,494	1,145

3.1.2 Éprouvettes

Les échantillons de mortier sont de forme cylindrique, avec une ouverture centrale pour permettre l'insertion du mécanisme de fissuration contrôlée : le cœur expansif (Figure 2). Les éprouvettes sont armées d'un anneau en acier de section circulaire de 4,8 mm de diamètre et de diamètre intérieur de 95,2 mm. Il permet notamment de préserver la cohésion globale après la fissuration de l'éprouvette (Gagné et Argouges 2012).

Les moules cylindriques comportent une insertion cylindrique de téflon en leur centre. Ils sont remplis en deux couches avec une vibration après la mise en place de chacune des couches. La surface supérieure de l'éprouvette est ensuite arasée et le moule est recouvert d'une plaque de plastique rigide et imperméable pendant approximativement 24 heures. Immédiatement après le démoulage, les éprouvettes sont conservées dans une chambre humide (23 °C et 100 % d'humidité relative) jusqu'à l'âge de 28 jours. Au terme du mûrissement, la face supérieure de l'éprouvette (soumise à l'arasement du béton frais) est polie pour produire une éprouvette d'épaisseur constante. Avant de procéder à la fissuration initiale, les éprouvettes sont séchées pendant 24 heures dans une étuve ventilée maintenue à 40 °C.

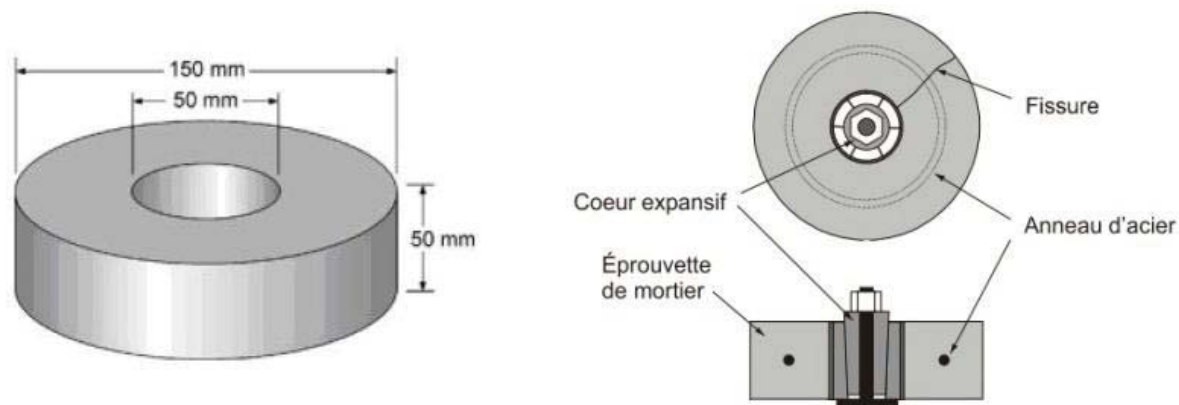


Figure 2. Schéma de l'éprouvette de mortier et du cœur expansif

3.1.3 Procédure de fissuration des éprouvettes

Les éprouvettes de mortiers sont fissurées par l'application d'une déformation contrôlée en traction engendrée par un cœur expansif mécanique (Gagné et Argouges 2012). Ce mécanisme est placé dans l'ouverture centrale de l'éprouvette de mortier (Figure 2). Il demeure en place durant toute la durée d'un essai, pour maintenir constante la déformation initiale qu'il impose.

Le cœur expansif est constitué d'un cône tronqué en acier qui glisse à l'intérieur de six pétales coniques en acier. Une mince bague en PVC retient l'ensemble des pétales contre le cône interne et joue le rôle de coussin déformable entre le cœur expansif et la surface interne des éprouvettes de mortier. La fissuration contrôlée est engendrée par le serrage d'un boulon et d'un écrou en acier haute résistance qui force la pénétration du cône à l'intérieur des pétales. Ce processus entraîne une augmentation du diamètre de la bague en PVC, ce qui conduit à une déformation du diamètre interne de l'éprouvette de mortier. L'ouverture de la fissure est obtenue en ajustant la déformation du cœur expansif.

3.1.4 Mesure de débit d'air et ouverture apparente des fissures

Une cellule de perméabilité à l'air (Figure 3) permet des mesures précises du débit d'air à travers une fissure unique sous des conditions d'écoulement bien contrôlées : température et gradient de pression constants (Gagné et Argouges 2012). Les pressions absolues en amont et en aval sont maintenues constantes à 150 kPa et à 100 kPa ± 5 kPa (pression atmosphérique) respectivement. Le débit volumique en aval est mesuré par un des trois débitmètres à bille (rotamètre). Les mesures de débit d'air sont effectuées dès la fissuration, puis après 1 mois, 3 mois et 6 mois de conditionnement. Les éprouvettes sont séchées pendant 24h à 40 °C avant chaque mesure de débit.

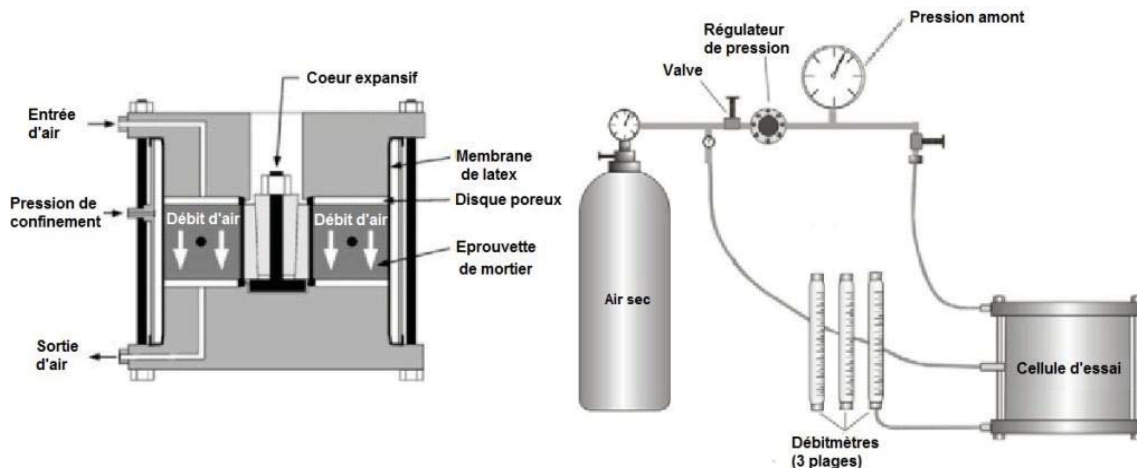


Figure 3. Schéma du dispositif de mesure du débit d'air

L'évolution du débit d'air en fonction du temps de conservation à 100% H.R. permet d'évaluer la progression et la cinétique de l'autocicatrisation. Elle permet aussi de calculer l'ouverture apparente d'une fissure en cours d'autocicatrisation. Les résultats de Gagné et Argouges (2012) ont permis d'établir une relation générale entre le débit d'air et l'ouverture initiale d'une fissure (pour des conditions d'essais fixés). L'équation 3 présente la relation entre le débit et l'ouverture de fissure pour un gradient de pression constant de 50 kPa. Q est le débit d'air mesuré (L/min) et Wa est l'ouverture de fissure apparente (µm).

$$Q = -1.10^{-7} \times Wa^3 + 0,0003 \times Wa^2 - 0,0025 \times Wa \quad [3]$$

Un vidéomicroscope est utilisé pour mesurer précisément l'ouverture initiale immédiatement après la fissuration. Cependant, cette technique ne peut pas être utilisée pour mesurer l'ouverture des fissures en cours de cicatrisation car les lèvres des fissures ne peuvent pas être localisées avec précision. Dans ce cas, l'équation 3 est utilisée pour calculer une ouverture apparente basée sur la mesure du débit d'air. Cette ouverture est obtenue à partir des racines de l'équation (Argouges et Gagné 2011).

3.1.5 Environnement de conservation des éprouvettes en cours d'autocicatrisation

Après la fissuration, les éprouvettes sont conservées à 23 °C et 100% H.R. Le dispositif de stockage est constitué d'un récipient en plastique de 20 litres relié à un appareil d'humidification. Ce dernier fonctionne en faisant vibrer une capsule piézoélectrique à des fréquences ultrasonores. Les vibrations produites engendrent la formation de microbulles de vapeur d'eau. Cette vapeur d'eau est transportée dans un tube flexible pour être injectée à l'intérieur du récipient. Le récipient cylindrique est fermé par un couvercle qui comporte une petite ouverture pour permettre l'apport de CO₂. Une minuterie contrôle la production de vapeur d'eau. Le système permet de constamment maintenir humide la surface des éprouvettes. Un bidon de 20 litres peut contenir 5 éprouvettes.

3.1.6 Milieux précurseurs

Trois types d'essais sont réalisés sur les mortiers : sans précurseur, avec lactate de calcium et avec gluconate de calcium. L'application du traitement dans les fissures se fait par immersion des

éprouvettes dans les solutions pendant 24 heures. Avant l'immersion, les éprouvettes fissurées sont séchées pendant 24h à 40 °C. La solution pénètre dans les fissures sous l'effet de la succion capillaire. Les solutions se composent de 79 g/L de lactate de calcium ou de 20 g/L de gluconate de calcium.

3.1.7 Observations au microscope électronique à balayage (MEB)

Après 6 mois de conditionnement, les surfaces internes de fissures de certaines éprouvettes sont examinées pour identifier et localiser les produits de l'autocicatrisation. Le prélèvement des échantillons observés au MEB est effectué en sciant un petit cube de mortier de manière à ce que la fissure soit approximativement localisée au milieu du prélèvement (Argouges et Gagné 2011). Après sciage, la fissure est délicatement séparée dans le plan de fissuration à l'aide d'un petit poinçon et d'un marteau. Des petits morceaux sont ensuite détachés pour être observés au MEB.

3.2 Essais de croissance bactérienne

3.2.1 Suivi de la croissance bactérienne dans les milieux testés

Les souches *B. cohnii* et *B. pseudofirmus* sont fournies par DMSZ (Braunschweig, Germany). Le milieu de croissance recommandé correspond au milieu Nutrient Broth² (NB) ajusté à un pH de 9,7 avec une solution tampon³ de NaHCO₃ / Na₂CO₃. Pour un second milieu, le pH est ajusté à 9,7 avec une solution de NaOH qui n'a pas de pouvoir tampon mais qui a l'avantage de ne pas être une source d'ions carbonate.

Tableau 2. Composition des milieux testés

Composition	Milieu NB ² (g)	Eau milli Q (L)	Solution tampon ³ (mL)	NaOH à 1 Mol/L (mL)	pH
Milieu 1	8	1	50	-	9,7
Milieu 2	8	1	-	15	9,7

L'ensemencement des milieux de culture est réalisé à partir de 100 µL de pré-culture dans 100 mL de milieu. La pré-culture s'obtient à partir d'un cryotube⁴ introduit dans 100 mL de milieu stérile. Les milieux ensemencés sont incubés à 30 °C sous agitation. Les essais menés en erlenmeyers (250 mL) sont réalisés en double.

La croissance bactérienne est évaluée par deux techniques :

- Mesures d'absorbance : Le développement des bactéries dans une solution augmente la turbidité. Elle peut être suivie par des mesures d'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre. La longueur d'onde utilisée est de 620 nm, pour laquelle l'absorbance est maximale pour les bactéries.
- Comptage par épifluorescence : Cette technique consiste à compter au microscope optique équipé en épifluorescence les bactéries recueillies sur une membrane en polycarbonate à pores cylindriques calibrés à 0,2 µm. L'utilisation d'un fluorochrome (acridine orange) et d'une lumière ultraviolette permet de différencier les bactéries mortes des bactéries vivantes. Les résultats sont exprimés en nombre de bactéries vivantes ou mortes par mL.

Pour suivre l'activité bactérienne, des prélèvements périodiques sont effectués toutes les deux heures pendant environ 30h, pour chaque type d'essai.

3.2.2 Suivi de la croissance bactérienne à différents pH

L'effet du pH sur la croissance des bactéries est évalué dans le milieu NB² dont le pH est ajusté de 7,5 à 11,5 avec la solution tampon³ NaHCO₃ / Na₂CO₃. Le suivi des croissances bactériennes est réalisé par détermination de la demande biologique en oxygène (DBO) en utilisant le système Oxitop®

² Milieu NB : Nutrimet Broth, 8g sont constitués de 5g de peptone et de 3g d'extrait de bœuf.

³ Solution tampon : 1 litre est constitué de 42 g de NaHCO₃ et de 53 g de Na₂CO₃.

⁴ Cryotube : tube contenant 1mL de solution bactérienne et 0,5 mL de glycérol (¼) congelé à -80 °C.

(WTW, Germany). Ce système utilise des mesures de variations de pression gazeuse au-dessus d'une culture bactérienne contenue dans un flacon hermétique. Des pastilles de soude introduites dans un capuchon interne piègent le CO₂ dégagé par la respiration bactérienne. La dépression créée par la consommation bactérienne d'oxygène permet d'obtenir la DBO, exprimée en mg d'O₂ par litre. Le flacon réactionnel (1 L) renferme 200 mL de milieu à tester inoculé avec 200 µL de pré-culture. Le suivi de la consommation d'oxygène est réalisé pendant 6 jours à 30 °C sous agitation.

4. RÉSULTATS

4.1 Essais sur les mortiers

4.1.1 Autocicatrisation naturelle

Pour mieux quantifier l'influence des milieux précurseurs seuls et, plus tard, l'influence des bactéries, il est nécessaire de caractériser la cinétique de l'autocicatrisation naturelle de mortiers témoins ne comportant aucune bactérie ni milieu précurseur imprégnés dans les fissures. La Figure 4 présente l'évolution de l'ouverture apparente des mortiers témoins en fonction du temps de conservation à 100% H.R. Elle permet d'évaluer la cinétique de l'autocicatrisation durant les 6 premiers mois après la fissuration initiale. Les courbes sont regroupées en deux familles. La première regroupe les plus petites fissures de $105 \pm 5 \mu\text{m}$ et la deuxième regroupe les plus gros fissures de $195 \pm 30 \mu\text{m}$. L'autocicatrisation est systématiquement plus rapide durant le premier mois. Après 6 mois, l'autocicatrisation naturelle est plus complète dans le cas des fissures fines pour lesquelles l'ouverture apparente est réduite d'environ 50%. Pour les fissures plus larges, l'ouverture apparente n'est réduite que de 30% en moyenne. Globalement, ces résultats sont comparables avec ceux obtenus, dans des conditions similaires, par Argouges et Gagné (2009) et Gagné et Argouges (2012).

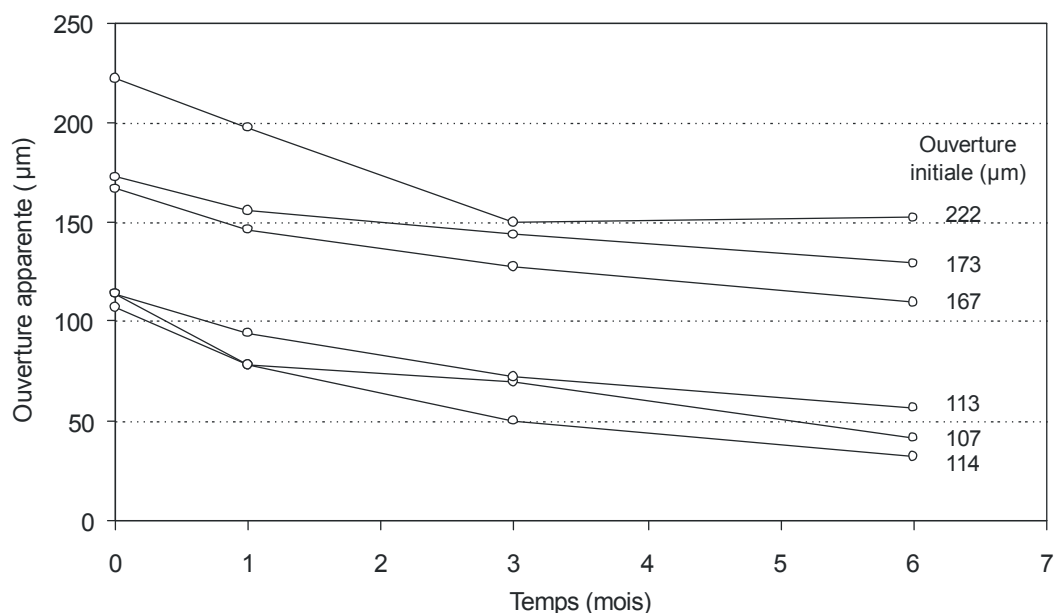


Figure 4. Évolution de l'ouverture apparente des fissures dans les mortiers témoins

Après 6 mois, les produits d'autocicatrisation dans les fissures sont principalement des cristaux de calcite formant très souvent une couche compacte sur les surfaces internes des fissures. Les dépôts de calcite (Figure 5) se retrouvent préférentiellement près de l'embouchure des fissures (au voisinage des faces exposées à l'environnement externe). Plus en profondeur, les dépôts sont moins denses et moins compacts. Ils sont composés d'un mélange de cristaux de calcite et d'ettringite (Figure 6).

4.1.2 Influence des précurseurs

L'influence des milieux précurseurs (lactate et gluconate de calcium) sur la cinétique de l'autocicatrisation est présentée aux Figures 7 et 8. Les courbes de la Figure 7 montrent que l'autocicatrisation est globalement plus rapide et plus complète lorsque la fissure est imprégnée de

lactate de calcium immédiatement après la fissuration. C'est principalement l'autocicatrisation des grosses fissures ($> 150 \mu\text{m}$) qui est nettement meilleure en présence de lactate de calcium. Par exemple, après 6 mois, l'ouverture apparente des fissures de $167 \mu\text{m}$ et $208 \mu\text{m}$ (ouverture initiale) diminue de plus 70%. Pour la même catégorie de fissures (courbe enveloppe supérieure), l'ouverture apparente mesurée dans les mortiers témoins ne diminue que de 30% en moyenne. La même tendance est observée pour les fissures de 221 , 188 et $173 \mu\text{m}$. Cependant, pour ces fissures, les résultats à 3 et 6 mois ne sont pas disponibles en raison de problèmes récurrents de fuites lors de la mesure des débits d'air (des essais sont actuellement en cours pour reprendre ces mesures). Le lactate de calcium a relativement peu d'effet sur la cinétique d'autocicatrisation de la fissure fine ($124 \mu\text{m}$). L'autocicatrisation naturelle est déjà plus complète pour cette catégorie de fissure (courbe enveloppe inférieure). De plus, la faible ouverture initiale de la fissure a peut être contribué à diminuer la quantité de lactate de calcium imprégné dans le volume interne de la fissure.

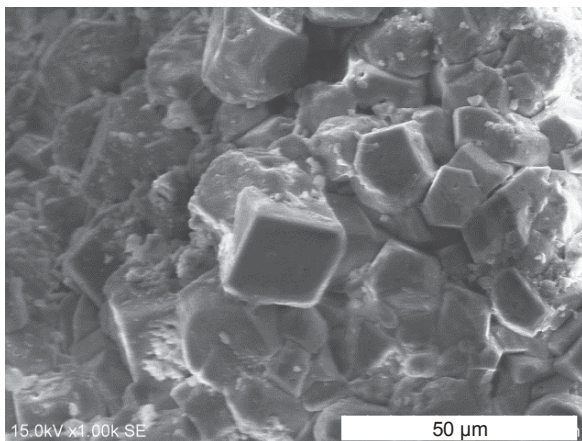


Figure 5. Calcite dans une fissure large ($222 \mu\text{m}$ d'ouverture initiale) à 6 mois

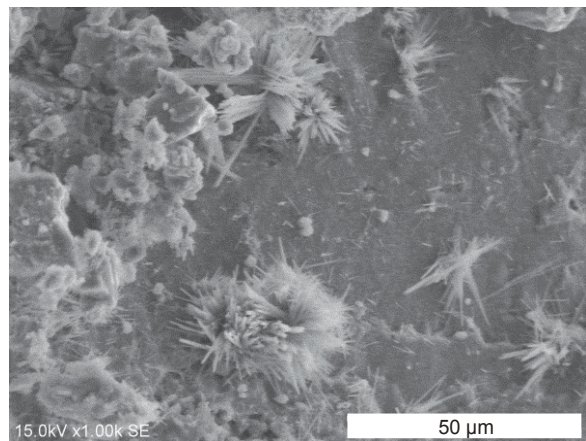


Figure 6. Ettringite dans le centre d'une fissure fine ($113 \mu\text{m}$ d'ouverture initiale) à 6 mois

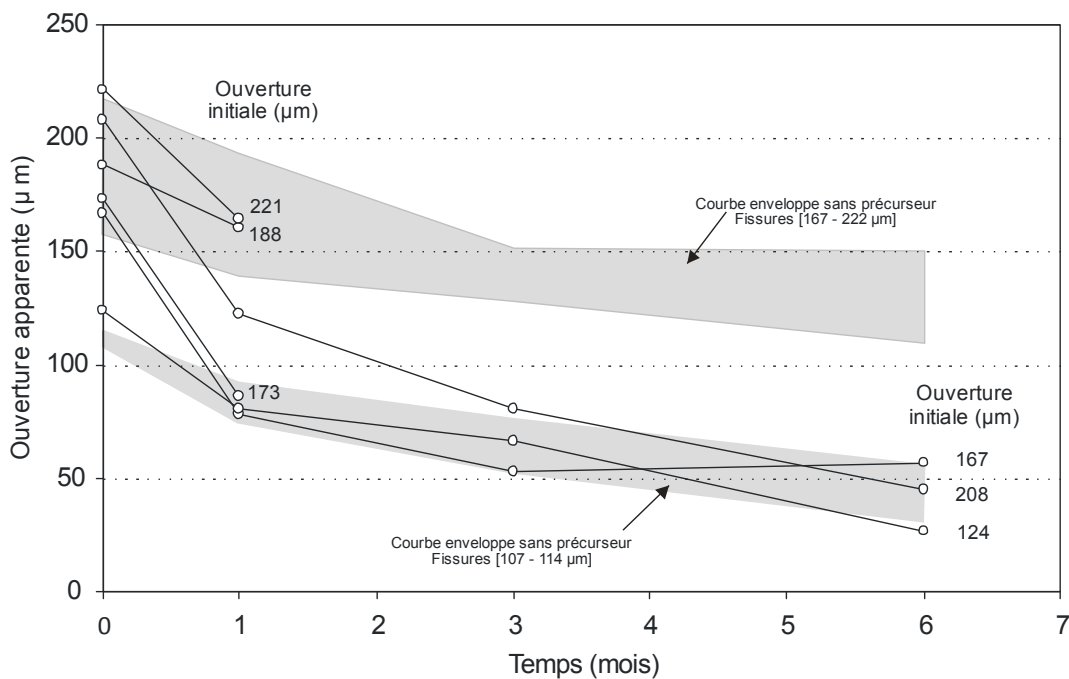


Figure 7. Évolution de l'ouverture apparente des mortiers fissurés imprégnés avec du lactate de calcium

L'influence du gluconate de calcium sur la cinétique de l'autocicatrisation est présentée à la Figure 8. L'autocicatrisation des grosses fissures ($> 150 \mu\text{m}$) est nettement meilleure en présence de gluconate de calcium. Par exemple, après 6 mois, l'ouverture apparente des fissures de $177 \mu\text{m}$ et $192 \mu\text{m}$ (ouverture initiale) diminue de 60 à 70%. Pour la même catégorie de fissures (courbe enveloppe supérieure), l'ouverture apparente mesurée dans les mortiers témoins ne diminue que de 30% en moyenne. Le gluconate de calcium a relativement peu d'effet sur la cinétique d'autocicatrisation de la fissure fine ($122 \mu\text{m}$). La courbe correspondante est globalement parallèle à la courbe enveloppe pour la catégorie des fissures fines (courbe enveloppe inférieure). Comme dans le cas du lactate de calcium, la faible ouverture initiale de la fissure a peut être contribué à diminuer la quantité de gluconate de calcium imprégné dans le volume interne de la fissure. Globalement, les courbes de la Figure 8 suggèrent que le gluconate de calcium a un effet similaire à celui du lactate de calcium (Figure 7).

Après 6 mois, des observations au MEB montrent que les produits d'autocicatrisation sont systématiquement composés d'ettringite. Toutes les surfaces internes des fissures imprégnées de lactate de calcium (Figures 9 et 10) ou de gluconate de calcium (Figures 11 et 12) sont entièrement recouvertes d'ettringite. Il n'y a aucun cristal de calcite visible. L'ettringite est présente partout, autant dans les fissures larges (Figures 9 et 11) que dans les fissures plus fines (Figures 10 et 12). Il n'y a pas de différence évidente entre les produits d'autocicatrisation formés près de l'embouchure des fissures et ceux formés plus profondément sous la surface exposée à l'environnement externe. L'ettringite se dépose soit sous forme d'aiguilles formant une couche moins compacte (Figures 9 et 12), soit sous une forme plus amorphe et plus dense (Figures 10 et 11).

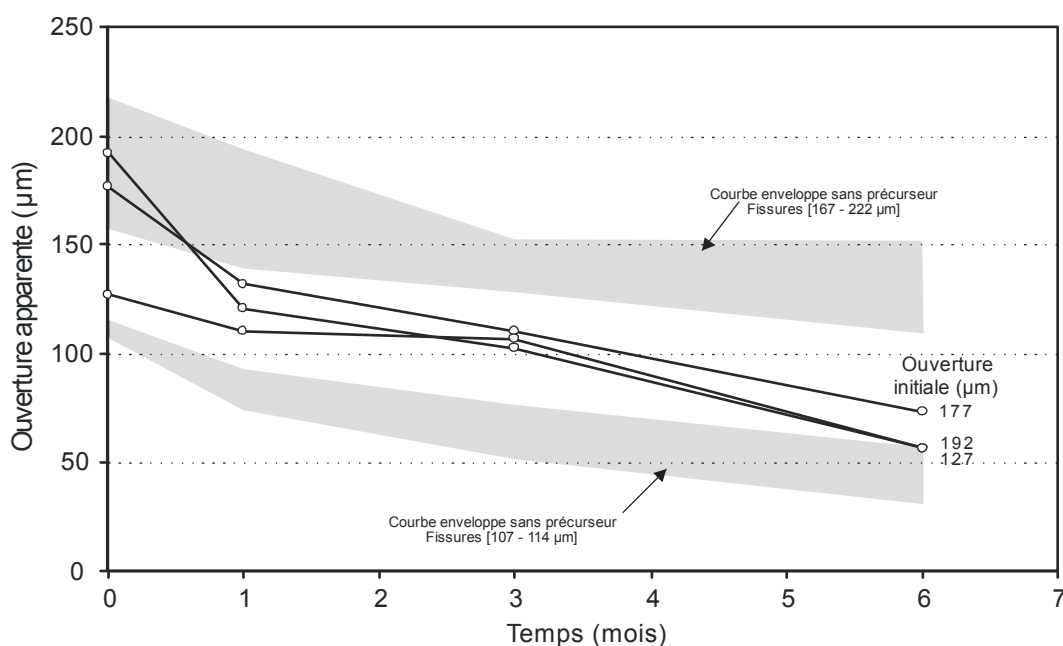


Figure 8. Évolution de l'ouverture apparente des mortiers fissurés imprégnés avec du gluconate de calcium

Le lactate et le gluconate de calcium sont des précurseurs fréquemment utilisés pour favoriser la croissance et la survie des bactéries étudiées dans les recherches sur la biocicatrisation des matériaux cimentaires (Jonkers et coll 2010, Wiktor et Jonkers 2011). Nos résultats montrent que ces deux produits, utilisés seuls, c'est-à-dire en l'absence de bactéries, peuvent favoriser très significativement le processus d'autocicatrisation. Après la fissuration initiale, le remplissage du volume interne des fissures par ces deux produits semble créer une réserve de réactifs (principalement des ions calcium), qui favorisent la formation d'ettringite dans le volume interne des fissures. Le processus chimique responsable de la formation d'ettringite en présence de lactate et de gluconate de calcium est encore mal compris.

Les deux produits précurseurs accélèrent surtout la cinétique de l'autocicatrisation des plus grosses fissures ($> 150 \mu\text{m}$). Du point de vue de la durabilité, leur effet est donc très favorable car ils

augmentent nettement le colmatage des grosses fissures, soit celles pour lesquelles l'autocicatrisation naturelle est la plus faible. Lors d'une prochaine phase de ce projet de recherche, on étudiera l'influence du couplage bactéries — milieux précurseurs sur la cinétique de la biocicatrisation. L'objectif étant de comprendre les conditions les plus favorables pour la biocicatrisation des plus grosses fissures (300 et 1000 μm).

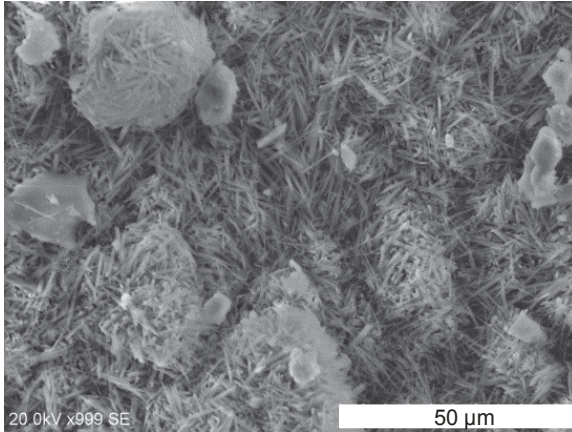


Figure 9. Ettringite dans une fissure large (208 μm d'ouverture initiale) avec lactate de calcium à 6 mois

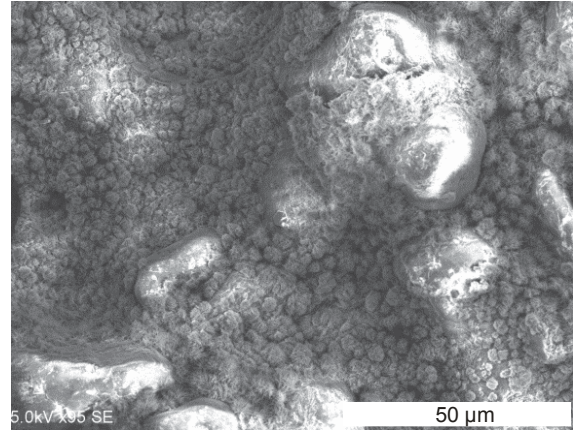


Figure 10. Ettringite dans une fissure fine (124 μm d'ouverture initiale) avec lactate de calcium à 6 mois

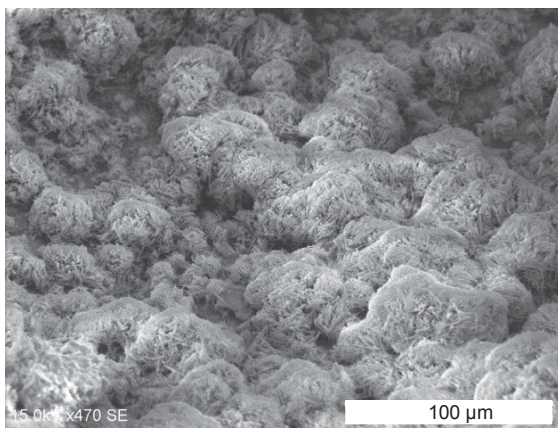


Figure 11. Ettringite dans une fissure large (177 μm d'ouverture initiale) avec gluconate de calcium à 6 mois

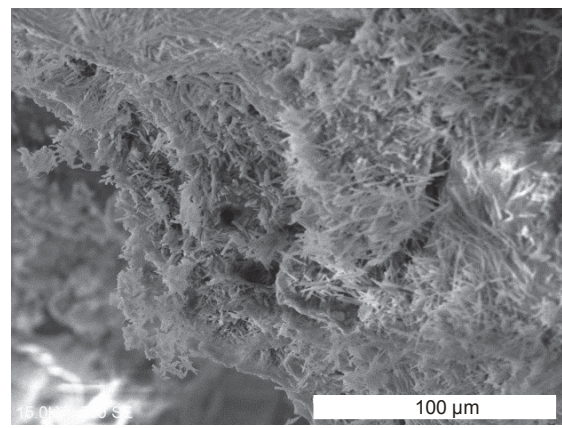


Figure 12. Ettringite dans une fissure fine (127 μm d'ouverture initiale) avec gluconate de calcium à 6 mois

4.2 Essais de croissance bactérienne

4.2.1 Croissance bactérienne dans les milieux testés

La Figure 13 présente le suivi de la croissance de *Bacillus pseudofirmus* et *Bacillus cohnii* dans le milieu NB ajusté à pH de 9,7 avec la solution tampon de $\text{NaHCO}_3 / \text{Na}_2\text{CO}_3$ (milieu 1) ou la solution de NaOH (milieu 2) à 30 °C.

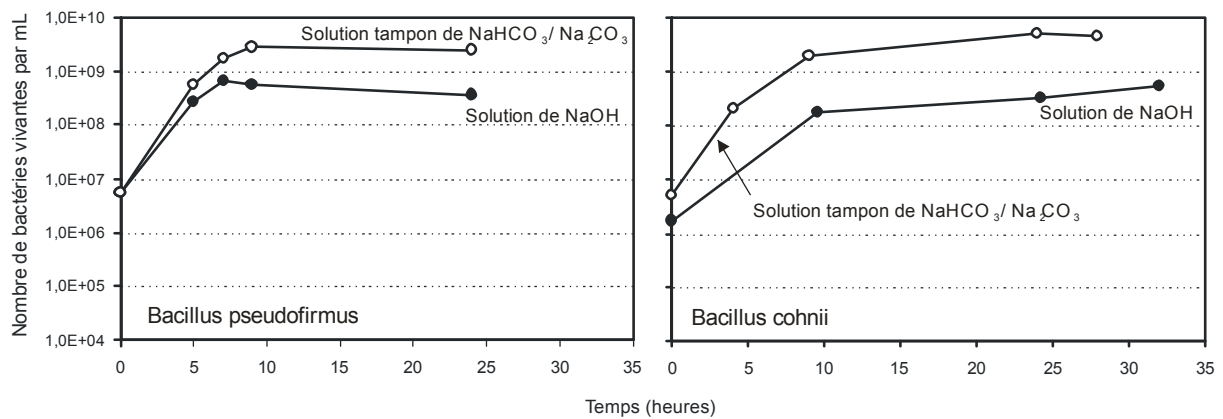


Figure 13. Suivi du nombre de bactéries vivantes au cours de la croissance de *Bacillus pseudofirmus* et de *Bacillus cohnii* dans le milieu NB ajusté à pH de 9,7 avec la solution tampon de NaHCO₃ / Na₂CO₃ ou la solution de NaOH

Les deux souches bactériennes testées présentent une croissance rapide sans phase de latence avec une phase exponentielle suivie d'une phase stationnaire (Figure 13). En fin de phase exponentielle, le nombre de bactéries est de l'ordre de 10⁹ bactéries / mL dans le milieu 1, quelle que soit la souche testée. Cette densité bactérienne traduit la bonne activité de ces deux souches bactériennes. Dans le milieu 2, ajusté avec NaOH, le nombre de bactéries est légèrement inférieur, d'un facteur de l'ordre de 10. Ce résultat ne remet toutefois pas en cause l'utilisation de ce milieu.

4.2.2 Croissance bactérienne sous différents pH

Durant l'essai de biocicatrisation, le pH de surface au niveau de la fissure sera certainement différent du pH optimum de croissance utilisé dans les milieux testés précédemment (pH=9,7). Des essais de croissance ont donc été réalisés à différents pH entre 7,5 et 11,5. D'autre part, la consommation en oxygène a été utilisée pour le suivi de l'activité bactérienne vu que cette méthode permet de réaliser des mesures en continu sur une longue période.

Les résultats montrent que *B. pseudofirmus* est capable de se développer dans des milieux ayant un pH compris entre 7,5 et 10,5 (Figure 14). Il en est de même pour *B. cohnii* (Figure 15). Cette gamme de pH correspond au pH d'un béton de surface carbonaté / lixivié mais aussi du béton d'une fissure qui a commencé à être autocicatrisée.

En revanche, aucune croissance n'a été détectée à pH de 11,5 pour les deux souches testées. Ce résultat met l'accent sur la nécessité de réaliser les essais de biocicatrisation sur des mortiers lixiviés et/ou carbonatés ou des mortiers ayant subi une cicatrisation naturelle.

Les deux souches bactériennes se développent avec globalement une cinétique comparable. La phase stationnaire est atteinte en 7 jours. Il serait intéressant de connaître la durée de cette phase avant que le nombre de bactéries vivantes soit trop faible pour que le phénomène de biocicatrisation perdure.

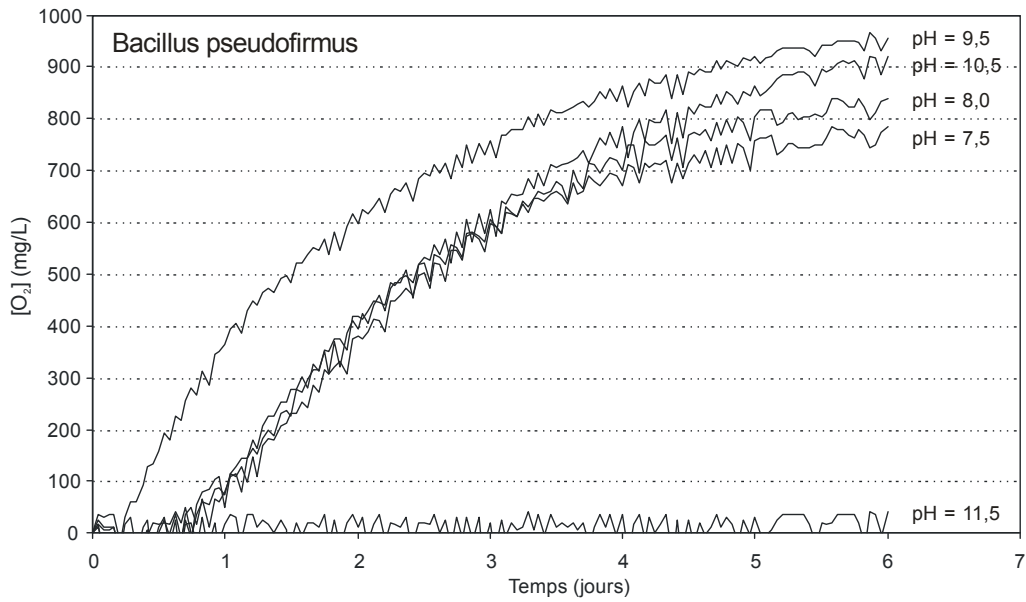


Figure 14. Suivi de la consommation d' O_2 (mg/L) au cours de la croissance de *Bacillus pseudofirmus* dans le milieu NB à différents pH

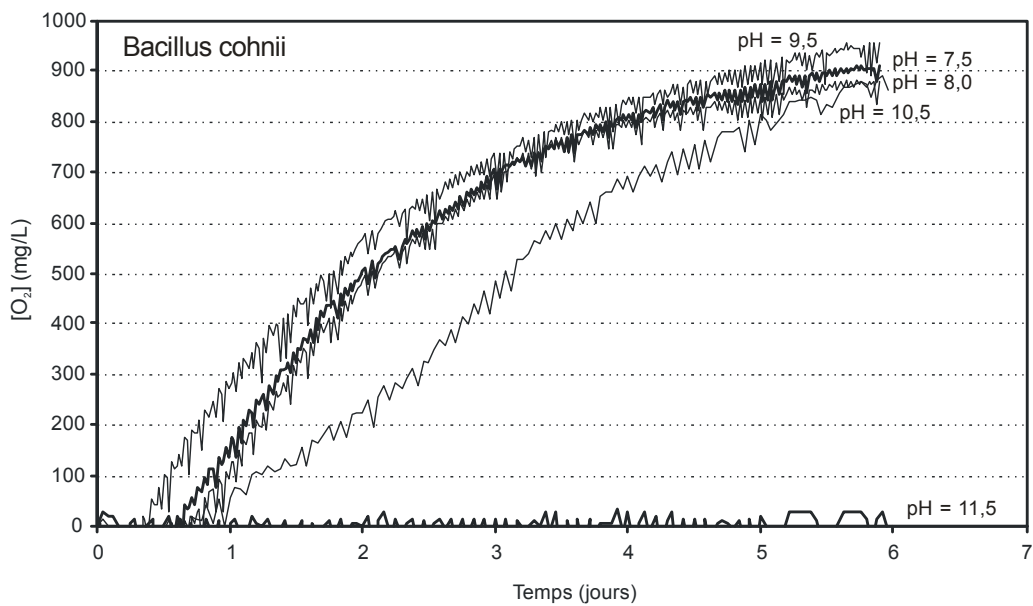


Figure 15. Suivi de la consommation d' O_2 (mg/L) au cours de la croissance de *Bacillus cohnii* dans le milieu NB à différents pH

5. CONCLUSION

Cette étude a permis de dégager les principales conclusions suivantes :

- Les mortiers témoins ont une capacité d'autocicatrisation naturelle lorsqu'ils sont conservés dans une atmosphère à 23 °C et 100% H.R. L'autocicatrisation est plus rapide durant le premier mois de conservation. Après 6 mois, l'ouverture apparente des petites fissures ($105 \pm 5 \mu\text{m}$) est diminuée d'environ 50%. Pour les plus grosses fissures ($195 \pm 30 \mu\text{m}$), l'autocicatrisation est moins complète puisque l'ouverture apparente n'est réduite que de 30% en moyenne. Les produits de l'autocicatrisation sont principalement constitués de cristaux de

calcite et d'ettringite. Dans le cas des petites fissures, les cristaux de calcite sont préférentiellement formés près de l'embouchure des fissures. Globalement, la cinétique de l'autocicatrisation des mortiers témoins est similaire à celle mesurée par Gagné et Argouges 2012.

- L'autocicatrisation est globalement plus rapide et plus complète lorsque les fissures sont imprégnées de lactate ou de gluconate de calcium immédiatement après la fissuration. C'est principalement l'autocicatrisation des grosses fissures ($> 150 \mu\text{m}$) qui est nettement meilleure en présence des précurseurs. Dans le cas du lactate de calcium, après 6 mois, l'ouverture apparente des plus grosses fissures ($> 150 \mu\text{m}$) diminue de plus 70%. Pour la même catégorie de fissures, l'ouverture apparente mesurée dans les mortiers témoins ne diminue que de 30% en moyenne.
- Les précurseurs, utilisés seuls, c'est-à-dire en l'absence de bactéries, peuvent favoriser très significativement le processus d'autocicatrisation. Les produits d'autocicatrisation sont systématiquement composés d'ettringite. Toutes les surfaces internes des fissures imprégnées de lactate de calcium ou de gluconate de calcium sont entièrement recouvertes d'ettringite. Il n'y a aucun cristal de calcite visible. L'ettringite est présente partout, autant dans les fissures larges que dans les fissures plus fines. Après la fissuration initiale, le remplissage du volume interne des fissures par ces deux produits semble créer une réserve de réactifs (principalement des ions calcium) qui favorisent la formation d'ettringite dans le volume interne des fissures.
- Les souches bactériennes retenues, *Bacillus pseudofirmus* et *Bacillus cohnii*, présentent une croissance rapide (milieu NB à pH 9,7) sans phase de latence avec une phase exponentielle suivie d'une phase stationnaire. En fin de phase exponentielle, le nombre de bactéries est de l'ordre de 10^9 bactéries / mL dans le milieu NB avec la solution tampon $\text{NaHCO}_3 / \text{Na}_2\text{CO}_3$, quelle que soit la souche testée. Cette densité bactérienne traduit la bonne activité de ces deux souches bactériennes. Dans le milieu NB, ajusté avec NaOH, le nombre de bactéries est légèrement inférieur, d'un facteur de l'ordre de 10 ; ce qui ne remet toutefois pas en cause l'utilisation de ce milieu.
- Les résultats montrent que *B. pseudofirmus* et *B. cohnii* sont capables de se développer dans des milieux ayant un pH compris entre 7,5 et 10,5. Cette gamme de pH correspond au pH d'un béton de surface carbonaté / lixivié mais aussi du béton d'une fissure qui a commencé à être autocicatrisée. En revanche, aucune croissance n'a été détectée à pH de 11,5 pour les deux souches testées. Ce résultat met l'accent sur la nécessité de réaliser les essais de biocicatrisation sur des mortiers lixiviés et/ou carbonatés ou des mortiers ayant subi une cicatrisation naturelle.

6. RÉFÉRENCES

Argouges, M., Gagné, R. (2009) Mécanismes et cinétique de l'autocicatrisation dans les mortiers cimentaires fissurés, *Comptes rendus du 17^e Colloque MTQ sur la progression de la recherche québécoise sur les ouvrages d'art*, 10-11 mai, Québec, :15.1-15.17.

Argouges, M. et Gagné, R. (2011) Mécanismes et cinétique de l'autocicatrisation dans des mortiers cimentaires : influence de la refissuration. *Comptes rendus des 12^e Journées scientifiques du (RF)2B*, Luxembourg, 6-8 juillet, : 13-25

Biswas, M., Majumdar, S., Chowdhury, T., Chattopadhyay, B., Mandal, S., Halder, U. et Yamasaki, S. (2010) Bioremediation a unique protein from a novel bacterium BKH1, ushering a new hope in concrete technology, *Enzyme and Microbial Technology* 46: 581–587.

Castanier, S., Le Métayer-Levrel, G., Perthuisot, J-P. (1999) Ca-carbonates precipitation and limestone genesis — the microbiogeologist point of view, *Sedimentary Geology* 126: 9–23.

De Muynck, W., De Belie, N., Verstraete, W. (2010) Microbial carbonate precipitation in construction materials : A review, *Ecological Engineering* 36: 118-136.

Edvardsen, C. (1999) Water penetrability and autogenous healing of separation cracks in concrete, *ACI Materials Journal* 96-M56: 448-454.

Gagné R. et Argouges, M. (2012) A study of the natural self-healing of mortars using air-flow measurements, *Materials & Structures*, DOI 10.1617/s11527-012-9861-y, (Sous presse), 14 p.

Ismail, M. (2006) Etude des transferts et de leurs interactions avec la cicatrisation dans les fissures pour prolonger la durée de service des infrastructures (ponts, centrales nucléaires), *Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse*.

Jacobsen, S., Marchand, J. et Gérard, B. (1998) Concrete Crack I : Durability and self-healing, *Proceedings of Concrete Under Severe Condition 2* 1: 217-231.

Jonkers, H., Thijssen, A., Muyzer, G., Copuroglu, O. et Schlangen, E. (2010) Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete, *Ecological Engineering* 36: 230-235.

Sukhotskaya, S. S., Mazhorova, V. P., Terekhin, Y. N. (1983) Effect of autogenous healing of concrete subjected to periodic freeze-thaw cycles, *Power Technology and Engineering (formerly Hydrotechnical Construction)* 17, n° 6: 294-296.

Wiktor, V. et Jonkers, H. M. (2011) Quantification of crack-healing in novel bacteria-based self-healing concrete, *Cement & Concrete Composites*, 33 : 763–770