

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

ÉCOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE D'ALGER



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
Ecole Nationale Polytechnique



Département Génie Minier

Mémoire de projet de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Génie Minier

Amélioration des propriétés du sable par la méthode de précipitation
de la calcite induite par des microorganismes (MICP)

SEGHAGHRA Yousra & AIT YAHIATENE Amina

Présenté et soutenu publiquement le (23/09/2024)

Composition du jury :

Président :	M.MANSOUR Farid Aghilasse	MCB	ENP
Examinatrice :	Mme.GUERFI Nabila	MRA	CRTSE
Promoteur :	M.OULD HAMOU Malek	Pr	ENP
Invitée :	Mme.MARCHICHI Amira	Dr	UQAT
Représentant de l'incubateur :	M.BOUSBAL M'hamed	Dr	Incubator ENP
Représentant de LAFARGE Algérie :	M.ZEROUB Hamid	Ing	LAFARGE Algérie

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

ÉCOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE D'ALGER



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
Ecole Nationale Polytechnique



Département Génie Minier

Mémoire de projet de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Génie Minier

Amélioration des propriétés du sable par la méthode de précipitation
de la calcite induite par des microorganismes (MICP)

SEGHAGHRA Yousra & AIT YAHIATENE Amina

Présenté et soutenu publiquement le (23/09/2024)

Composition du jury :

Président :	M.MANSOUR Farid Aghilasse	MCB	ENP
Examinatrice :	Mme.GUERFI Nabila	MRA	CRTSE
Promoteur :	M.OULD HAMOU Malek	Pr	ENP
Invitée :	Mme.MARCHICHI Amira	Dr	UQAT
Représentant de l'incubateur :	M.BOUSBAl M'hamed	Dr	Incubator ENP
Représentant de LAFARGE Algérie :	M.ZEROUB Hamid	Ing	LAFARGE Algérie

ملخص

إن البحث عن عمليات جديدة اقتصادية وصديقة للبيئة يمثل تحديًا لجميع البلدان للحفاظ على البيئة وتشجيع الاقتصاد الدائري. أطروحتنا الحالية تقدم عملية جديدة تسمح لنا بالحصول على أسمنت حيوي يعتمد على التكلس الحيوي من خلال ترسيب الكالسيت الناجم عن الكائنات الحية الدقيقة (MICP). تعتمد هذه العملية على تحسين النشاط البكتيري لـ *Sporosarcina pasteurii*، القادرة على تحليل اليوريا لزيادة درجة الحموضة محليًا، مما يتسبب في ترسيب الكالسيت. وقد سمحت لنا هذه الدراسة بتطوير بروتوكول فعال للتدعيم يهدف إلى تحسين الخواص الميكانيكية للرمل، من حيث القوة والنفاذية والتركيب المعدني. أظهرت النتائج التجريبية انخفاضًا بنسبة 59% في النفاذية، مما يسلط الضوء على قدرة المعالجة على الحد من تدفق السوائل، وزيادة في قوة الرمل، من 0.1 ميغا باسكال إلى 1.0 ميغا باسكال، مما يعكس تحسنًا كبيرًا في الخواص الميكانيكية. علاوة على ذلك، يؤكد المحتوى العالي من CaCO_3 المقاس في الرمل المعالج فعالية عملية التدعيم وقدرتها على تحويل الرمل السائب إلى مادة صلبة. هذه النتائج تثبت فعالية MICP وتمهد الطريق لتطبيقه في مجال البناء والأشغال الهندسية.

الكلمات المفتاحية: التكلس الحيوي - سبوروسارسينا باستوري - ترسيب الكالسيت - تثبيت التربة - الرمل.

Abstract

The search for new economical and ecological processes is a challenge for all countries to preserve the environment and encourage the circular economy. Our current thesis presents a new process that allows us to obtain a biological cement based on biocalcification through calcite precipitation induced by microorganisms (MICP). This process relies on optimizing the bacterial activity of *Sporosarcina pasteurii*, capable of hydrolyzing urea to locally increase the pH, which causes calcite precipitation. This study allowed us to develop an effective cementation protocol aimed at improving the mechanical properties of sand, in terms of strength, permeability, and mineralogical composition. The experimental results showed a 59% reduction in permeability, highlighting the treatment's ability to limit fluid flow, and an increase in sand strength, from 0.1 MPa to 1.0 MPa, which reflects a significant improvement in mechanical properties. Furthermore, the high CaCO_3 content measured in the treated sand confirms the effectiveness of the cementation process and its ability to transform loose sand into a solid material. These results demonstrate the effectiveness of MICP and pave the way for its application in the field of construction and engineering works.

Keywords : Biocalcification - MICP- *Sporosarcina Pasteurii*- calcite Precipitation - soil Stabilization.

Résumé

La recherche des nouveaux procédés économiques et écologiques est un enjeu de tous les pays pour la préservation de l'environnement et encourager l'économie circulaire. Notre présent mémoire est un nouveau procédé qui nous permet de l'obtention d'un ciment biologique basé sur la biocalcification par précipitation de calcite induite par des microorganismes (MICP). Ce procédé repose sur l'optimisation de l'activité bactérienne de *Sporosarcina pasteurii*, capable d'hydrolyser l'urée pour augmenter localement le pH, ce qui provoque la précipitation de la calcite. Cette étude nous a permis de développer un protocole efficace de cimentation visant à améliorer les propriétés mécaniques d'un sable, en termes de résistance, de perméabilité et de composition minéralogique. Les résultats expérimentaux ont montré une réduction de 59% de la perméabilité, soulignant la capacité du traitement à limiter les écoulements de fluides, et une augmentation de la résistance du sable, passant de 0,1 MPa à 1,0 MPa, ce qui traduit une amélioration significative des propriétés mécaniques. Par ailleurs, la forte teneur en CaCO_3 mesurée dans le sable traité confirme l'efficacité du processus de cimentation et sa capacité à transformer un sable meuble en un matériau solide. Ces résultats démontrent l'efficacité du MICP et ouvrent la voie à son application dans le domaine de la construction et des travaux d'ingénierie.

Mots clés : Biocalcification - MICP- *Sporosarcina Pasteurii* - Précipitation de calcite - Stabilisation des sols.

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce projet.

Tout d'abord, nous adressons nos sincères remerciements à Mr OULD HAMOU Malek, notre promoteur, pour son encadrement, ses conseils précieux et son soutien tout au long de ce travail. Son expertise a été une source d'inspiration et d'encouragement constante.

Nous souhaitons également remercier Dr MERCHICHI Amira, notre enseignante, pour ses remarques pertinentes et son accompagnement tout au long du projet, qui ont grandement enrichi notre réflexion.

Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury, Mr MANSOUR Farid Aghilasse, Mm GUERFI Nabila et Mr BOUSBAI M'hamed, pour avoir accepté d'évaluer notre travail et de prendre part à cette étape importante de notre parcours. Un merci particulier aux membres de Lafarge Algérie : Mm Hanane Besskri, Mr Zeroub Hamid, Mr Benabdelkader ARABI et FAREHA Karima, pour leur soutien technique, ainsi qu'à Mr Oumachiche Hakim et à Mr Zakaria TIGUEMOUNINE pour leurs conseils et leur aide précieuse.

Enfin, nous souhaitons exprimer notre gratitude à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce projet par leurs encouragements et leur soutien indéfectible.

Amina & Yousra

Dédicaces

À mes parents, dont l'amour inconditionnel, les sacrifices et la sagesse m'ont permis de réaliser ce projet. Votre soutien sans faille a toujours été ma plus grande source de force et d'inspiration.

À mon frère et mes sœurs, pour votre affection, vos encouragements constants et pour avoir toujours cru en moi.

À mon binôme Amina, avec qui j'ai partagé chaque étape de ce projet. Merci pour ta collaboration, ton engagement et ta complicité tout au long de cette aventure.

mes chères amies, pour votre amitié précieuse, votre écoute, et les moments de partage qui ont illuminé ce parcours.

Je vous dédie ce travail.

Yousra

Dédicaces

À mes parents, dont l'amour inconditionnel, les sacrifices et la sagesse m'ont permis de réaliser ce projet. Votre soutien sans faille a toujours été ma plus grande source de force et d'inspiration.

À mon frère et mes sœurs, pour votre affection, vos encouragements constants et pour avoir toujours cru en moi.

À mon binôme Amina, avec qui j'ai partagé chaque étape de ce projet. Merci pour ta collaboration, ton engagement et ta complicité tout au long de cette aventure.

mes chères amies, pour votre amitié précieuse, votre écoute, et les moments de partage qui ont illuminé ce parcours.

Je vous dédie ce travail.

Amina

Table des matières

Liste des tableaux

Table des figures

Liste des acronymes

Introduction générale	14
1 Introduction à la bio-cimentation	16
1.1 Introduction	16
1.2 La biominéralisation	16
1.3 La biocimentation	17
1.3.1 Précipitation de carbonate microbiquement induite (MICP) à l'aide de bactéries produisant de l'urée (UPB)	18
1.3.1.1 Le développement de l'activité enzymatique chez <i>S. pasteurii</i> (ATCC11859)	20
1.3.1.2 La production d'enzyme sous contraintes industrielles	21
1.3.2 Cimentation par des hydroxydes de fer à l'aide de bactéries réduisant le fer (IRB)	21
1.3.3 Cimentation hypothétique du sulfure ferreux à l'aide de bactéries sulfato-réductrices (SRB)	22
1.4 Biocolmatage	23
1.5 Bioremédiation	24
1.6 Facteurs affectant l'efficacité du traitement des précipitations de calcite	25
1.6.1 Température	25
1.6.2 Types de sols	25
1.6.3 Degré de saturation	26
1.6.4 Salinité de l'eau	27

1.6.5	Niveau de pH	27
1.6.6	Concentration de <i>Sporosarcina Pasteurii</i>	27
1.6.7	Concentration de chlorure d'ammonium NH ₄ Cl	28
1.6.8	Méthodes d'injection	29
1.6.8.1	Injection en continu	29
1.6.8.2	Injection en discontinu	30
1.6.8.3	Percolation	31
1.7	Conclusion	31
2	Méthodologie et protocoles analytiques	32
2.1	Introduction	32
2.2	liquide de fixation	33
2.2.1	Préparation des Bactéries	33
2.2.1.1	Hydratation et culture des bacteries	33
2.2.1.2	Identification des colonies des bactéries isolées	36
2.2.2	Préparation des bactéries à l'injection	37
2.2.2.1	Courbe de croissance	38
2.2.3	Extraction des bactéries	39
2.3	Liquide de cimentation	39
2.4	Propriétés des matériaux utilisés	40
2.4.1	Analyse par microscopie électronique à balayage associée à la microanalyse par énergie dispersive de rayons X (MEB-EDS)	40
2.4.2	Analyse granulométrique sélective :	41
2.4.3	Calcul de volume des vides	41
2.4.3.1	Calculs	42
2.4.4	Saturation des échantillons avec de l'eau saline	43
2.5	Injection des échantillons	44
2.5.1	système d'injection	44
2.5.2	Injection discontinue des échantillons	44
2.6	Séchage des échantillons	45
2.7	Analyses minéralogiques et physico-mécaniques des échantillons après la bio-solidification	46

2.7.1	Analyse Morphologique par Microscope Électronique à Balayage (MEB) .	46
2.7.2	Test de perméabilité	46
2.7.3	Test de Résistance à la compression	48
2.7.4	Diffraction des Rayons X (DRX)	48
2.8	Conclusion	49
3	Résultats et interprétations	50
3.1	Introduction	50
3.2	Caractérisation pré-traitement par MICP	50
3.2.1	La courbe de croissance de <i>S.Pasteurii</i> dans un milieu $NH_4 - YE$ à 25°C	50
3.2.2	Observation microscopique des bactéries après coloration Gram (x100) .	51
3.2.3	Microscopie électronique à balayage (MEB) associée à la spectroscopie par Énergie Dispersive de rayons X (EDS) de sable	52
3.2.4	Analyse granulométrique :	54
3.2.5	Test de perméabilité de sable pré-traité	55
3.2.6	Analyse Diffractométrie de rayons X (DRX) de sable pré-traité	55
3.3	Caractérisation durant le traitement MICP	56
3.3.1	Observation visuelle	56
3.3.2	Suivi de l'évaluation de PH du milieu lors le processus de MICP	57
3.4	Caractérisation post- traitement MICP et rendement des essais	58
3.4.1	Résultats visuelles	58
3.4.2	résultats minéralogiques	59
3.4.3	Résultats des essais physico-mécaniques	62
3.4.3.1	Résultats de l'essai de perméabilité	62
3.4.3.2	Résultats de l'essai de résistance à la compression	62
3.4.4	Comparaisons des résultats	63
3.5	Conclusion	64
	Conclusion générale	65
	Bibliographie	68

Liste des tableaux

1.1	Constante de réaction de premier ordre de l'hydrolyse de l'urée (k) selon la température	25
2.1	Composition du liquide de couli des boites de pétri	34
2.2	Composition du liquide de cimentation.	39
2.3	Tableau de Darcy	48
3.1	Résultats de l'analyse granulométrique	54
3.2	Résultats de l'analyse DRX de sable prétraité	56
3.3	Résultats de l'analyse DRX su sable traité	59
3.4	Tableau de comparaison des résultats avant et après traitement par biocalcification	63

Table des figures

1	Introduction à la bio-cimentation	16
1.1	Stromatolithes calcifiés de Shark Bay, en Australie	18
1.2	Comportement triaxial non drainé du sable bio-traité et non traité	20
1.3	Représentation graphique (a) du potentiel Redox (b) de la concentration en fer dans la culture de bactéries ferriréductrices	22
1.4	Échantillon traité par des bactéries réductrices de fer soumis à un poids	22
1.5	Hypothetical formation of Fe-S bonds between clay particles	23
1.6	Vue d'ensemble de la méthode de biocolmatage	24
1.7	Limitation du mouvement des bactéries selon la granulométrie du sol	26
1.8	Effet de la saturation sur la précipitation de calcite sur les particules de sol. À gauche, un échantillon traité à 100% de saturation. À droite, un échantillon traité à 20% de saturation.	27
1.9	Effet de la concentration de <i>Sporosarcina Pasteurii</i> sur la précipitation de calcite et la production d'ammonium	28
1.10	Effet du NH_4Cl sur le pH	29
1.11	Répartitions de la calcite selon la distance d'injection par technique d'injection continue	30
1.12	Temps d'hydrolyse de l'urée selon la concentration de l'urée par la <i>Sporosarcina Pasteurii</i>	30
1.13	Teneur en calcite d'un échantillon selon la profondeur par cimentation par percolation	31
2.1	Schéma illustrant les étapes de la méthodologie utilisée	32
2.2	Tube de stockage reçu contenant la souche DSM 33, étiquetée avec la date de préparation en janvier 2023.	33
2.3	(a) les composants de milieu de culture de la bactérie <i>Sporosarcina Pasteurii</i> , (b) l'incubateur FALC utilisé	34
2.4	l'hydratation de <i>Sporosarcina Pasteurii</i>	34

2.5	(a) : Incubateur Falc utilisé pour cultiver la bactérie <i>Sporosarcina Pasteurii</i> (b) : La croissance des SP après 48h d'incubation.	35
2.6	Démonstration de l'isolement par la méthode des quadrants	36
2.7	les colonies isolées de <i>Sporosarcina pasteurii</i> après 48h d'incubation	36
2.8	Préparation de frotti sur lame mince	37
2.9	(a) :Le frottis de la lame mince après coloration et séchage de 24h (b) : Vue de frotti de <i>Sporosarcina Pateurii</i> sous microscope (x100)	38
2.10	(a) :Augmentation de la densité optique après 48 heures d'agitation dans un bouillon $NH_4 - YE$ (b) Le spectrophotomètre utilisé(JENWAY 6705 UV/Vis).	38
2.11	(a) :les bactéries extraites après 20 min de centrifugation (b) :la centrifugeuse Sigma utilisée dans l'extraction de <i>Sporosarcina Pasteurii</i>	39
2.12	Le pycnomètre Prolabo utilisé pour mesurer le volume des vides	42
2.13	Transformation d'un distillateur en silice (a) en un système d'injection (b).	44
2.14	séchage à l'air libre de l'échantillon	45
2.15	Montage expérimental de la mesure de la perméabilité des échantillons	47
3.1	courbe de croissance de <i>sporosarcina pasteurii</i> dans un milieu $NH_4 - YE$ à 25°C	50
3.2	Vue microscopique de résultats obtenus à de la coloration de Gram x100	51
3.3	Observation par le MEB de l'échantillon de sable avant traitement par MICP	52
3.4	Résultats de l'analyse MEB-EDS de sable pré-traité	53
3.5	Spectre des résultats MEB-EDS	53
3.6	Analyse granulométrique de l'échantillon de sable	54
3.7	Diffractomètre de l'échantillon de sable avant traitement	56
3.8	La formation d'une croûte imperméable à partir de 4ème jour de l'injection	57
3.9	Variation du pH au cours des jours de l'injection	57
3.10	L'échantillon de sable après traitement	58
3.11	Diffractomètre échantillon de sable traité	59
3.12	a) Observation sous MEB de l'échantillon de sable après traitement par MICP b) Agrandissement de la zone entre deux particules de sable	60
3.13	Morphologies cristallines du $CaCO_3$. Les images de la calcite (a), de la vaterite (b), et de l'aragonite (c) ont été recueillies par microscopie électronique à balayage	61
3.14	résultats MEB-EDS après traitement par MICP	61
3.15	spectre des résultats MEB- EDS après traitement par MICP	61

Liste des acronymes

- **A.E.S** : Activité Enzymatique Spécifique
- **BCM** : Biologically Controlled Mineralisation
- **MIB** : Biologically Influenced Mineralisation
- **DO** : Densité Optique
- **DSR** : Dissimilatory sulfite Reductase
- **EDS** : Energy Dispersive Spectroscopy
- **DSMZ** : German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH
- **IRB** : Iron Reduction Bacteria
- **MICP** : Microbially Induced Calcite Precipitation
- **MEB** : Microscopie Électronique À Balayage
- **SED** : Secondary Electron Detector
- **S.Pasteurii** : Sporosarcina Pasteurii
- **SRB** : Sulfat Reduction Bacteria
- **UPB** : Urease Production Bacteria
- **UV/VIS** : Ultra Violet/Visible
- **YE** : Yeast Extract

Introduction générale

Dans le secteur de la construction, le ciment joue un rôle essentiel dans la fabrication du béton et des mortiers, constituant un matériau clé pour une multitude d'infrastructures. Traditionnellement, le ciment est principalement composé de clinker, un matériau obtenu par le chauffage d'un mélange de calcaire, d'argile et de sable à des températures pouvant atteindre 1450°C [1]. Ce processus, bien qu'efficace, présente des inconvénients considérables, notamment sur les plans économique et environnemental. Les inconvénients majeurs incluent la génération de déchets et les émissions massives de CO_2 . En effet, pour chaque kilogramme de ciment produit, on estime entre 0,65 kg et 0,92 kg de CO_2 émis dans l'atmosphère, ce qui représente environ 7% des émissions mondiales totales de dioxyde de carbone [2]. À cela s'ajoute une consommation énergétique élevée, illustrée par le fait qu'une cimenterie optimisée produisant annuellement 4000 tonnes consomme environ 244 GWh en énergie thermique et 220 GWh en énergie électrique [3].

Face à ces défis, la recherche de méthodes de production de ciment plus durables et respectueuses de l'environnement s'est intensifiée. Parmi les méthodes émergentes, l'utilisation de voies biologiques, et plus spécifiquement le processus de précipitation calcique induite microbiologiquement (MICP), offre une alternative prometteuse. Le MICP utilise des micro-organismes pour faciliter la formation de carbonate de calcium, également appelé calcite, qui peut être utilisé pour produire du ciment. Ce processus repose sur des bactéries spécifiques, telles que *Sporosarcina pasteurii*, capables de produire des enzymes et des protéines interagissant avec les ions calcium présents dans le mélange de départ. Lorsque ces bactéries et les ions calcium sont injectés dans un milieu sableux ou argileux, ils forment un matériau compact, fonctionnant de manière similaire au ciment traditionnel [4], [5].

L'utilisation des voies biologiques pour la fabrication du ciment présente plusieurs avantages par rapport aux méthodes conventionnelles. Premièrement, cette approche réduit la consommation d'énergie, car le processus MICP nécessite des températures beaucoup plus basses que celles utilisées pour la production de clinker. Cela permet non seulement de réduire les émissions de CO_2 mais aussi de valoriser des déchets organiques et inorganiques. Ces déchets peuvent être utilisés comme sources de nutriments pour les bactéries impliquées dans le MICP et comme sources de calcium, contribuant ainsi à la réduction des déchets et à la promotion d'une économie circulaire [6], [7].

L'objectif principal de cette recherche est d'explorer et d'optimiser le potentiel de la confection du ciment par des voies biologiques en utilisant le processus MICP. Cette étude vise tout d'abord à caractériser le processus de précipitation calcique induite microbiologiquement (MICP) dans le sable algérien. Cela implique d'étudier comment la bactérie *Sporosarcina pasteurii* précipite la calcite dans les sables algériens, en tenant compte des défis spécifiques posés par la composition minérale et les conditions environnementales locales [8]. Ensuite, elle cherche à développer un protocole de fabrication du ciment biologique adapté à une application industrielle à grande échelle. Cet objectif consiste à concevoir un processus optimisé qui soit économiquement viable et facilement intégrable aux infrastructures industrielles existantes en Algérie [4]. Enfin, l'étude se propose d'analyser la perméabilité et la résistance à la compression du ciment produit par

MICP dans des applications réelles, afin d'évaluer la durabilité, la résistance à la compression et le comportement à long terme du ciment MICP dans les infrastructures algériennes [9].

L'originalité de cette étude réside dans son approche novatrice, étant la première à explorer l'application du processus MICP en utilisant *Sporosarcina pasteurii* dans le contexte des sables algériens. Les sables locaux, avec leurs particularités en termes de composition minérale et de conditions climatiques, nécessitent une adaptation spécifique des méthodes MICP pour assurer une efficacité optimale [9]. En répondant à ces défis, cette recherche ouvre des perspectives inédites pour le développement durable dans le secteur de la construction en Algérie, offrant une solution innovante pour réduire l'empreinte écologique tout en répondant aux exigences des infrastructures modernes.

Ainsi, cette recherche se positionne à la croisée des préoccupations environnementales mondiales et des besoins spécifiques du secteur de la construction en Algérie, en proposant une alternative verte et économiquement viable au ciment traditionnel. Les résultats attendus pourraient significativement contribuer à la transition vers des pratiques de construction plus durables dans le pays et potentiellement dans d'autres régions aux conditions similaires.

Pour ce faire, le document présenté est réparti comme suit :

Chapitre 1 : Ce premier chapitre est consacré à une recherche bibliographique approfondie sur la fabrication du ciment par voie biologique. Nous y aborderons le processus de précipitation calcique induite microbiologiquement (MICP), en mettant en lumière les mécanismes biochimiques impliqués, les différentes bactéries utilisables, notamment *Sporosarcina pasteurii*, ainsi que les recherches antérieures sur l'application du MICP dans la fabrication du ciment.

Chapitre 2 : Ce deuxième chapitre détaillera l'ensemble de la méthodologie suivie pour cette recherche. Il couvrira les différentes étapes allant de la préparation des échantillons de sable, l'isolement et la culture des bactéries, à la mise en œuvre des essais de précipitation calcique induite microbiologiquement (MICP). La méthodologie sera décrite de manière à permettre la reproductibilité des expériences.

Chapitre 3 : Le dernier chapitre sera dédié aux méthodes de caractérisation des échantillons après traitement, avec un accent particulier sur la perméabilité et la résistance à la compression du ciment biologique produit. Il inclura également la présentation et la discussion des résultats obtenus.

Enfin, nous terminerons ce mémoire par les principales conclusions et quelques perspectives.

Chapitre 1

Introduction à la bio-cimentation

1.1 Introduction

Ce chapitre présente une revue bibliographique complète des différentes méthodes de fabrication du ciment par voies biologiques. Il explore non seulement le processus de précipitation calcique induite microbiologiquement (MICP), mais aussi d'autres approches innovantes. Les divers micro-organismes impliqués, dont *Sporosarcina pasteurii*, ainsi que les paramètres influençant ces procédés, sont également analysés. Cette synthèse des recherches antérieures met en évidence les défis, les opportunités, et les perspectives de ces technologies biologiques pour la fabrication durable du ciment.

1.2 La biominéralisation

La biominéralisation consiste en la transformation chimique d'un environnement par l'activité des micro-organismes, ce qui entraîne la formation de minéraux carbonates et phosphates. ce processus permet de réguler la composition, la taille, la morphologie et la structure des bio-minéraux, créant ainsi des matériaux complexes avec des structures bien définies et des propriétés distinctes qui se distinguent énormément des matériaux géologiques et dépassent les analogues synthétiques [10]. C'est une réalité naturelle qui se manifeste dans presque tous les êtres vivants, des procaryotes aux vertébrés supérieurs [11]. Il existe globalement trois types de mécanismes impliqués dans la synthèse de ces minéraux biologiques :

- La minéralisation contrôlée biologiquement (BCM) Biologically Controlled Mineralisation : implique la synthèse des minéraux, y compris leur croissance, leur morphologie, leur composition et de leur emplacement, qui ne se produit que dans certaines conditions, à un endroit précis à l'intérieur ou sur la cellule. Les structures minérales qui sont bien définies, par exemple les coquilles, les os, les otolithes de poisson et les dents, sont formées par ce processus, [12], [11], [13].
- Minéralisation sous influence biologique (MIB) Biologically Influenced Mineralisation : désigne la précipitation passive de minéraux accompagnés de matière organique à la surface des cellules, comme les substances polymériques extracellulaires qui sont communément associées aux biofilms [14], [12] .

- La minéralisation induite par la biologie (MIB) Biologically Induced Mineralization : est le processus par lequel l'activité biologique d'un organisme entraîne une modification de l'environnement conduisant à une sursaturation et à la précipitation de minéraux. Les caractéristiques des minéraux induits par ce processus sont les suivantes une large distribution de la taille des particules et un carbonate de calcium amorphe ou mal cristallisé [15], [13].

La nature regorge de bio-minéraux qui se manifestent sous la forme de fourmilières, de coquilles, de mollusques, de magnifiques coraux, de grottes, de dents, de roches et d'os. Ces derniers temps, des chercheurs à travers le monde ont mis l'accent sur ces bio-minéraux pour exploiter leurs utilisations techniques dans différents secteurs. Jusqu'à maintenant, on a découvert et documenté une soixantaine de bio-minéraux tels que la silice, le phosphate de calcium, la barytine, la magnétite et la fluorine. Les carbonates de calcium et les phosphates de calcium sont les familles les plus abondantes dans la nature [16].

1.3 La biocimentation

La bio-cimentation, également connue sous le nom de biogroutage ou biocalcification, fait référence à une technique d'éco-construction qui implique l'utilisation de micro-organismes producteurs de l'uréase, en combinaison avec l'urée et les ions calcium, pour induire la précipitation de carbonate de calcium dans des sols poreux.

L'utilisation de la bio-calcification dans le domaine des travaux est une nouvelle approche de recherche qui suscite de nombreuses études en Europe et à l'échelle internationale. Certaines bactéries, qui se trouvent dans l'environnement naturel, ont la capacité de précipiter divers éléments. Les minéraux sont principalement composés de carbonate de calcium. Depuis des centaines d'années, leur accumulation entraîne la création de concrétions calcaires sur des surfaces variées en fonction des conditions physico-chimiques actuelles.

La formation de stromatolithes à la surface des eaux salines en Australie est l'un des exemples les plus représentatifs et impressionnants dans ce domaine, mais il y a d'autres phénomènes similaires à travers le monde.

L'idée de l'amélioration des sols par biocalcification in situ est née en observant ces phénomènes, en se basant sur les réactions biogéochimiques naturelles. On a commencé les premières études en laboratoire en Australie, à l'université Murdoch [11], au début des années 2000. Cette université de Murdoch a identifié les micro-organismes présents naturellement dans les sols qui peuvent accélérer le processus de précipitation.



FIGURE 1.1 – Stromatolithes calcifiés de Shark Bay, en Australie (CLAIRE KÖNIG ,2016)

La biocimentation est de plus en plus utilisée pour améliorer la qualité des sols. De nombreux types de microbes sont capables de produire du biociment, par exemple les bactéries productrices d'uréase (UPB), les bactéries réductrices de fer (IRB), les bactéries nitrifiantes, les bactéries microaérophiles oligotrophes, les bactéries réductrices de sulfate (SRB) et les levures dimorphiques actives sur les phytases (qui pourraient produire des précipitations de phosphate de calcium) [17]. Jusqu'à présent, la méthode la plus largement reconnue et mise en œuvre consiste à induire une précipitation microbienne de la calcite à l'aide de bactéries productrices de l'uréase.

1.3.1 Précipitation de carbonate microbiquement induite (MICP) à l'aide de bactéries produisant de l'urée (UPB)

On appelle ce mécanisme la précipitation de calcite induite par les micro-organismes MICP (Microbiologically induced calcite precipitation) est un processus biologique utilisé pour renforcer ou améliorer les propriétés de divers sols ou sables. Il fait appel à des bactéries uréolytiques, en particulier *Sporosarcina pasteurii*, qui produisent des enzymes uréases qui décomposent l'urée, ce qui entraîne la précipitation du carbonate de calcium [18]. Cette réaction crée des liens solides entre les particules du sol, renforçant ainsi la résistance et la rigidité du sol de manière durable. La MICP est considérée comme une méthode écologique bénéfique pour un large éventail d'applications, telles que la consolidation des sols, la séparation des métaux lourds, le traitement des eaux usées et l'auto-réparation du béton, entre autres. Elle est privilégiée en raison de son faible coût, de son caractère écologique et de ses applications polyvalentes, indépendamment des conditions climatiques [19]. Les bactéries capables de précipiter la calcite (carbonate de calcium, $CaCO_3$) dans le processus de Microbially Induced Calcite Precipitation sont principalement des bactéries uréolytiques, qui produisent de l'uréase, une enzyme spécialisée dans la catalyse de la réaction de l'urée en carbonate. Les types de bactéries les plus couramment associés à la production de calcite dans MICP incluent :

- **Bacillus spp** : Un genre de bactéries qui comprend plusieurs espèces capables de produire de l'uréase et de précipiter le carbonate de calcium [20].
- **Desulfotomaculum spp** : Un genre de bactéries réductrices de sulfates qui peuvent égale-

ment jouer un rôle dans la production d'uréase et la précipitation de calcite [20].

• **Sporosarcina pasteurii** : pasteurii ATCC 11859 est une bactérie gram +, alcalinophile et uréolytique. Cette bactérie synthétise l'uréase de manière constitutive, avec une production pouvant atteindre 1 % de son poids sec. La présence d'ions ammonium est nécessaire pour la production d'ATP car elle possède une ATPase / NH_4^+ de type membranaire. *S. pasteurii* fait partie des micro-organismes capables de précipiter le carbonate de calcium sous la forme de cristaux de calcite. Cette précipitation se réalise grâce à l'hydrolyse de l'urée, ce qui lui a valu d'être impliqué dans de nombreuses applications telles que la bio séquestration avec une copré-
cipitation du strontium ou la bio cimentation. De plus, l'uréase produite par **Sporosarcina Pasteurii** sert également sous sa forme purifiée au renforcement d'un sol poreux (CIPS) [20].

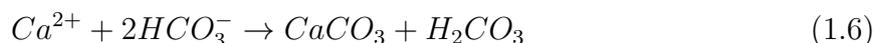
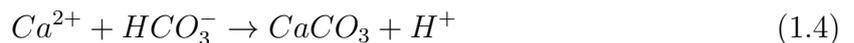
La sélection des bactéries pour un projet MICP spécifique dépendra de divers facteurs, tels que la taille des cristaux souhaitée, la forme, la biochimie du $CaCO_3$, et les conditions environnementales du site d'application. Les bactéries utilisées doivent être non pathogènes, efficaces dans l'hydrolyse de l'urée et capables de précipiter de manière homogène la calcite à travers le substrat pour s'assurer que le processus MICP est sûr et efficace.

Le métabolisme impliqué dans Précipitation de carbonate microbiquement induite MICP est basé principalement sur l'activité des bactéries uréolytiques comme *Sporosarcina pasteurii*. Ces bactéries possèdent une enzyme appelée uréase, qui catalyse la décomposition de l'urée en ammonium (NH_4^+) et carbonate (CO_3^{2-}). Voici les étapes clé du processus métabolique de MICP [20] :

1. Les bactéries uréolytiques consomment de l'urée, qui peut être trouvée naturellement ou ajoutée au milieu comme partie du processus de traitement MICP.
2. L'uréase, présente chez les bactéries, catalyse la réaction de l'urée en ammonium et en ions carbonate. Selon les réactions suivantes :



3. Les réactions de l'urée conduit à une augmentation du pH local.
4. Les ions carbonate réagissent ensuite avec les ions calcium présents dans l'environnement, souvent ajoutés sous forme de sels de calcium (comme le chlorure de calcium).
5. La précipitation du carbonate de calcium se produit et cette matière inorganique contribue à cimenter les particules de sol ou de sable ensemble, ce qui améliore les propriétés mécaniques du substrat traité. Ce processus de précipitation résulte de trois réactions principales :



Ces réactions métaboliques contribuent à l'amélioration de la cohésion et de la résistance mécanique du milieu traité, rendant la technologie MICP prometteuse pour des applications en ingénierie géotechnique et civile comme le renforcement et la stabilisation du sol, de par sa durabilité, son efficacité et son caractère respectueux de l'environnement [16].

Dans le domaine de l'ingénierie civile, la bio-cimentation présente de nombreuses applications potentielles, comme l'amélioration de la stabilité des pentes et des barrages, la réduction du potentiel de liquéfaction du sol, la construction de routes, la prévention de l'érosion des sols et la réparation des fissures dans le béton. Elle peut également être utilisée pour former une croûte imperméable à la surface d'une couche de sable, ce qui est utile pour la construction de bassins aquacoles dans le sable, la stabilisation des dunes de sable, la fixation des poussières dans les zones désertiques, et l'étanchéification des canaux et des réservoirs dans les sols sablonneux [21].

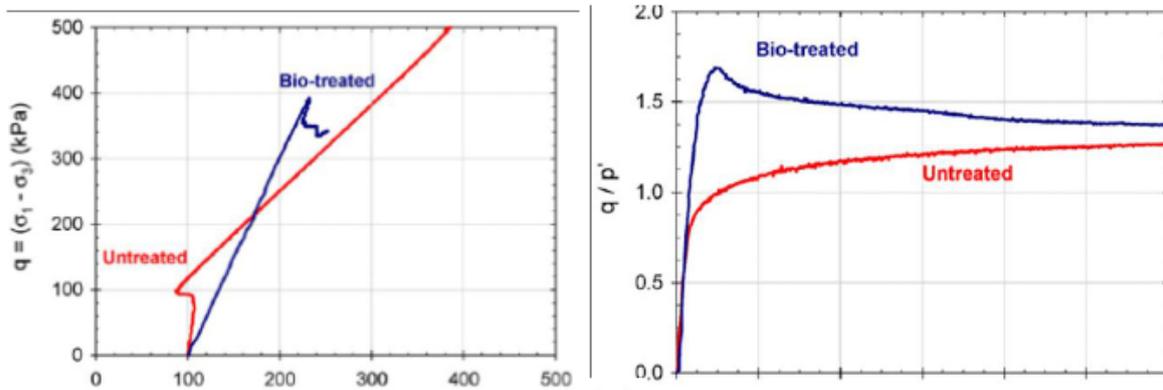


FIGURE 1.2 – Comportement triaxial non drainé du sable bio-traité et non traité [22]

1.3.1.1 Le développement de l'activité enzymatique chez *S. pasteurii* (ATCC11859)

La synthèse de l'uréase n'est pas constitutive pour la souche ATCC11859, comme l'a démontré la réalisation de nombreuses cultures en série. Toutefois, l'activité enzymatique (A.E.) fluctue entre 5 et 55 mm d'urée hydrolysée par minute (300 à 3300 mg/L par minute). La concentration cellulaire optimale est atteinte lorsque la culture présente une concentration cellulaire avec une D.O. Cellulaire comprise entre 1 et 2,5 unités. En outre, les niveaux d'activité enzymatique les plus bas obtenus sont liés à des biomasses élevées [20].

L'activité enzymatique spécifique (A.E.S.) atteint son maximum pendant la phase pré-exponentielle, c'est-à-dire environ 8 heures de culture à pH 9 et à 30°C. Il est possible que l'A.E.S. atteigne jusqu'à 7,1 mM d'urée hydrolysée/min. En revanche, l'activité enzymatique continue de croître tout au long de la culture, atteignant 121 mM d'urée hydrolysée par minute. En trois heures, la production d'enzymes peut doubler, puis diminuer assez rapidement. On explique cette baisse de l'A.E.S. par la présence d'ions NH_4^+ , CO_3^{2-} ou OH^- .

Cependant, des expériences complémentaires initiales ont démontré que ni les carbonates ni l'urée ne semblent être à l'origine de cela. Une deuxième méthode s'est efforcée d'identifier le rôle du pH et des ammoniums. Il a été démontré par cette méthode qu'une baisse du pH, de 9 à 7, c'est-à-dire en dessous des conditions optimales, ne suscite pas de stimulation de l'activité enzymatique spécifique. Ainsi, une augmentation du pH de 8 à 9,25 a entraîné une augmentation de la biomasse, mais pas une augmentation de l'A.E.S [20].

S. pasteurii se distingue par une grande fluctuation des taux de synthèse de l'uréase. Il est possible que ces différences atteignent un facteur dix entre chaque culture. Il y a eu des essais de restauration de l'AES à partir de 3 inocula avec des niveaux d'AES variés (faible, élevé, banque souche). Ces inocula ont été mis en culture dans les mêmes conditions. Les milieux ayant des activités moyennes ont été obtenus uniquement par des inocula ayant des activités enzymatiques élevées. Cela démontre que le passé des cellules a un impact significatif sur le futur de l'activité enzymatique lorsqu'elles sont transférées dans un environnement nouveau. De

même, les repiquages successifs dans divers milieux de culture de bactéries ayant peu ou pas d'A.E.S n'ont pas non plus permis de rétablir les activités enzymatiques spécifiques, ce qui a même aggravé la situation. D'autres approches comme une réduction du pH (7.5) avec l'ajout de nutriments n'ont pas non plus été satisfaisantes. Ainsi, une fois que l'activité enzymatique diminue ou perd, il semble impossible de la restaurer. Seul un seul repiquage dans une solution neuve a permis de maintenir l'activité enzymatique. Selon l'auteur, il est possible que des éléments perturbateurs provenant du métabolisme, tels que l'ammonium. Cependant, cela n'explique pas tout, en particulier que des cultures qui ont une activité intense connaissent des baisses de production si importantes après le repiquage. On confirme cette observation lorsqu'il s'agit de cultures en continu. Selon l'auteur, les activités enzymatiques ne se sont pas maintenues dans cette situation, ce qui s'expliquerait à la fois par des facteurs environnementaux et physiologiques [20].

1.3.1.2 La production d'enzyme sous contraintes industrielles

L'industrialisation d'un processus nécessite une croissance des quantités de biomasse produites. Il existe trois facteurs qui jouent un rôle crucial dans sa réussite : le coût de la main-d'œuvre, le coût du milieu de culture et le coût du produit final. À mesure que les volumes augmentent, les dépenses liées au produit fini et à la main-d'œuvre diminuent. En revanche, celui de l'environnement culturel augmente. Il est donc envisageable d'obtenir des A.E. (activité enzymatique) de plus de 100mm d'urée hydrolysée/min après 96 heures, mais en fournissant une concentration d'extrait de levure de 100 g/L dans le milieu producteur de biomasse. Il est donc nécessaire d'utiliser un milieu alternatif contenant une autre source de carbone. Pour cela, différentes sources de protéines ont été testées, dont l'une a été retenue pour son très faible coût et sa compétence pour la production d'enzyme. Ce produit appelé Végémite est également à base d'extrait de levure. Pour avoir une quantité de protéines équivalente à celle présente dans 1 g d'extrait de levure (Y.E.), il faut fournir 4.5 g de Végémite [20].

1.3.2 Cimentation par des hydroxydes de fer à l'aide de bactéries réduisant le fer (IRB)

La production de ferrihydrite dans les pores est un autre exemple de cimentation naturelle du sable. Le sol des plantes des zones humides contient une cimentation biologique de l'hydroxyde de fer, qui se produit lorsque les bactéries réduisant le fer créent du Fe^{2+} et que les racines libèrent de l'oxygène. L'hydroxyde de fer précipite naturellement dans les endroits où il y a du Fe^{2+} , un pH élevé et un potentiel d'oxydoréduction, ce qui donne lieu à des concrétions cimentées. L'hydroxyde de fer, en fonction de sa cristallisation, peut également être un agent cimentaire efficace pour le sol. Lorsqu'il est exposé à des traces d'oxygène, le $Fe(OH)_2$ devient presque blanc avec une teinte verdâtre. Une exposition prolongée à l'oxygène réduit le fer en $Fe(OH)_3$, ce qui lui donne une couleur brun rougeâtre typique [23].

L'agrégation des hydroxydes de fer dépend de plusieurs facteurs, notamment le pH, la taille des cristaux, le processus de formation, la composition ionique du sol et la présence de molécules organiques. Les hydroxydes de fer naturels sont généralement faiblement cristallins en raison des basses températures et des impuretés. Les cristaux générés manuellement sont souvent bien cristallisés. Les petits cristaux d'hydroxydes de fer ont une surface plus grande et plus réactive, ce qui entraîne une plus grande agrégation [23].

Chu et al dans [24] ont proposé l'utilisation le fer dissous du minerai de fer broyé, produit par

des bactéries réduisant le fer, pour la biocimentation. La réaction suivante produit le processus de réduction du fer, qui est essentiel au cycle naturel du fer [24] :



La précipitation de l'hydroxyde de fer s'est produite dans un environnement à pH élevé. Des bactéries réduisant le fer (IRB) ont été cultivées à l'aide de boues anaérobies provenant d'une station d'épuration des eaux et de glucose. Les figures 1.3a et 1.3b illustrent le potentiel d'oxydo-réduction (ORP) et les concentrations ferreuses déterminées pendant la culture des bactéries. Au fur et à mesure que le potentiel d'oxydo-réduction diminue, le potentiel de réduction augmente et le ferrique est constamment réduit en ferreux (figure 1.3b). La figure 1.4 montre un échantillon de sable cylindrique traité avec des micro-organismes réduisant le fer. Il peut supporter un poids plus élevé que le sable pur, qui ne peut même pas supporter son propre poids. Cette approche peut également fonctionner dans l'argile en raison de la capacité de l'IRB à se développer sans oxygène.

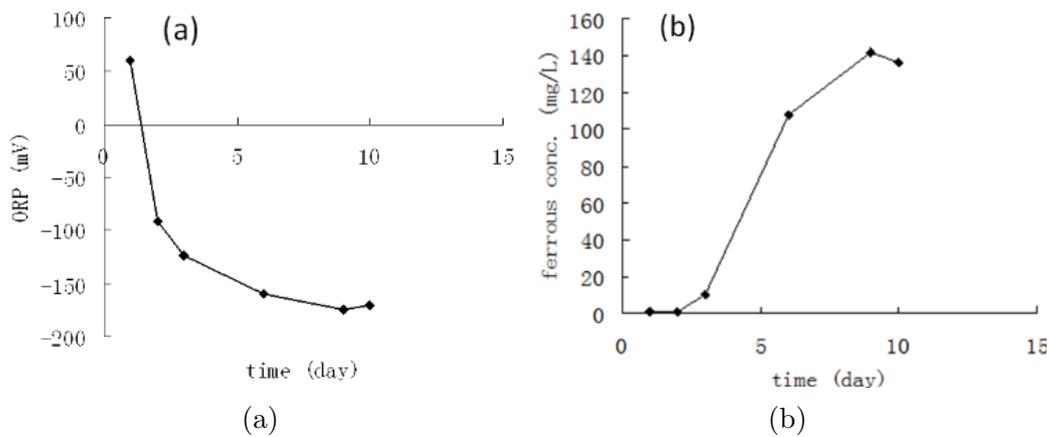


FIGURE 1.3 – Représentation graphique (a) du potentiel Redox (b) de la concentration en fer dans la culture de bactéries ferriréductrices [24].

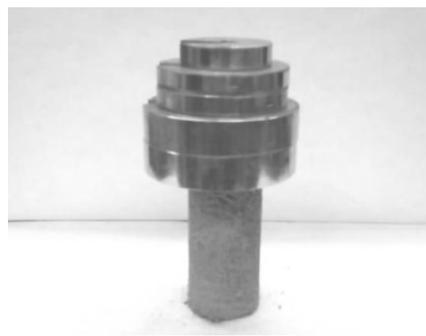


FIGURE 1.4 – Échantillon traité par des bactéries réductrices de fer soumis à un poids [24].

1.3.3 Cimentation hypothétique du sulfure ferreux à l'aide de bactéries sulfato-réductrices (SRB)

Une autre hypothèse de travail fournie par Ivanov (données non publiées) pour la biocimentation dans l'argile est la formation de ponts disulfures forts à l'intérieur des particules d'argile immergées dans du Fe^{3+} et du S^{2-} . Comme le montre la figure 1.5, le cation ferrique peut agir

comme une ouverture de liaison pour les liaisons S-S, ce qui entraîne la formation de liaisons Fe-S-S-Fe entre les particules d'argile et d'un complexe de liaisons argile-Fe-S-S-Fe-argile.

La longueur de la chaîne de la liaison S-S varie en fonction de la forme et de la taille du colloïde. Les liaisons disulfures fortes (énergie de dissociation des liaisons de 250 kJ/mole) peuvent fonctionner comme des réticulations, affectant de manière significative la rhéologie de l'argile. Il en résulte une résistance à la compression supérieure à celle de l'argile à la même teneur en eau. Les oxydants comme le peroxyde d'hydrogène peuvent favoriser la formation de liaisons disulfures via des intermédiaires d'acide sulfénique [25].

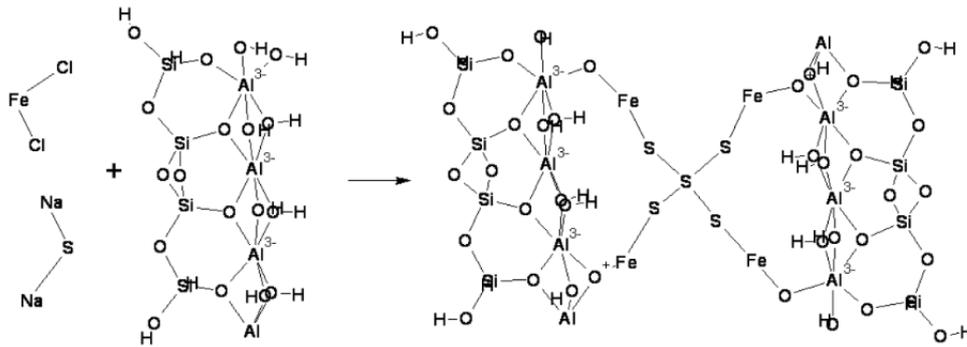


FIGURE 1.5 – Hypothetical formation of Fe-S bonds between clay particles [23].

Les bactéries sulfato-réductrices (SRB) peuvent établir des liaisons Fe-S solides en produisant des ions S²⁻ qui se lient aux ions Fe²⁺. La concentration de sulfate dans l'argile marine de Singapour varie généralement entre 0,92% et 1,7% en poids. La réduction du sulfate en sulfure implique huit électrons et de nombreux intermédiaires. Le sulfate est activé par l'ATP, ce qui entraîne la production d'adénosine phosphosulfate. L'APS est réduit en sulfite par l'APS réductase, qui est ensuite converti en sulfure par la sulfite réductase dissimilatrice (DSR) [26].

De nombreuses bactéries peuvent utiliser le sulfate comme accepteur terminal d'électrons. La recherche a révélé d'énormes variations morphologiques, écologiques, nutritionnelles et métaboliques au sein des SRB. Les cellules SRB peuvent présenter diverses morphologies, notamment des cocci, des bâtonnets, des types incurvés, des agrégations cellulaires et des filaments multicellulaires [26]. La majorité des SRB sont strictement anaérobies, mais certaines espèces peuvent tolérer une exposition à l'oxygène pendant des heures. Les SRB peuvent vivre dans des situations où les températures et les niveaux de pH varient [27].

1.4 Biocolmatage

En ingénierie géotechnique, le terme "méthode de colmatage" fait référence au processus de régulation de la conductivité hydraulique du sol en tassant les coulis dans les espaces du sol [28]. Pour cette procédure, l'injection chimique a souvent été utilisée. Des micro-organismes appropriés peuvent également être utilisés dans le même but en produisant de la bave dans le sol (également appelé biofilm), en piégeant le gaz, la croissance microbienne et l'accumulation de corps cellulaires, les sulfures inorganiques non dissous/les matières carbonatées/ferreuses, ou la production de bave [29]; [30]; [31]; [32]; [33]; [34].

La figure 1.6 donne un aperçu de la méthode de colmatage biologique, y compris la sélection du groupe de micro-organismes, le mécanisme de colmatage, les conditions requises pour le

colmatage biologique et les applications potentielles dans l'ingénierie géotechnique [31]. Le biocolmatage peut être largement utilisé pour gérer les fuites dans le réservoir/système de drainage, préserver la pente (en réduisant l'effet des tuyaux), empêcher la migration de l'arsenic/des substances organiques, etc. et réparer les imperfections de surface dans les matériaux à base de ciment. Les avantages et les contraintes mentionnés pour la biocimentation ont également des conséquences pour le bioclogging. Une autre préoccupation est que l'augmentation des clôtures a un impact sur le transfert des nutriments et des métabolites microbiens ; il est possible d'inhiber la croissance des micro-organismes et d'empêcher le bioclogging [31].

Groupe physiologique de microorganismes	Mécanisme de biocolmatage	Conditions essentielles pour le biocolmatage	Applications géotechniques potentielles
Algues et cyanobactéries	Formation d'une couche imperméable de biomasse	Pénétration de la lumière et présence de nutriments	Réduction de l'infiltration d'eau dans les pentes et contrôle des infiltrations
Bactéries aérobies et anaérobies facultatives productrices de boues	Production de boue dans le sol	Présence d'oxygène et milieu avec un rapport C : N > 20	Éviter la couverture pour le contrôle de l'érosion du sol et la protection des pentes
Bactéries micro-aérophiles oligotrophes	Production de boue dans le sol	Faible concentration d'oxygène et milieu avec une faible concentration de source de carbone	Réduire l'érosion des canaux de drainage et contrôler les infiltrations
Bactéries nitrifiantes	Production de boue dans le sol	Présence d'ammonium et d'oxygène dans le sol	Réduire l'érosion des canaux de drainage
Bactéries sulfato-réductrices	Production de sulfures métalliques non dissous	Conditions anaérobies : présence de sulfate et de source de carbone dans le sol	Former des rideaux d'injection pour réduire la migration des métaux lourds et des polluants organiques
Bactéries ammonifiantes	Formation de carbonates métalliques non dissous dans le sol en raison de l'augmentation du pH et de la libération de CO ₂	Présence d'urée et de sel métallique dissous	Prévenir le renard hydraulique des barrages en terre et des digues
Bactéries ferri-réductrices	Production de solution ferreuse et précipitation de sels ferreux et ferriques non dissous et d'hydroxydes dans le sol	Conditions anaérobies ; changement pour des conditions aérobies ; présence de minéraux ferriques	Prévenir le renard hydraulique des barrages en terre et des digues

FIGURE 1.6 – Vue d'ensemble de la méthode de biocolmatage [31]

1.5 Bioremédiation

Comparée à la biocimentation et à la biocolmatage, l'utilisation de micro-organismes dans l'ingénierie géo-environnementale a une histoire beaucoup plus longue et un marché plus vaste. Les microbes sont utilisés pour éliminer les polluants indésirables du sol et de l'eau parce que leur métabolisme est conçu pour décomposer des molécules complexes en molécules plus simples comme le dioxyde de carbone et l'eau. La biorestauration est le terme utilisé pour désigner ce processus [28]. La transformation microbienne est une technique utile pour éliminer les principaux polluants inorganiques, tels que les métaux lourds, l'azote et le phosphore. Selon Mohammed et [35], l'utilisation la plus connue de la biorestauration à l'heure actuelle est le nettoyage des marées noires.

La bioremédiation peut être réalisée ex situ ou in situ dans la réalité. Comme les dépôts naturels

de sol ont des caractéristiques imprévisibles, le traitement in situ permet de traiter les sols sans excavation, mais il nécessite plus d'efforts et un suivi attentif. La biorestauration microbienne améliorée, la bioventilation et la phytoremédiation sont quelques exemples de traitement in situ. La thérapie ex situ est plus coûteuse, mais la période de traitement est plus courte et les procédures de traitement sont plus contrôlables. L'enfouissement, le biopiling, le compostage et les bioréacteurs à boues sont quelques exemples de traitement ex situ [36].

1.6 Facteurs affectant l'efficacité du traitement des précipitations de calcite

Afin d'obtenir une précipitation optimale de calcite, il est nécessaire de comprendre et de maîtriser tous les éléments qui peuvent avoir un impact sur les réactions biochimiques. Dans cette partie, nous examinerons les éléments externes à la technique, comme la température et la taille des particules.

1.6.1 Température

Le comportement de la bactérie est fortement influencé par la température. *Sporosarcina Pasteurii* hydrolyse l'urée à une vitesse de 10 fois plus rapide à 20°C par rapport à 10°C. Ainsi, le pH augmente beaucoup plus lentement, ce qui prolonge la durée d'attente entre deux injections de liquide de cimentation [37]. Les cinétiques de l'hydrolyse de premier ordre, représentées par la constante de réaction k , sont présentées dans le tableau ci-dessous pour des températures de 10°C, 15°C et 20°C :

TABLE 1.1 – Constante de réaction de premier ordre de l'hydrolyse de l'urée (k) selon la température [37]

Température (°C)	k hydrolyse
10	0.09
15	0.18
20	0.91

1.6.2 Types de sols

L'efficacité du MICP est influencée par divers facteurs tels que la granulométrie, la composition du sol, la forme des grains et leur taille. D'abord, la technique est restreinte en raison de la taille des particules. En moyenne, la taille de *Sporosarcina Pasteurii* varie de 1,3 à 4,0 μm . Ainsi, afin de maintenir une mobilité optimale de la bactérie, il est déconseillé de traiter des sols plus fins qu'un silt, c'est-à-dire d'une granulométrie inférieure à 6,0 μm [38].

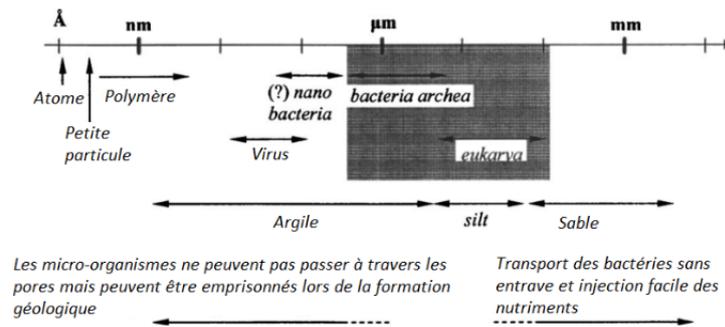


FIGURE 1.7 – Limitation du mouvement des bactéries selon la granulométrie du sol [38].

La précipitation est peu influencée par la composition du sol [39]. Un sol qui est naturellement constitué de carbonates pourrait être plus susceptible d'être biocalcifié. Toutefois, les recherches ont prouvé que cette méthode peut être utilisée sur une grande diversité de minéraux de sables, comme la calcite, les oxydes de fer, les feldspaths ou les silices [40].

1.6.3 Degré de saturation

L'efficacité du traitement est grandement influencée par le niveau de saturation du sol avant l'injection. Quand le sol n'est pas saturé, il est possible que l'eau se colle sur la paroi des grains en raison de la tension capillaire. L'eau qui enveloppe le grain pousse les bactéries à se déplacer vers les surfaces. Ainsi, lors de l'hydrolyse de l'urée par les bactéries, la plupart des précipitations se produiront à la surface et à l'intersection des grains, ce qui permet d'optimiser considérablement la localisation des dépôts de calcite [41].

Les illustrations suivantes réalisées montrent l'impact de la saturation sur les dépôts de calcite. Quand on atteint 100 % de saturation (voir figures de gauche), la répartition de la précipitation est moins homogène et plusieurs dépôts se produisent sur la surface plutôt que sur les contacts. Quand la saturation est seulement de 20 %, la quantité de précipitation est plus uniforme sur la surface des grains et les contacts entre les grains sont très solides [41].

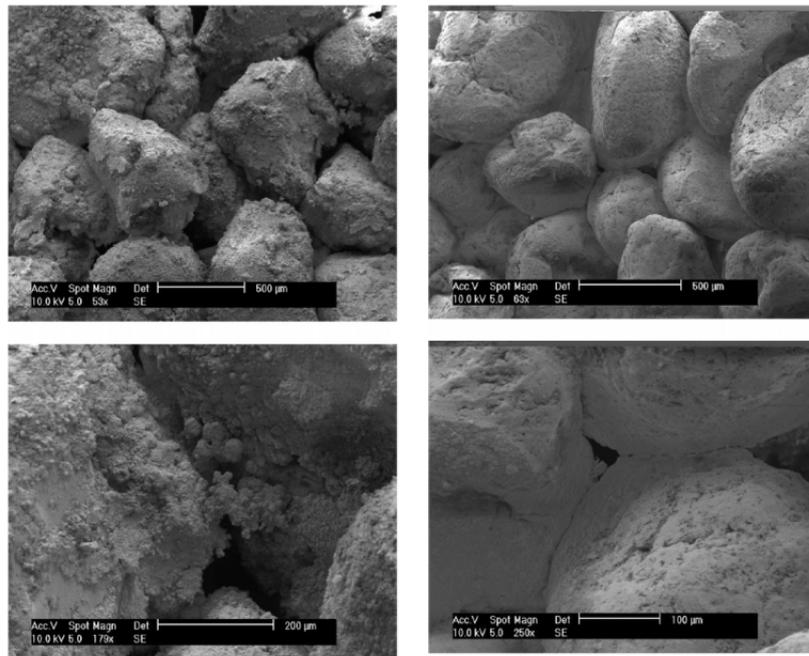


FIGURE 1.8 – Effet de la saturation sur la précipitation de calcite sur les particules de sol [41]. À gauche, un échantillon traité à 100% de saturation. À droite, un échantillon traité à 20% de saturation.

1.6.4 Salinité de l'eau

Les études de DeJong et al,2011 [39] montrent que la précipitation est favorisée lorsque le sol est préalablement saturé avec de l'eau salée. Les essais ont ainsi montré que la précipitation double lorsque le sol est saturé par une eau interstitielle saline. En effet, dans un milieu salin, la présence d'une forte alcalinité et des ions HCO_3^- favorise l'augmentation du pH et la précipitation de la calcite.

1.6.5 Niveau de pH

Le pH des sols varie généralement entre 4 et 10. Cette variation dépend de plusieurs paramètres comme la composition minéralogique du sol, le type de précipitation dans la région (ex : pluie acide) et l'existence des polluants acides ou basiques dans le sol. Par conséquent, l'étude de l'influence de l'acidité des sols est indispensable pour des applications in-situ de la technique de bio-cimentation. D'après des études réalisées sur cet aspect, le pH du sol ou du milieu peut affecter différemment [42]; [22]; [43] :

1. la croissance et l'activité enzymatique des bactéries.
2. les propriétés de transport et d'adhésion des bactéries.
3. la cristallisation du carbonate de calcium.

1.6.6 Concentration de *Sporosarcina Pasteurii*

La présence de *Sporosarcina pasteurii* a un impact sur la quantité de CaCO_3 qui se précipite. Une concentration critique de bactéries est identifiée, au-delà de laquelle l'efficacité de la méthode diminue (voir figure 1.9). À partir d'une concentration de 108 cellules par millilitre,

il y a une concentration excessive de bactéries pour la quantité d'urée et de carbone présente dans le lait nutritif. Par conséquent, elles passent en phase latente pour survivre et réduisent leur hydrolyse d'urée [42].

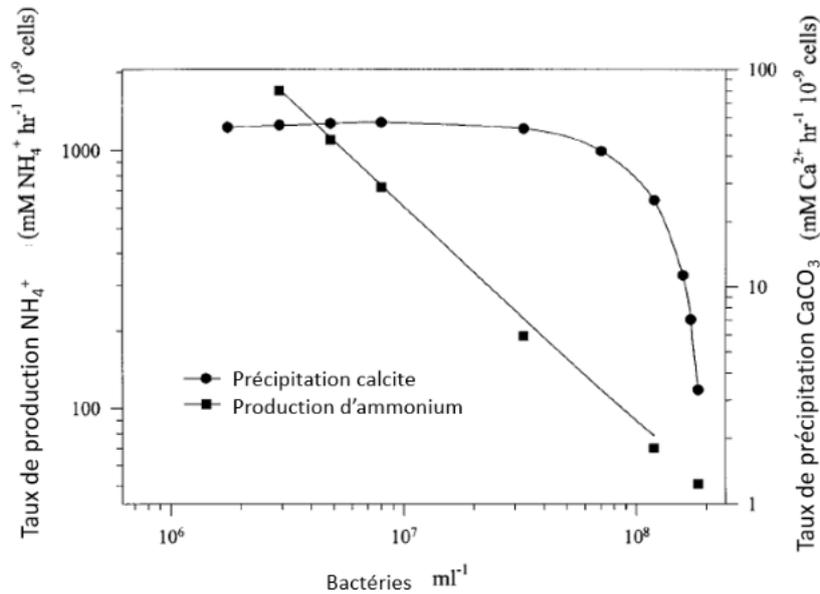
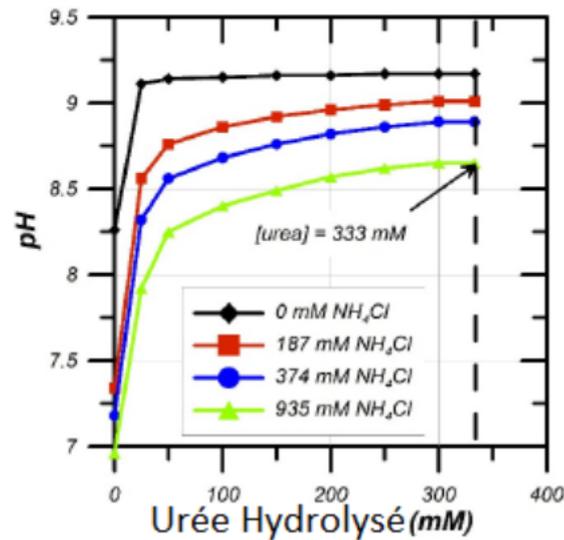


FIGURE 1.9 – Effet de la concentration de *Sporosarcina Pasteurii* sur la précipitation de calcite et la production d'ammonium [42]

Les protocoles établis par Martinez dans [44] et Ozdogan dans [45], fixent la concentration à 0.8 – 1.0 de densité optique à $600\mu\text{m}$ pour une concentration optimum de *Sporosarcina Pasteurii*.

1.6.7 Concentration de chlorure d'ammonium NH_4Cl

L'augmentation du pH est fortement influencée par la concentration de NH_4Cl dans la solution de cimentation. Après la dissociation du NH_4Cl , il se décompose en deux ions : NH_4^+ et OH^- . Donc, lors de l'hydrolyse de l'urée par *Sporosarcina Pasteurii*, les ions OH^- libérés par l'hydrolyse des résidus d'ammonium se lient aux ions libres NH_4^+ , ce qui restreint l'augmentation du pH. Il a été étudié comment la concentration de NH_4Cl influence le pH à l'intérieur d'un échantillon. Les résultats ont démontré que la diminution du pH pour une même quantité d'urée hydrolysée est due à l'augmentation de la concentration de NH_4Cl [39] (voir figure 1.10).

FIGURE 1.10 – Effet du NH_4Cl sur le pH [39]

Donc, il peut être intéressant d'avoir une concentration élevée de NH_4Cl si l'on veut étendre la portée de l'injection en réduisant le colmatage à l'entrée dans le sol. De cette manière, en diminuant le pH, les précipitations seront plus uniformes dans le sol, mais il faudra un volume de liquide de cimentation plus important.

1.6.8 Méthodes d'injection

Différentes méthodes ont été élaborées pour introduire les bactéries et les liquides de cimentation dans le sol, principalement en fonction du niveau de saturation du sol [46]. Deux méthodes ont été mises au point pour traiter les sols saturés : l'injection continue ou discontinue de la solution de cimentation. Pour les sols partiellement saturés, il est préférable d'injecter la solution de cimentation par percolation dans le sol non saturé.

1.6.8.1 Injection en continu

Dans les études sur la biocalcification, cette méthode a été utilisée pour la première fois. Elle implique principalement l'injection du liquide de cimentation à faible débit à l'intérieur de l'échantillon. Lors du traitement, il est recommandé d'utiliser un gradient hydraulique de 0,45 afin d'éviter le lessivage des bactéries [46]. Toutefois, il a été constaté une forte quantité de précipitations à l'entrée, dans le premier quart de l'échantillon, puis une faible quantité de précipitations dans les zones plus éloignées [46] ; [22] (voir figure 1.11).

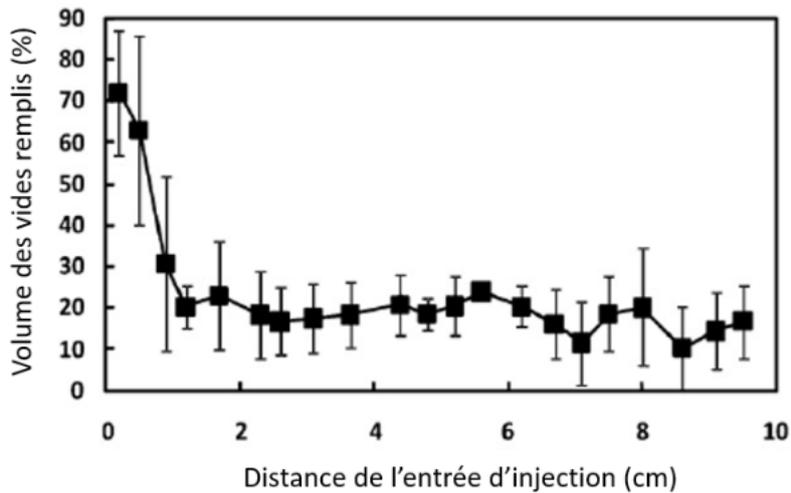


FIGURE 1.11 – Répartitions de la calcite selon la distance d'injection par technique d'injection continue [46]

Du fait de l'injection du liquide de cimentation se faire lentement, les bactéries à la base hydrolysent une grande partie de l'urée introduite dans le sol, ce qui concentre la précipitation dans les premiers centimètres de l'échantillon [46].

1.6.8.2 Injection en discontinu

Pour résoudre le problème de forte précipitation lié à l'injection en continu, une autre méthode a été élaborée. Grâce à cette méthode, le liquide de cimentation est injecté par pulsations à un débit plus élevé pour uniformiser les concentrations d'urée et de Ca^{2+} dans le sol. Selon les tests in-situ effectués par Whiffin dans [18], il a été prouvé que l'hydrolyse de l'urée se produit en seulement 6 heures (voir figure 1.12). Par conséquent, les injections se font dans ce délai pour maximiser l'efficacité enzymatique .

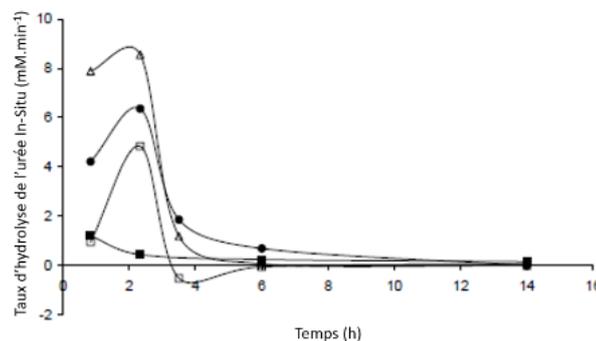


FIGURE 1.12 – Temps d'hydrolyse de l'urée selon la concentration de l'urée par la *Sporosarcina Pasteurii* [18]

L'analyse comparative menée par Tobler et al, 2011 [46] ont prouvé que cette méthode d'injection génère des échantillons plus uniformes. Toutefois, étant donné que les injections sont effectuées à un débit élevé, il est possible de lessiver les bactéries au point d'injection, ce qui entraîne une diminution de la précipitation localement [22]; [47].

1.6.8.3 Percolation

Cette méthode implique de faire percoler les liquides biologiques et de cimenter par gravité. Les sols partiellement saturés à totalement saturés peuvent être traités par percolation sans avoir recours à des forages d'injection [48]. Cheng et Cord-Ruwisch [48] ont commencé leur étude en 2012 en traitant des couches de sols légèrement compactées par percolation. À chaque étape, les auteurs ont d'abord laissé les bactéries se développer dans le sol, puis ils ont versé le liquide de cimentation.

Selon les auteurs, l'épaisseur de la couche a un impact significatif sur la profondeur des précipitations. Lorsque les couches sont trop fines, elles seront recouvertes par les couches supérieures, ce qui empêchera la diffusion de l'urée dans les couches plus basses. D'après les tests effectués sur une colonne de 1 mètre, il a été observé une hausse graduelle de la précipitation en fonction de la profondeur (figure 1.13).

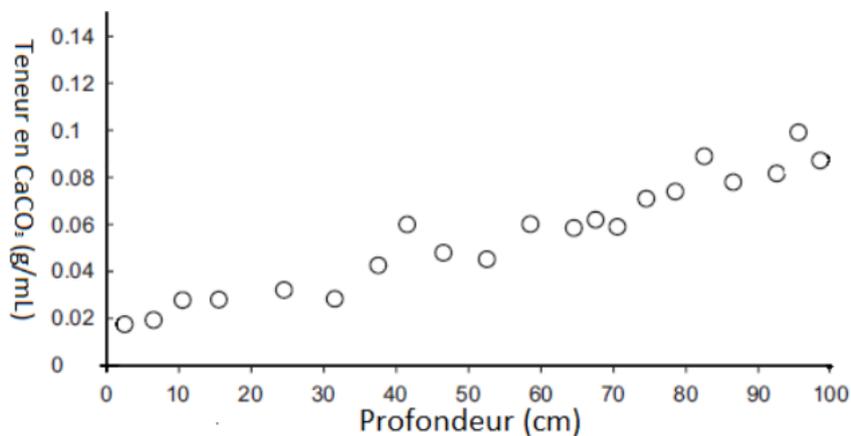


FIGURE 1.13 – Teneur en calcite d'un échantillon selon la profondeur par cimentation par percolation [48]

1.7 Conclusion

En résumé, ce premier chapitre a permis de dresser un panorama exhaustif des méthodes biologiques de fabrication du ciment, en explorant les différents processus et micro-organismes impliqués, notamment le MICP et ses variantes. Les recherches antérieures montrent que ces approches offrent un potentiel prometteur pour réduire l'impact environnemental de la production de ciment traditionnel. Cependant, plusieurs défis techniques et scientifiques doivent encore être relevés, notamment l'optimisation des paramètres influençant ces processus biologiques. Les perspectives d'avenir pour la fabrication de ciment par voie biologique sont encourageantes, ouvrant la voie à des solutions plus durables et écologiques dans l'industrie de la construction.

Chapitre 2

Méthodologie et protocoles analytiques

2.1 Introduction

Ce chapitre met en évidence les matériaux et les méthodes utilisés dans cette étude de confection du ciment par un procédé biologique, en commençant par la préparation de l'espèce bactérienne *Sporosarcina pasteurii* que nous avons utilisée pour les besoins de cette étude et que nous avons développé dans la section 2.2. Ensuite, nous avons décrit la préparation du liquide de fixation et du liquide de cimentation, respectivement dans les sections 2.3 et 2.4. Leur injection ainsi que les matériaux concernés ont été détaillés dans les sections 2.5 et 2.6. Enfin, nous discutons des tests physico-mécaniques effectués sur le mélange des liquides dans différents milieux, présentés dans la section 2.7.

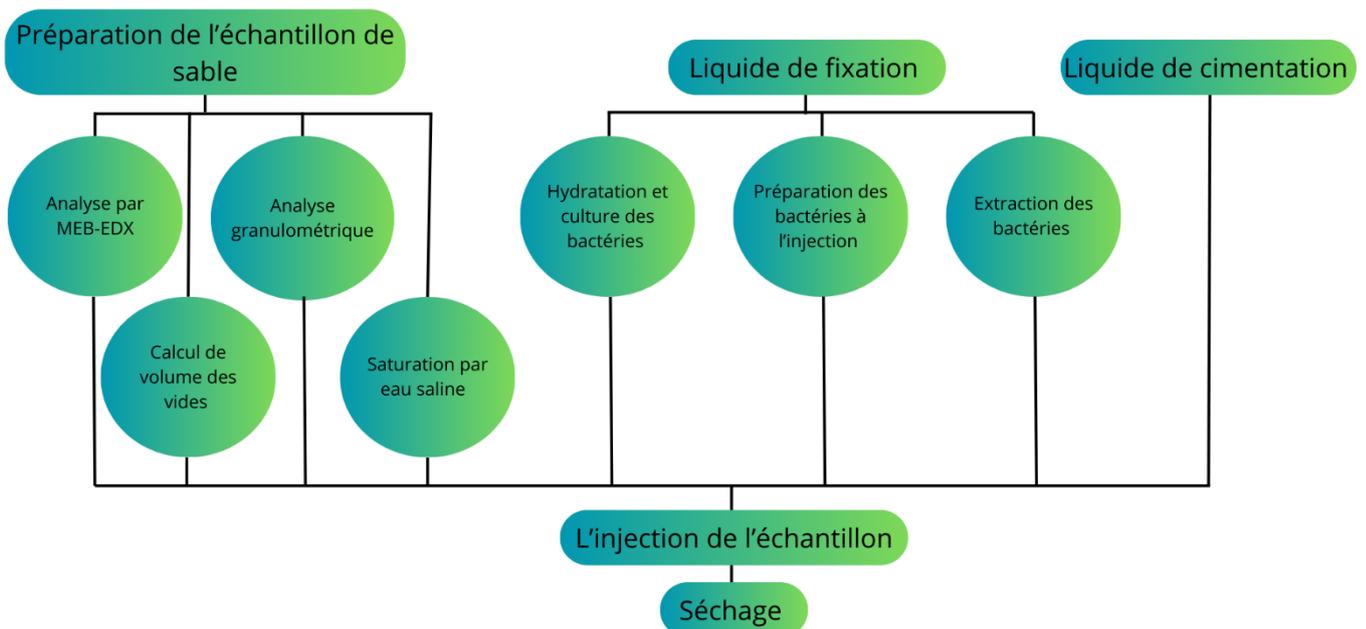


FIGURE 2.1 – Schéma illustrant les étapes de la méthodologie utilisée

2.2 liquide de fixation

2.2.1 Préparation des Bactéries

La souche bactérienne utilisée dans cette étude est appelée *Sporosarcina pasteurii*, avec un numéro d'accès de la souche ATCC 11859, selon la base de données des séquences GenBank. Cette bactérie a été acquise auprès du Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH sous la référence DSM 33. Selon les informations fournies par la DSMZ, cette bactérie a été isolée d'un sol alcalin d'origine inconnue (DSMZ).



FIGURE 2.2 – Tube de stockage reçu contenant la souche DSM 33, étiquetée avec la date de préparation en janvier 2023.

Les bactéries fournies ont été séchées et congelées. Selon les instructions du fournisseur, une hydratation est nécessaire pour leur réactivation.

2.2.1.1 Hydratation et culture des bactéries

1/Préparation de milieu de culture

Selon les consignes de DSMZ, 5 mL d'un milieu de culture (composé de 5 g/L de peptone, 3 g/L d'extrait de viande et 1000 mL d'eau distillée, avec un pH ajusté à 7,0) ont été préparés puis stérilisés.

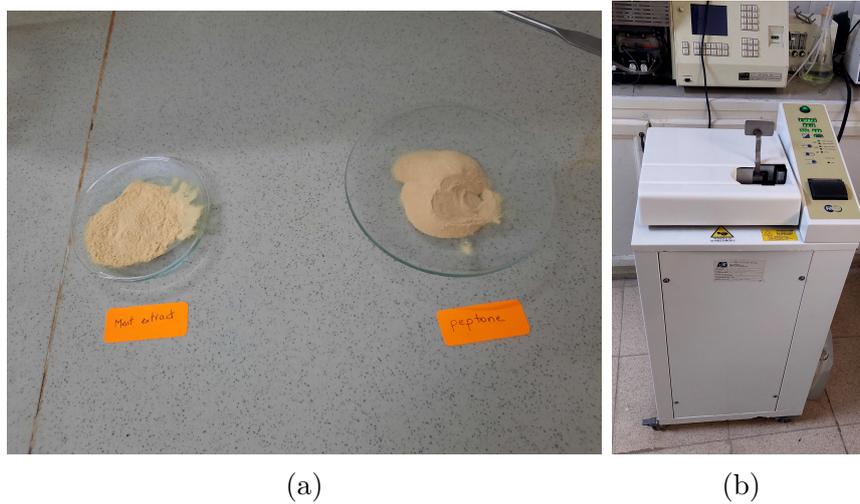


FIGURE 2.3 – (a) les composants de milieu de culture de la bactérie *Sporosarcina Pasteurii*, (b) l'incubateur FALC utilisé

2/Hydratation et réactivation des bactéries

0,5 mL du milieu de culture préalablement préparé ont été versés dans l'ampoule contenant la bactérie et laissés pendant 5 minutes avant d'être transférés dans le reste de milieu de culture. Le mélange a été agité avec précaution.



FIGURE 2.4 – l'hydratation de *Sporosarcina Pasteurii*

3/culture en boîte de Pétri

Les bactéries *Sporosarcina pasteurii* sont cultivées dans un environnement $\text{NH}_4\text{-YE}$. Selon les recherches d'Ozdogan [45], la composition du milieu est illustrée dans le tableau suivant :

TABLE 2.1 – Composition du liquide de couli des boîtes de pétri [45].

Composé	Extrait de levure (YE)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Tris	Agar
Concentration [g/l]	20	10	15.75	10

La préparation des boîtes de petri est la suivante [45] :

1. Peser chaque ingrédient.
2. Ajouter un demi-litre d'eau distillée au tris.
3. Ajuster le pH de la solution à 9.
4. Compléter le volume en utilisant de l'eau distillée pour obtenir un volume final d'un litre.
5. Diviser la préparation en trois Erlenmeyers et incorporer l'extrait de levure, l'agar et le $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dans chaque contenant individuellement afin d'éviter la précipitation entre les ingrédients.
6. Autoclaver les trois mélanges à un cycle liquide à 120 °C pendant 20 minutes.
7. Mélanger les trois liquides et verser le mélange dans les boîtes de Petri.

Après avoir refroidi les boîtes de Petri, les bactéries sont appliquées sur l'agar. Ensuite, elles sont placées dans un incubateur à une température de 30°C pendant 48 heures pour leur développement, puis conservées dans un réfrigérateur à une température de 4°C pendant au moins un mois [40].

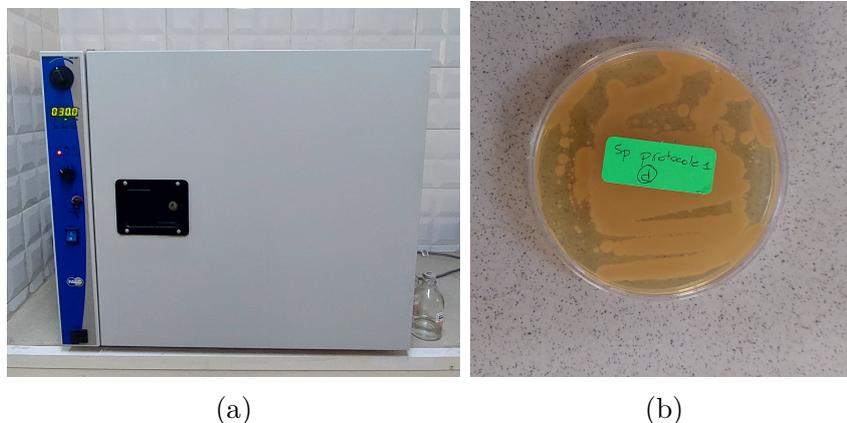


FIGURE 2.5 – (a) : Incubateur Falc utilisé pour cultiver la bactérie *Sporosarcina Pasteurii*
(b) : La croissance des SP après 48h d'incubation.

4/Isolement de *sporosarcina pasteurii*

Pour l'isolement de *Sporosarcina pasteurii*, un protocole précis a été suivi. Tout d'abord, une anse de prélèvement a été stérilisée en la passant dans la flamme d'un bec Bunsen, puis laissée refroidir brièvement pour éviter toute contamination croisée avec d'autres échantillons ou organismes. Ensuite, une petite quantité de culture d'une zone de croissance dense a été prélevée de la boîte de Pétri contenant les colonies bactériennes, en ouvrant légèrement la boîte. Cette anse chargée a ensuite été utilisée pour inoculer un nouveau milieu de culture en étalant délicatement l'échantillon sur la surface de l'agar dans une nouvelle boîte de Pétri. Le premier quadrant de cette boîte a été strié avec l'anse en utilisant un mouvement de va-et-vient ou en zigzag pour créer une zone dense de bactéries [22].

Après avoir strié le premier quadrant, l'anse doit être stérilisée à nouveau pour éliminer les bactéries restantes. Une fois refroidie, l'anse est utilisée pour réaliser des stries du bord du premier quadrant vers le deuxième quadrant. Ce processus de stries en zigzag est répété, en stérilisant l'anse avant chaque nouveau quadrant. Cette méthode dilue progressivement les bactéries, réduisant ainsi leur nombre dans chaque quadrant successif. Une fois le processus de stries terminé, la boîte de Petri doit être fermée et correctement scellée pour éviter toute contamination. Elle doit être retournée (couvercle vers le bas) et placée dans un incubateur réglé à 30°C. L'incubation doit durer 48 heures, ou jusqu'à ce que des colonies distinctes soient visibles [22].



FIGURE 2.6 – Demonstration de l'isolement par la méthode des quadrants [49].

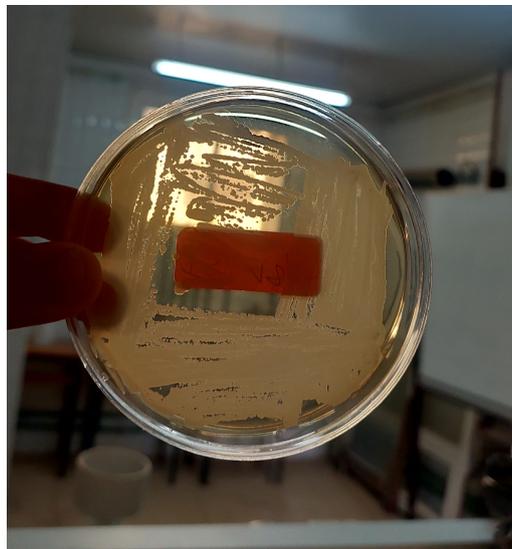


FIGURE 2.7 – les colonies isolées de *Sporosarcina pasteurii* après 48h d'incubation

2.2.1.2 Identification des colonies des bactéries isolées

Selon les informations fournies par l'ATCC, la *Sporosarcina Pasteurii* est une bactérie Gram positive mesurant 1.3-4.0 x 0.5-1.2 μm . De plus, elle possède des spores sphériques mesurant approximativement 1.0 μm .

• coloration Gram

Cette technique repose sur les différences de structure et de composition chimique de la paroi cellulaire des bactéries :

1. **Gram-positives** : Ces bactéries possèdent une paroi cellulaire épaisse constituée principalement de peptidoglycane. Cette paroi retient le colorant violet de cristal utilisé lors de la coloration.
2. **Gram-négatives** : Ces bactéries ont une paroi cellulaire plus complexe, avec une fine couche de peptidoglycane et une membrane externe riche en lipopolysaccharides. La fine couche de peptidoglycane ne retient pas le colorant violet de cristal après un lavage à

l'alcool, mais elles peuvent être contre-colorées avec la safranine ou la fuchsine, prenant ainsi une coloration rose ou rouge [50].

On commence par préparer les frottis comme suit :

1. Nettoyer une lame mince avec de l'alcool.
2. Déposer une goutte d'eau sur la lame.
3. Toucher une colonie à l'aide d'une pipette de pasteur stérilisée pour prélever des bactéries.
4. Touchez la pointe à la goutte d'eau, puis laissez sécher à l'air libre.
5. Passer la lame dans la flamme du bec Bunsen pour fixer l'échantillon par la chaleur.

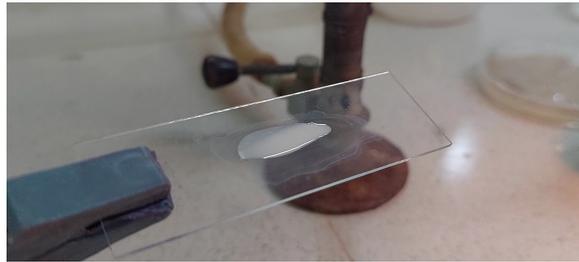


FIGURE 2.8 – Préparation de frotti sur lame mince

On passe maintenant à la coloration selon les étapes suivantes :

1. Déposer quelques gouttes de la solution de violet de gentiane sur le frottis fixé à l'aide d'une seringue.
2. Laisser agir pendant 1 minute. Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.
3. Rincer la lame à l'eau.
4. Déposer quelques gouttes de Lugol sur le frottis. Le Lugol (composé iodé) agit comme mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries.
5. Laisser agir pendant 1 minute..
6. Rincer brièvement à l'eau comme précédemment décrit.
7. Décolorer a l'aide de l'alcool verse sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes).

Les pores de la paroi des Gram+ sont fermés par la déshydratation à l'alcool. La paroi est alors imperméable et le colorant violet reste dans les bactéries. La membrane des Gram- est dissoute par le mélange alcool-acétone. La paroi plus mince et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette.

8. Rincer à l'eau.
9. Contre-colorer en déposant la solution de safranine pendant 1 minute. Ce colorant permet de visualiser les bactéries Gram-décolorées à l'étape précédente. Cette coloration moins forte que le violet n'affecte pas la couleur des Gram+.
10. Rincer à l'eau.
11. Laisser sécher pendant 24h ou plus dans du papier filtre, puis observer sous microscope.

2.2.2 Préparation des bactéries à l'injection

Après une incubation de 48 heures sur les boîtes de pétri, les bactéries *S. pasteurii* sont prélevées et placées dans un bouillon $NH_4 - YE$. Les ingrédients du bouillon sont les mêmes que ceux

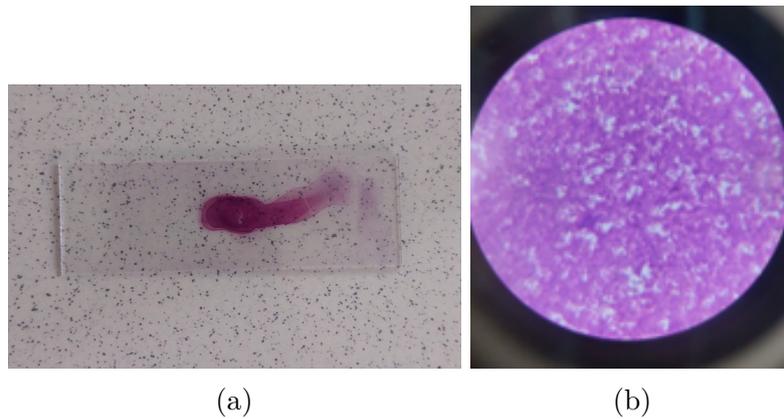


FIGURE 2.9 – (a) :Le frottis de la lame mince après coloration et séchage de 24h (b) : Vue de frotti de *Sporosarcina Pateurii* sous microscope (x100)

du coulis des boîtes de Petri, mais sans l'agar. On prélève donc des colonies de bactéries en utilisant un ratio de 1 colonie/10 mL de bouillon. Ensuite, les bactéries sont agitées à une vitesse de 250 rpm pendant 24-48 heures à une température de 25 °C pour obtenir une densité optique de 1,0 à 3,0 . L'absorbance de cette densité est évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 6705 UV/Vis) à 600 μ m.

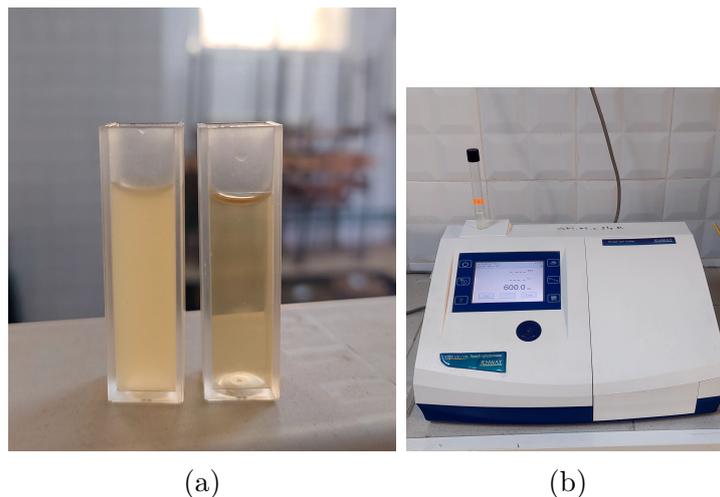


FIGURE 2.10 – (a) :Augmentation de la densité optique après 48 heures d'agitation dans un bouillon $NH_4 - YE$ (b) Le spectrophotomètre utilisé(JENWAY 6705 UV/Vis).

2.2.2.1 Courbe de croissance

La régulation de la croissance bactérienne joue un rôle crucial lors de la bio-calcification. Quand les bactéries se déplacent d'un milieu à un autre, elles traversent différentes phases de développement de la croissance. La croissance est lente au début, car les bactéries s'adaptent à un nouvel environnement. Elles deviennent ensuite extrêmement actives et se multiplient de manière exponentielle. Enfin, la prolifération diminue lorsque les bactéries sont dépourvues de nutriments. La courbe de croissance est illustrée et interprétée dans le chapitre3 : Résultats et interprétations ,décrit la croissance de *Sporosarcina Psteurii* dans le temps, dans un milieu $NH_4 - YE$ à une température ambiante (25°C). L'inoculation des bactéries a été réalisée avec un ratio de 1 colonie pour 10 mL de bouillon (adapté de [40]).

2.2.3 Extraction des bactéries

Une fois que les bactéries se sont développées dans le milieu $NH_4 - YE$, elles sont extraites du bouillon de culture par centrifugation. Pour ce faire, la culture est versée dans des tubes de 50 mL, puis placée dans la centrifugeuse (SIGMA) à 2594 g pendant 20 minutes à une température ambiante de 25 °C. Comme le montre la figure 2.12, le surnageant est ensuite éliminé et remplacé par un milieu contenant de l'urée (20 g/L). Les bactéries sont remises en suspension par agitation, puis transférées dans un nouveau bouillon. Le mélange est agité pour obtenir ce qu'on appelle liquide de fixation (adapté de [40]).

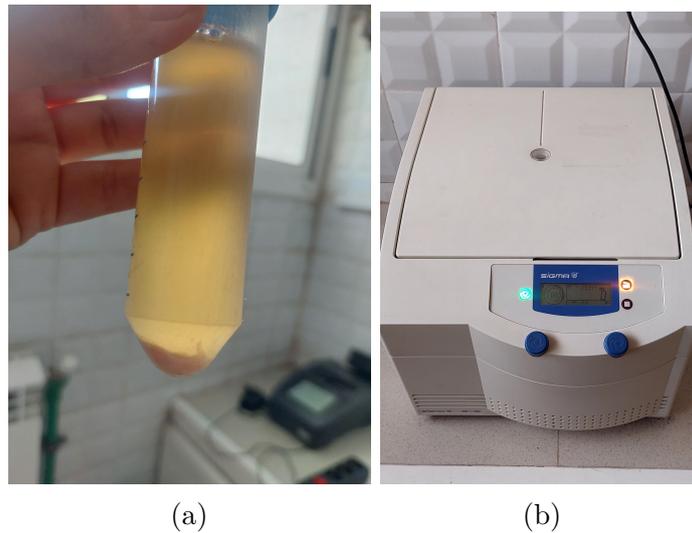


FIGURE 2.11 – (a) :les bactéries extraites après 20 min de centrifugation (b) :la centrifugeuse Sigma utilisée dans l'extraction de *Sporosarcina Pasteurii*.

2.3 Liquide de cimentation

Le liquide de cimentation utilisé dans cette étude a été soigneusement formulé pour optimiser le processus de précipitation calcique. Il se compose principalement d'une solution à base de calcium, de nutriments essentiels pour la croissance bactérienne, ainsi que d'additifs visant à stabiliser le mélange. Les différents ingrédients, ainsi que leurs concentrations respectives, sont répertoriés dans le tableau suivant(adapté de [40]) :

TABLE 2.2 – Composition du liquide de cimentation.

Composé	Urée	$(NH)_4Cl$	$NaHCO_3$	Bouillon nutritif	$CaCl_2$
Concentration [g/l]	20	10	2,12	3	24

Les deux liquides, à savoir le liquide de fixation et le liquide de cimentation, seront injectés dans différents échantillons de sable afin de déterminer la résistance mécanique, la stabilité chimique des matériaux traités, ainsi que leur perméabilité, et ainsi évaluer leur potentiel d'amélioration des propriétés géotechniques du sol.

2.4 Propriétés des matériaux utilisés

2.4.1 Analyse par microscopie électronique à balayage associée à la microanalyse par énergie dispersive de rayons X (MEB-EDS)

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé des échantillons de sable pour évaluer l'amélioration des propriétés physico-mécaniques et la consolidation des sols par le procédé de précipitation de calcite induite par des micro-organismes (MICP).

Avant l'application du traitement MICP, les échantillons de sable ont été examinés à l'aide d'un microscope électronique à balayage (MEB) de la marque JEOL. Ce MEB opère en balayant la surface de l'échantillon avec un faisceau d'électrons hautement focalisés. L'interaction entre les électrons et les atomes de l'échantillon génère divers signaux, y compris des électrons secondaires, qui sont captés pour produire des images de haute résolution [51]. Cette méthode nous a permis de capturer des photographies de l'échantillon à un grossissement de $500 \mu\text{m}$, fournissant une visualisation précise de la surface avant traitement. Ces images servent de base de référence pour l'observation des modifications morphologiques et structurales post-traitement.

Parallèlement, le MEB a été utilisé pour réaliser une analyse chimique des échantillons non traités. En utilisant un système de spectroscopie d'énergie dispersive (EDS) intégré, l'analyse a permis de déterminer la composition élémentaire de l'échantillon. Lorsqu'il interagit avec l'échantillon, le faisceau d'électrons excite les atomes, provoquant l'émission de rayons X caractéristiques. Le détecteur EDS capte ces rayons X et fournit une analyse détaillée de la composition chimique, identifiant les éléments présents et leur concentration. La préparation de l'échantillon a été faite afin de garantir la qualité des images obtenues et des données analytiques. Voici les principales étapes suivies pour préparer l'échantillon de sable avant son observation au MEB :

1. **Séchage de l'échantillon** : Avant l'analyse, l'échantillon de sable doit être parfaitement sec pour éviter toute contamination ou dégazage dans le vide de la chambre du MEB. Le séchage a été réalisé à l'air libre pendant plusieurs heures.
2. **Montage de l'échantillon sur le support (stub)** : Une fois sec, l'échantillon de sable est monté sur un support appelé stub, en aluminium. Le stub est conçu pour maintenir l'échantillon de manière stable durant l'analyse. Un adhésif conducteur (en carbone) est utilisé pour fixer les grains de sable sur la surface du stub. Cette colle conductrice permet de maintenir l'échantillon en place et d'assurer une conduction électrique efficace.
3. **Placement dans le porte-échantillon du MEB** : Une fois l'échantillon préparé, il est placé dans le porte-échantillon du microscope. Le stub est fermement fixé sur celui-ci pour garantir sa stabilité durant l'analyse.

Le porte-échantillon contenant les échantillons préparés est introduit dans la chambre du MEB sous vide, qui est ensuite refermée hermétiquement. Le système évacue l'air pour créer un vide, permettant ainsi au faisceau d'électrons de circuler sans interférence des molécules d'air. Une fois sous vide, le porte-échantillon est positionné à l'aide de commandes électroniques, permettant d'ajuster la hauteur, l'inclinaison et l'orientation de l'échantillon par rapport au faisceau d'électrons [52]. Il est essentiel de positionner l'échantillon à la distance de travail optimale, généralement entre 10 et 15 mm, afin d'obtenir des images de haute résolution. Une fois l'échantillon en place et correctement orienté, on ajuste les paramètres du MEB, en utilisant un signal SED (Secondary Electron Detector), avec une tension d'atterrissage de 5,0 kV. La distance de travail était de 14,7mm, et le grossissement appliqué était de x35, offrant un champ de vision de $3,634 \times 2,722\text{mm}$.

2.4.2 Analyse granulométrique sélective :

Après la visualisation par MEB, une analyse granulométrique complète a été réalisée sur l'échantillon de sable d'origine de Bou Saâda, Algérie. Cette méthode permet de déterminer la distribution granulométrique du sable, un facteur clé dans le processus de précipitation de calcite induite par les microbes (MICP). L'analyse a été effectuée à l'aide de six tamis en plus du bas de tamis, avec des mailles allant de 63 μm à 1,6 mm [22], permettant de segmenter le matériau en fractions granulométriques spécifiques. La taille des particules joue un rôle déterminant dans l'efficacité des processus MICP, car elle influence la surface spécifique disponible pour la colonisation bactérienne ainsi que la perméabilité du matériau.

Le choix des tamis dans cette analyse granulométrique a été particulièrement réfléchi et sélectif. La limite supérieure de l'analyse a été fixée au tamis de 1,6 mm et la limite inférieure à 0,063 mm, couvrant l'ensemble de la plage de tailles pertinentes pour les processus MICP. La taille optimale des particules pour le MICP se situe généralement entre 0,06 mm et 1,6 mm [22], car cette gamme offre un équilibre entre la surface nécessaire pour l'activité microbienne et l'espace poreux permettant la circulation des solutions bactériennes et des précipités de calcite. Les particules de sable plus grosses, dépassant 1,6 mm, réduisent l'efficacité du MICP en raison de la baisse de surface spécifique et de la vitesse de circulation accrue des fluides, ce qui peut compromettre la formation homogène de calcite et, par conséquent, la solidification du matériau [52].

Les tamis intermédiaires (1 mm, 0,5 mm, 0,25 mm, 0,125 mm) ont été sélectionnés pour permettre une classification granulométrique précise et progressive. Cette séquence assure non seulement une distribution granulométrique complète, mais elle permet également de préserver les tamis de mailles plus fines, ainsi que l'équipement de laboratoire, contre une surcharge de particules plus grossières, qui pourrait altérer la précision des mesures et endommager les tamis.

Avant l'analyse, l'échantillon de sable a été séché jusqu'à obtenir un poids constant, éliminant toute humidité résiduelle. Le sable séché a ensuite été placé sur le tamis le plus grossier (1,6 mm) et soumis à un tamisage mécanique à l'aide de la tamiseuse Retsch AS 200. Le processus s'est poursuivi jusqu'au tamis le plus fin (63 μm), chaque tamis retenant une fraction spécifique des particules de sable. La masse du matériau retenu sur chaque tamis a été pesée et les résultats ont été utilisés pour caractériser la distribution granulométrique, comme présenté dans le tableau et le graphique du chapitre 3 : Résultats et Interprétation.

Pour optimiser le processus de MICP, il est essentiel que les particules de sable utilisées se situent dans une plage de tailles propices à une précipitation uniforme de la calcite, ce qui améliore la cohésion et la solidification du sol traité. Dans cette étude, les fractions granulométriques supérieures à 1,6 mm et inférieures à 0,063 mm ont été exclues, car elles pourraient compromettre l'efficacité du processus.

2.4.3 Calcul de volume des vides

Le volume des vides de l'échantillon de sable est un paramètre crucial pour déterminer la quantité des liquides de fixation et de cimentation à injecter. Le volume des vides (V_{vides}) est la mesure de l'espace vide dans un matériau granulaire, qui n'est pas occupé par des particules solides. Ces vides peuvent être remplis par de l'air, de l'eau ou d'autres fluides et ils influencent des propriétés essentielles du sol telles que la densité, la perméabilité, et la capacité de rétention d'eau du sol. Le volume des vides est généralement exprimé en centimètres cubes (cm^3) et peut être calculé à partir de mesures expérimentales en utilisant un pycnomètre. En suivant la

méthode détaillée de “R.F.Craig “ dans son livre “Soil mechanics” [53].



FIGURE 2.12 – Le pycnomètre Prolabo utilisé pour mesurer le volume des vides

2.4.3.1 Calculs

1/calcul de volume du pycnomètre (V_{pyc}) :

Le volume interne du pycnomètre est déterminé par la différence de masse entre le pycnomètre rempli d'eau et le pycnomètre vide, en tenant compte de la densité de l'eau ($\rho_{eau} \approx 1 \text{ g/cm}^3$). Les étapes sont les suivantes :

- **M1** : représente la masse du pycnomètre vide. Après avoir soigneusement nettoyé et séché le pycnomètre pour éviter toute contamination, on le pèse avec une balance de précision. Cette mesure est notée M1, qui dans ce cas est de 67 g.
- **M2** : est la masse du pycnomètre rempli d'eau distillée. Il est crucial que l'eau soit à une température mesurée avec précision, à l'aide d'un thermomètre. On pèse ensuite le pycnomètre rempli, et cette masse est notée M2, ici de 170 g.

Le volume interne du pycnomètre (V_{pyc}) est calculé en soustrayant M1 de M2 :

$$V_{pyc} = \frac{M_2 - M_1}{\rho_{eau}} = \frac{170 - 67}{1} = 103 \text{ cm}^3 \quad (2.1)$$

2/ calcul de la masse du sable (M_{sable}) :

La masse du sable est la différence entre la masse du pycnomètre rempli de sable sec et la masse du pycnomètre vide :

$$M_{sable} = M_3 - M_1 = 227 - 67 = 160 \text{ g} \quad (2.2)$$

- **M3** : correspond à la masse du pycnomètre rempli de sable sec. Après avoir versé une quantité mesurée de sable dans le pycnomètre, on pèse l'ensemble et on enregistre cette masse sous M3, ici égale à 227 g.

3/Calcul de masse de l'eau ajoutée (M_{eau}) :

La masse de l'eau ajoutée dans le pycnomètre contenant le sable est calculée en soustrayant la masse du pycnomètre contenant uniquement le sable de la masse du pycnomètre rempli d'eau

et de sable :

$$M_{\text{eau}} = M_4 - M_3 = 264 - 227 = 37 \text{ g} \quad (2.3)$$

• **M4** : Masse du pycnomètre contenant le sable et l'eau. Après avoir soigneusement rempli le pycnomètre avec de l'eau distillée, en éliminant toutes les bulles d'air, on pèse l'ensemble et enregistre cette masse sous M4, qui est ici 264 g.

4/volume de l'eau ajoutée (V_{eau}) :

Le volume de l'eau ajouté est calculé en fonction de la masse de l'eau ajoutée, en supposant une densité de l'eau de $1 \text{ cm}^3/\text{g}$.

$$V_{\text{eau}} = \frac{M_{\text{eau}}}{\rho_{\text{eau}}} = \frac{37}{1} = 37 \text{ cm}^3 \quad (2.4)$$

5/Calcul de volume des vides (V_{vides}) :

Le volume des vides correspond au volume d'eau ajouté pour remplir les interstices du sable :

$$V_{\text{vides}} = V_{\text{eau}} = 37 \text{ cm}^3 \quad (2.5)$$

La présence d'un volume de vides de 37 cm^3 indique qu'une proportion notable du volume total est constituée d'espaces susceptibles d'accueillir la solution de traitement, comprenant à la fois des bactéries et des agents de cimentation. Par conséquent, pour saturer un échantillon de sable de 103 cm^3 , un volume de 37 cm^3 de solution sera nécessaire. En d'autres termes, environ 36% du volume total est constitué d'espaces vides entre les grains de sable. Ce volume de vides pourrait potentiellement faciliter une répartition plus homogène des bactéries ainsi que des précipités de carbonate de calcium.

2.4.4 Saturation des échantillons avec de l'eau saline

Avant le début de la phase d'injection du MICP, l'échantillon de sable est saturé avec une solution saline à 0,9 % de NaCl. La préparation de cette solution suit les étapes suivantes :

1. **Pesée du chlorure de sodium (NaCl)** : 9g de NaCl sont pesés avec précision à l'aide d'une balance analytique.
2. **Dissolution dans de l'eau distillée** : Le NaCl est dissous dans 1 litre d'eau distillée, en agitant jusqu'à la dissolution complète.

Une fois la solution saline prête, l'échantillon de sable est immergé dans cette solution pendant 24 heures afin de garantir une saturation complète des pores intergranulaires. Cette étape est cruciale pour maintenir une conductivité ionique stable et favoriser la propagation homogène des bactéries nécessaires à la précipitation des carbonates [54]. Cette solution saline, en plus de stabiliser le milieu poreux, reproduit des conditions environnementales similaires à celles où la biocimentation se déroule naturellement. Elle améliore également la dispersion des bactéries dans l'échantillon, favorisant ainsi l'efficacité du processus MICP [39]. Une fois saturé, l'échantillon est prêt pour l'injection.

2.5 Injection des échantillons

2.5.1 système d'injection

À l'origine, notre laboratoire ne disposait pas d'un système d'injection spécifique, ce qui restreint nos capacités d'analyse et accroît le risque d'erreurs lors des manipulations à main. En optant pour la transformation du distillateur en silice en un système d'injection, nous avons réussi à combler cette lacune et à améliorer nos méthodes de manipulation. Grâce à cette solution provisoire, nous pouvons augmenter la précision et l'efficacité.

2.5.2 Injection discontinue des échantillons

Dans ce projet, le sable a été traité par injection discontinue. Les sables susceptibles de se liquéfier sont saturés et peuvent se trouver en profondeur. Par conséquent, la percolation n'est pas une technique appropriée, et l'injection en continu offre un rendement moins efficace [22]. Les échantillons ont été injectés en deux étapes : l'injection du liquide de fixation, suivie de l'injection du liquide de cimentation.

La première étape consiste à injecter les bactéries et à leur laisser le temps de se propager dans le sol. Les étapes sont développées ci-dessous (Adapté de [22]) :

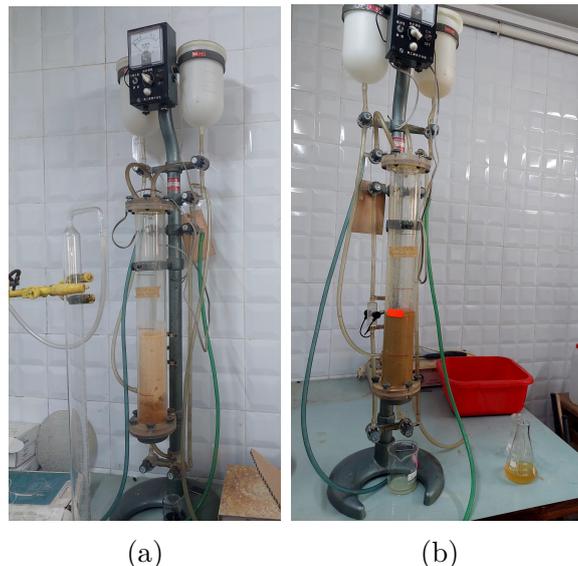


FIGURE 2.13 – Transformation d'un distillateur en silice (a) en un système d'injection (b).

1. Incubation des bactéries dans un milieu $NH_4 - YE$ à $25^\circ C$ pendant 48h jusqu'à une densité optique de 1,0-3,0 (OD 600 μm).
2. Centrifugation des bactéries à 2594 g pendant 20 min.
3. Ajout de l'urée dans les bactéries et injection dans la colonne (Injection du double du volume des vides).
4. Temps de repos : 24 heures .

La deuxième consiste à injecter la solution de cimentation composée principalement d'urée et de $CaCl_2$:

1. Injection du liquide par le haut de la colonne.
2. Temps de repos : 24h.
3. Drainage de l'excès de liquide de cimentation.
4. Répétition du protocole pendant 7 jours.

Afin d'obtenir des échantillons homogènes, la moitié des injections se font à partir de la base et l'autre moitié, à partir du haut. Ainsi, on réduit les risques de sur-calcification de la base et de colmatage.

Le pH de la solution recueillie lors du drainage est mesuré à chaque cycle d'injection afin de surveiller les variations du pH, qui sont directement influencées par l'activité bactérienne et la précipitation des carbonates. Cette surveillance permet de confirmer l'efficacité des bactéries et d'évaluer l'évolution chimique du milieu au cours des injections. Les résultats détaillés de ces variations de pH sont présentés dans le chapitre 3 : Résultats et Interprétations.

2.6 Séchage des échantillons

Après l'étape d'injection des deux liquides de fixation et de cimentation, le processus de séchage joue un rôle crucial pour assurer la stabilité et la durabilité des matériaux injectés. Dans un premier temps, l'échantillon a été laissé sécher à l'air libre pendant 7 jours, permettant une évaporation progressive de l'eau ou des solvants. Cette phase initiale favorise la consolidation préliminaire du mélange dans les pores et les fissures du matériau. Après ces 7 jours, l'échantillon est ensuite démoulé et placé dans une étuve afin de garantir un séchage total et homogène. Ce séchage en deux étapes permet une prise complète des produits injectés, renforçant l'adhérence et la cohésion des matériaux, tout en minimisant les risques de fissuration ou de rétraction (adapté de [46]) .



FIGURE 2.14 – séchage à l'air libre de l'échantillon

2.7 Analyses minéralogiques et physico-mécaniques des échantillons après la bio-solidification

Après le traitement des échantillons de sable par le procédé de précipitation de calcite induite par des micro-organismes (MICP), une série de tests physico-mécaniques et minéralogiques a été réalisée pour évaluer l'efficacité du procédé et les modifications apportées au sable. Les tests comprenaient une analyse morphologique par microscope électronique à balayage (MEB), des mesures de perméabilité, des tests de résistance à la compression, et une diffraction des rayons X (DRX) pour déterminer les phases minérales formées.

2.7.1 Analyse Morphologique par Microscope Électronique à Balayage (MEB)

Après le traitement par MICP, les échantillons de sable ont été réexaminés à l'aide du microscope électronique à balayage (MEB) pour observer les modifications morphologiques, notamment la formation de précipités de calcite. Ces résultats ont été comparés à ceux des échantillons non traités. Préparés selon les protocoles de la section Propriétés des matériaux utilisés, les échantillons ont révélé des changements significatifs dans la texture et la structure des grains. Les images ont été prises en mode SED, avec une tension d'atterrissage de 15,0 kV et une distance de travail de 12,9 mm. Les grossissements de x110 et x3300, offrant des champs de vision de 1,156 x 0,866 mm et 38,54 x 28,87 μm , ont permis d'analyser en détail les précipités de calcite, comme présenté dans le chapitre 3 : Résultats et interprétations.

2.7.2 Test de perméabilité

La perméabilité de l'échantillon de sable a été évaluée avant et après le traitement MICP, bien que nous n'ayons pas disposé d'un perméamètre traditionnel dans le laboratoire de génie minier. Pour contourner cette limitation, nous avons adopté une méthode alternative détaillée ci-dessus basée sur la loi de Darcy, permettant de mesurer la perméabilité en utilisant des outils accessibles.

1. **Préparation des échantillons** : les deux échantillons de sable (avant et après traitement par MICP), ont été placés dans un tube cylindrique transparent, ouvert à ses deux extrémités. Le sable a été compacté de manière homogène pour assurer une densité uniforme dans chaque échantillon.
2. **Montage expérimental** : Une colonne d'eau a été établie au-dessus de l'échantillon, permettant à l'eau de s'infiltrer sous l'effet de la gravité. Le tube contenant l'échantillon est relié en bas à un récipient gradué afin de collecter l'eau qui s'écoule. La hauteur d'eau initiale a été mesurée et maintenue constante au début de chaque essai.



FIGURE 2.15 – Montage expérimental de la mesure de la perméabilité des échantillons

3. **Mesure du débit :** Le temps nécessaire pour que l'eau traverse l'échantillon a été mesuré, ainsi que le volume d'eau collecté à intervalles réguliers. Ces données ont permis de déterminer le débit d'infiltration (Q) en fonction du temps. La longueur de l'échantillon de sable (L) et la section transversale du tube (A) ont également été mesurées pour les calculs de perméabilité.
4. **Calcul de la perméabilité :** En appliquant la loi de Darcy, la perméabilité (K) a été calculée à l'aide de la formule suivante :

$$K = \frac{Q \cdot L}{A \cdot \Delta H} \quad (2.6)$$

Où :

$$\left\{ \begin{array}{l} Q \text{ est le débit volumétrique de l'eau (en m}^3\text{/s),} \\ L \text{ est la longueur de l'échantillon (en m),} \\ A \text{ est la section transversale de l'échantillon (en m}^2\text{),} \\ \Delta H \text{ est la différence de hauteur d'eau (en m).} \end{array} \right.$$

$$Q = \frac{V}{t} \quad (2.7)$$

Avec V est le volume d'eau qui a traversé l'échantillon (en m^3) et t est le temps écoulé pendant lequel ce volume d'eau a été collecté (en s).

Les résultats obtenus avant traitement ont servi de référence pour évaluer la perméabilité initiale du sable. Après traitement par MICP, le calcul de la perméabilité permet de comparer les deux phases et de déduire l'impact du processus MICP sur la rétention de l'eau ainsi que sur l'amélioration des propriétés de solidification du sol.

En comparant les valeurs de perméabilité obtenues avant et après le traitement par MICP, nous avons pu quantifier l'efficacité du processus, notamment en termes de réduction des écoulements d'eau à travers le sable. Cette analyse permet de confirmer non seulement la solidification du sol, mais également l'amélioration de ses propriétés mécaniques, grâce à la précipitation de calcite, ce qui se traduit par une meilleure stabilité et durabilité des sols traités.

TABLE 2.3 – Tableau de Darcy

Type de sol	Coefficient de perméabilité (k) (m/s)	Description
Sable grossier	10-2 m/s à 10-3 m/s	Relativement perméable, gros grains
Sable moyen	10-4 m/s à 10-5 m/s	Perméabilité moyenne, grains moyens
Sable fin	10-6 m/s à 10-7 m/s	Faiblement perméable, grains fins
Limons	10-8 m/s à 10-9 m/s	Très faiblement perméable
Argiles	<10-9 m/s	Pratiquement imperméable

2.7.3 Test de Résistance à la compression

La résistance à la compression du sable traité a été évaluée pour déterminer les améliorations de ses propriétés mécaniques. Ce test a été réalisé à l'aide d'une presse de compression, spécifiquement le modèle UTEST UTC-5727.FPR, qui applique une charge verticale croissante sur un échantillon de sable compacté jusqu'à ce que la rupture se produise.

Une fois l'échantillon séché, il est placé sur la plaque inférieure de la presse de compression UTEST UTC-5727.FPR. L'échantillon doit être bien centré pour que la charge soit appliquée de manière uniforme.

La machine UTEST UTC-5727.FPR est équipée d'un système de contrôle automatique, permettant de définir précisément le taux d'augmentation de la charge appliquée. Une fois l'échantillon positionné, on configure la presse pour appliquer une charge croissante à une vitesse constante jusqu'à la rupture de l'échantillon. La charge maximale supportée par l'échantillon est enregistrée par le système électronique intégré.

Calcul de la résistance à la compression : La résistance à la compression est ensuite calculée en divisant la charge maximale supportée par la surface de la section transversale de l'échantillon. Cette valeur est exprimée en pascals (Pa) et calculée en utilisant la formule suivante :

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (2.8)$$

Où :

$$\begin{cases} F & \text{: Charge maximale supportée par l'échantillon avant rupture, mesurée en newtons (N),} \\ A & \text{: Surface de la section transversale de l'échantillon, mesurée en mètres carrés (m}^2\text{).} \end{cases}$$

Les résultats obtenus sont présentés dans le **chapitre 3 : Résultats et interprétation**.

2.7.4 Diffraction des Rayons X (DRX)

Pour identifier les nouvelles phases minérales formées par le processus MICP, une diffraction des rayons X (DRX) a été effectuée sur l'échantillon de sable traité. La DRX est une technique analytique qui utilise des rayons X pour analyser la structure cristalline des matériaux. Lorsqu'un faisceau de rayons X frappe l'échantillon, il est diffracté par les plans atomiques du cristal, produisant un motif de diffraction spécifique. Ce motif est enregistré et analysé pour identifier les phases minérales présentes, telles que la calcite précipitée. Comparer les motifs de diffraction avant et après traitement permet de confirmer la formation des nouveaux minéraux.

1. **Préparation et positionnement de l'échantillon** : Avant l'analyse, les échantillons de sable, qu'ils soient traités ou non, ont été soigneusement préparés sous forme de poudre. D'abord, les échantillons ont été séchés à l'air libre pour éliminer toute trace d'humidité résiduelle, puis réduits en une poudre fine et homogène. Une petite quantité de cette poudre a ensuite été déposée dans un porte-échantillon en aluminium, en veillant à obtenir une surface parfaitement plane et régulière, afin de minimiser toute interférence avec le faisceau de rayons X.
2. **Positionnement dans l'appareil** : Positionnement dans l'appareil : L'échantillon a été placé dans la chambre du diffractomètre à rayons X, où le porte-échantillon a été soigneusement ajusté pour aligner le faisceau de rayons X avec la surface de la poudre. La méthode consiste à exposer l'échantillon aux rayons X, puis à mesurer l'intensité des rayons X diffractés en fonction de leur orientation spatiale. Cette technique repose sur la loi de Bragg :
$$n\lambda = 2d \sin(\theta) \quad (2.9)$$
3. **Analyse des résultats** : Les motifs de diffraction obtenus avant et après traitement ont été comparés pour identifier les phases minérales formées par le processus MICP, en particulier la calcite. Les détails sont mentionnés dans **chapitre 3 : Résultats et interprétation**.

2.8 Conclusion

Ce chapitre a fourni une présentation détaillée des matériaux et méthodes utilisés dans notre étude sur le traitement par MICP. Nous avons d'abord décrit la préparation des bactéries impliquées dans le processus. Ensuite, nous avons abordé la préparation du liquide de fixation ainsi que celle du liquide de cimentation, en précisant leurs compositions spécifiques. Nous avons également discuté des propriétés des matériaux utilisés et de leur préparation pour l'injection, en fournissant des informations essentielles pour garantir un traitement efficace. L'injection de l'échantillon a ensuite été expliquée, mettant en évidence l'importance du dosage pour assurer une répartition uniforme du ciment microbien. Enfin, nous avons présenté les tests physico-mécaniques effectués après le traitement par MICP, évaluant les effets de ce processus sur l'amélioration des propriétés des sables. Les informations recueillies constituent une base solide pour la poursuite de notre étude et sont cruciales pour comprendre les principes nécessaires à la réussite du processus MICP.

Chapitre 3

Résultats et interprétations

3.1 Introduction

Le présent chapitre est dédié à la présentation et interprétation des résultats obtenus dans cette étude portée sur l'amélioration des propriétés des sables par la méthode MICP. Dans ce chapitre, nous avons considéré les points suivants :

- Caractérisation pré-traitement par MICP.
- Caractérisation durant le traitement MICP.
- Caractérisation post-traitement MICP et rendement des essais.

3.2 Caractérisation pré-traitement par MICP

3.2.1 La courbe de croissance de *S.Pasteurii* dans un milieu $NH_4 - YE$ à 25°C

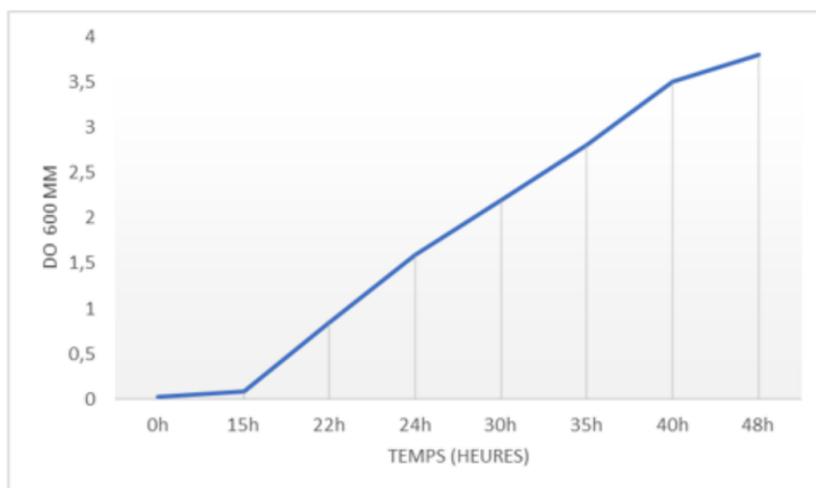


FIGURE 3.1 – courbe de croissance de *Sporosarcina pasteurii* dans un milieu $NH_4 - YE$ à 25°C

La courbe montre la croissance de la bactérie *Sporosarcina pasteurii* dans un bouillon de culture $NH_4 - YE$ à 25°C, avec une agitation de 250 rpm, en fonction de la variation de la densité optique (DO) mesurée à une longueur d'onde de 600 nm et du temps :

1. Phase de latence (0h - 15h) :

Pendant les 15 premières heures, la DO reste proche de zéro. Cela correspond à la phase de latence où les bactéries s'adaptent aux conditions du milieu de culture. Durant cette phase, elles ne se divisent pas encore, mais elles métabolisent les nutriments, synthétisent des enzymes et préparent leur division.

2. Phase exponentielle (15h - 40h) :

Dans cette phase, la courbe montre une croissance rapide. La densité optique passe d'environ 0,5 à presque 3,5, ce qui correspond à une augmentation exponentielle de la population bactérienne. Cela indique que les cellules se divisent activement et que les nutriments du milieu sont en abondance. Cette phase est caractérisée par un taux de division constant.

3. Phase stationnaire (35h - 48h) :

Après 40h, la croissance semble se stabiliser. La DO reste autour de 3,5, ce qui signifie que le nombre de cellules vivantes reste constant. Cela peut s'expliquer par un épuisement des nutriments ou une accumulation de sous-produits toxiques dans le milieu de culture. À ce stade, le taux de division des cellules est égal au taux de mortalité, entraînant une stabilisation de la population.

- La croissance de *Sporosarcina pasteurii* suit un modèle classique en plusieurs phases : une phase de latence, une phase exponentielle où la croissance est maximale, et une phase stationnaire où la croissance ralentit en raison des limitations du milieu.

- La bactérie atteint la densité optique cible (0,8-1,2) au cours de sa phase de croissance exponentielle, qui se situe entre 15h et 24h. C'est à ce stade de croissance optimale que le bouillon de culture est soumis à une centrifugation afin de récupérer les cellules bactériennes.

3.2.2 Observation microscopique des bactéries après coloration Gram (x100)

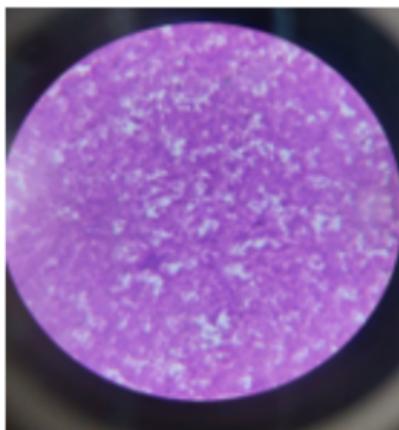


FIGURE 3.2 – Vue microscopique de résultats obtenus à de la coloration de Gram x100

1. L'image présente une vue microscopique de résultats obtenus à de la coloration de Gram. Voici une interprétation des résultats :
2. Couleur violette prédominante :

La couleur dominante de la préparation est violette, ce qui indique que les cellules observées sont des bactéries Gram-positives. La coloration de Gram permet de différencier les bactéries selon la composition de leur paroi cellulaire, et les bactéries Gram-positives retiennent le colorant violet cristal en raison de la forte teneur en peptidoglycane de leur paroi.

3. Forme bactérienne :

Bien que l'image ne soit pas extrêmement détaillée en termes de morphologie bactérienne, il est possible que les petites formes visibles soient des bacillus courts (bactéries allongées). Cela correspondrait à des bactéries typiquement Gram-positives comme *Sporosarcina pasteurii*, qui est une bactérie Gram-positive ayant la forme bacillus.

3.2.3 Microscopie électronique à balayage (MEB) associée à la spectroscopie par Énergie Dispersive de rayons X (EDS) de sable

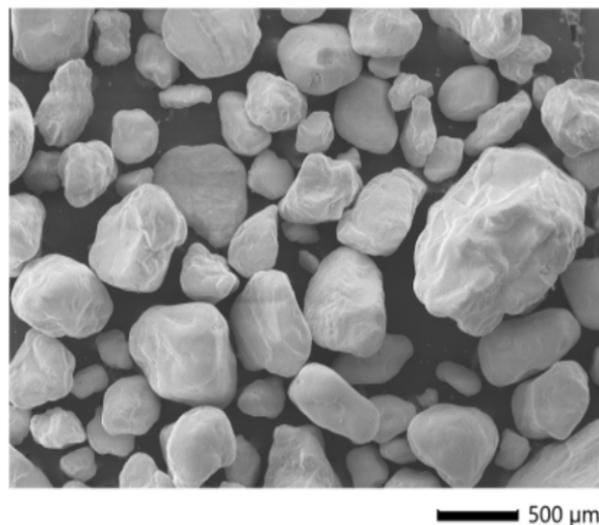


FIGURE 3.3 – Observation par le MEB de l'échantillon de sable avant traitement par MICP

L'image obtenue par Microscopie Électronique à Balayage (MEB) de l'échantillon de sable, avant tout traitement par biocimentation induite par des microorganismes (MICP), révèle les caractéristiques morphologiques initiales des grains. L'observation microscopique met en évidence une distribution indépendante de chaque particule, sans formation d'agrégats, confirmant l'absence d'interactions physiques ou chimiques préexistantes entre les grains.

La morphologie des particules observées montre une prédominance de grains sub-angulaires à arrondis. Cette variation dans la forme des grains peut être attribuée à des processus de transport et d'altération, les particules sub-angulaires étant potentiellement moins altérées que les grains plus arrondis, témoins d'un transport plus prolongé. En ce qui concerne la texture de surface, plusieurs grains présentent des stries visibles, caractéristiques d'une usure mécanique due à des frottements ou à des chocs durant le transport. À l'inverse, certaines particules présentent une surface lisse, suggérant une altération chimique sous l'influence de conditions

environnementales spécifiques, telles que l'exposition à des solutions acides ou à des cycles d'humidité et de sécheresse.

Les résultats obtenus par microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à un EDS sont les suivants :

Element	Masse %
O	40,36
Mg	1,3
Al	4,82
Si	39,19
Ca	2,23
Fe	12,1
Total	100

FIGURE 3.4 – Résultats de l'analyse MEB-EDS de sable pré-traité

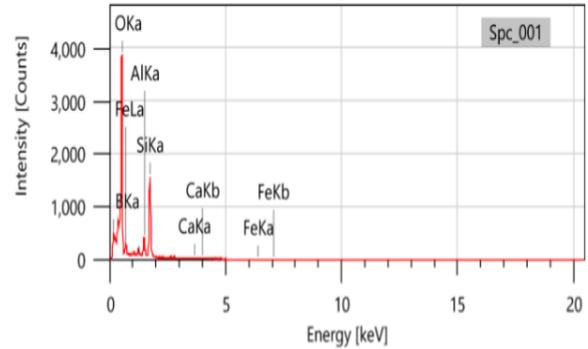


FIGURE 3.5 – Spectre des résultats MEB-EDS

Les résultats révèlent la présence d'éléments chimiques majeurs dans l'échantillon de sable, avec des pourcentages significatifs. Les éléments dominants incluent 40,36% d'oxygène, 39,19% de silicium, indiquant une forte présence de quartz (SiO), typique des sables siliceux. La teneur en fer (12,1%) est notable et pourrait correspondre à des oxydes de fer (hématite, goéthite), souvent associés aux environnements sédimentaires altérés. De plus, de l'aluminium, du magnésium sont également détectés en tant qu'éléments traces, avec des pourcentages inférieurs à 5% suggèrent la présence de minéraux accessoires comme les feldspaths et les minéraux ferromagnésiens. [55].

Le calcium (2,23%), bien que présent en faible quantité, suggère la possible présence de carbonates, tels que la calcite. Toutefois, il est important de souligner que ces résultats ne fournissent pas une base chimique définitive, mais plutôt une indication préliminaire concernant les interactions futures avec le processus de biocimentation induite par des microorganismes (MICP).

3.2.4 Analyse granulométrique :

TABLE 3.1 – Résultats de l’analyse granulométrique

Analyse granulométrique			
Diamètre du tamis (mm)	Refus (g)	Refus cumulés (g)	Refus cumulés (%)
1,6	363	765	100,00%
1	92	402	52,55%
0,5	83	310	40,52%
0,25	79	227	29,67%
0,125	111	148	19,35%
0,063	29	37	4,84%
0,001	8	8	1,05%
Total :	765		

L’analyse granulométrique a été réalisée avec une attention particulière à la sélection des tamis, couvrant une plage de tailles de 0,063 mm à 1,6 mm, en accord avec les recommandations pour le processus de biocimentation induite par microorganismes (MICP). Les résultats montrent que :

- Particules < 0,063 mm : Faible proportion de 6,89 %, exclues de l’analyse car elles ne sont pas optimales pour le MICP.
- Particules entre 0,063 mm et 1,6 mm : représentent 64,68% de l’échantillon, couvrant la plage idéale pour une précipitation uniforme de calcite et une solidification efficace.
- Particules > 1,6 mm : Exclues en raison de leur faible surface spécifique et de la circulation accrue des fluides, ce qui peut nuire à la formation homogène de calcite et à la solidification du matériau.

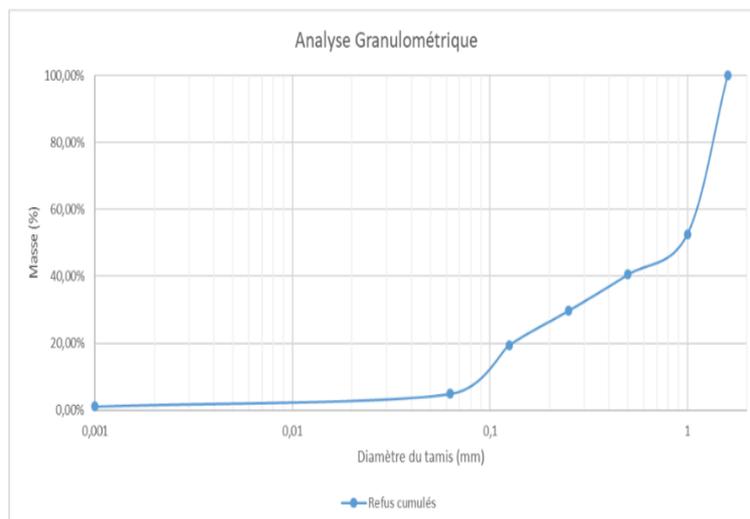


FIGURE 3.6 – Analyse granulométrique de l’échantillon de sable

Cette analyse a permis d'exclure les fractions de sable inférieures à 0,063 mm et supérieures à 1,6 mm, tout en conservant celles comprises entre ces deux dimensions. Ces fractions granulométriques sont optimales pour notre étude. Elles favorisent une précipitation uniforme de la calcite, ce qui améliore la cohésion et la solidification du sol traité.

3.2.5 Test de perméabilité de sable pré-traité

En mettant en œuvre les méthodes décrites dans le chapitre 2, nous avons procédé aux calculs suivants :

$$V = 20ml = 20 \times 10^{-6}m^3; t = 5min = 300s; L = 0.085m; A = 0.065m; H = 20ml = 0.00002m^3$$

Donc :

$$Q = \frac{20 \times 10^{-6}}{300} = 6.66 \times 10^{-8}m^3/s \quad (3.1)$$

Selon la loi de darcy :

$$K = \frac{Q \times L}{A \times \Delta H} = \frac{6.6610^{-8} \times 0.085}{0.065 \times 0.00002} = 4.23 \times 10^{-3}m/s \quad (3.2)$$

La perméabilité initiale de $K_1 = 4.23 \times 10^{-3}m/s$ indique que le sable est relativement perméable, ce qui est typique des sables non consolidés, où les particules ont peu de liaisons entre elles, permettant ainsi à l'eau de circuler librement.

3.2.6 Analyse Diffractométrie de rayons X (DRX) de sable pré-traité

Le tableau 3.2 présente les résultats de l'analyse par diffraction des rayons X (DRX) du sable avant traitement. Voici une interprétation détaillée de chaque composant identifié :

1. Quartz Low (SiO_2) : 89,3 % Le quartz représente 89,3 % de la composition du sable avant traitement, indiquant que le sable est principalement constitué de ce minéral. Cette haute proportion de quartz est typique des sables siliceux et montre que, avant tout traitement, le matériau est une source relativement pure de dioxyde de silicium (SiO_2).
2. Calcite ($CaCO_3$) : 1,5 % La présence de 1,5 % de calcite avant traitement montre que le sable contient très peu de carbonate de calcium. Cela signifie qu'il n'y a pas eu, ou très peu, de précipitation naturelle de $CaCO_3$ dans ce sable, suggérant que des processus comme la biocimentation n'ont pas encore eu lieu.
3. Microcline ($KAlSi_3O_8$) : 9,2 % La présence de 9,2 % de microcline indique que ce sable contient également une proportion notable de feldspaths. Bien que ce minéral ne soit pas aussi abondant que le quartz, sa présence est significative dans la composition globale du sable. Le microcline, comme le quartz, est un minéral stable et ne participe pas aux processus de précipitation microbienne de carbonate.

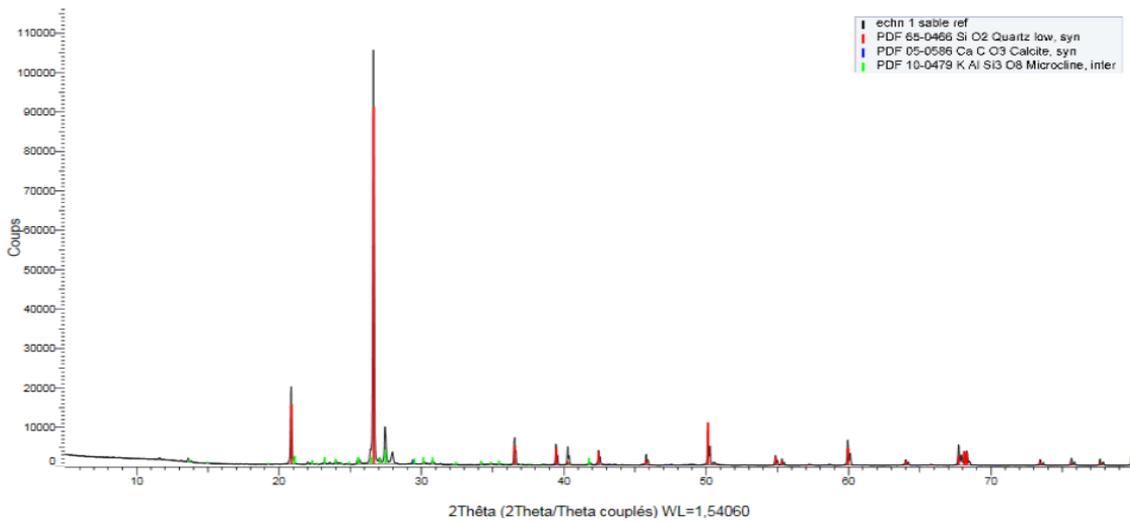


FIGURE 3.7 – Diffractomètre de l'échantillon de sable avant traitement

TABLE 3.2 – Résultats de l'analyse DRX de sable prétraité

icône	nom de composé	Formule	Masse %
	Quartz low	SiO ₂	89.3
	Calcite	CaCO ₃	1.5
	Microcline	KAlSi ₃ O ₈	9.2

3.3 Caractérisation durant le traitement MICP

3.3.1 Observation visuelle

Au cours des trois premiers jours du traitement par MICP, l'échantillon n'a montré aucun changement visuel significatif. Toutefois, à partir de la quatrième injection, des transformations notables ont été observées. Les espaces intergranulaires entre les grains de sable, visibles à travers le cylindre transparent, ont commencé à se remplir progressivement d'une substance blanche, indiquant probablement la précipitation de carbonates.

Une croûte blanche s'est développée à la surface de l'échantillon, entraînant une diminution marquée de la perméabilité. Cette croûte a considérablement restreint le flux du liquide de cimentation à travers l'échantillon, entravant une distribution uniforme et limitant son accès aux niveaux inférieurs.

Face à cette obstruction, il a été nécessaire, après la septième injection, de renverser le cylindre pour permettre l'injection du liquide de cimentation dans la partie inférieure. Cette mesure a permis de garantir une répartition complète du liquide et une solidification homogène de l'ensemble de l'échantillon.

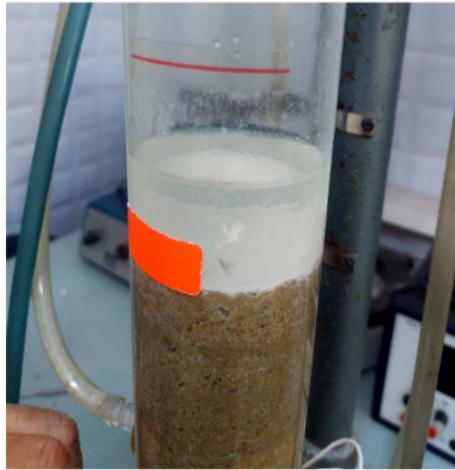


FIGURE 3.8 – La formation d’une croûte imperméable à partir de 4ème jour de l’injection

3.3.2 Suivi de l’évaluation de PH du milieu lors le processus de MICP

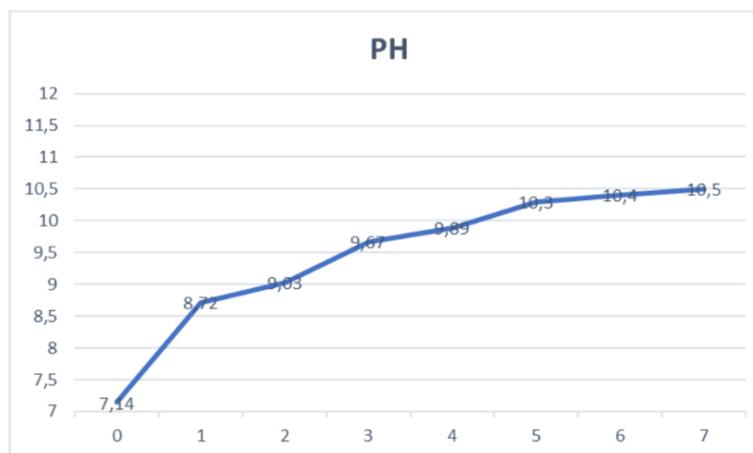


FIGURE 3.9 – Variation du pH au cours des jours de l’injection

Pendant le procédé de MICP, le pH commence à augmenter rapidement en raison de la production d’ammoniac par l’hydrolyse de l’urée (voir réaction 1.1), atteignant des niveaux basiques, ce qui permet la précipitation de la calcite. Le contrôle de cette évolution du pH est essentiel pour optimiser la précipitation des carbonates et l’efficacité du processus.

3.4 Caractérisation post- traitement MICP et rendement des essais

3.4.1 Résultats visuelles

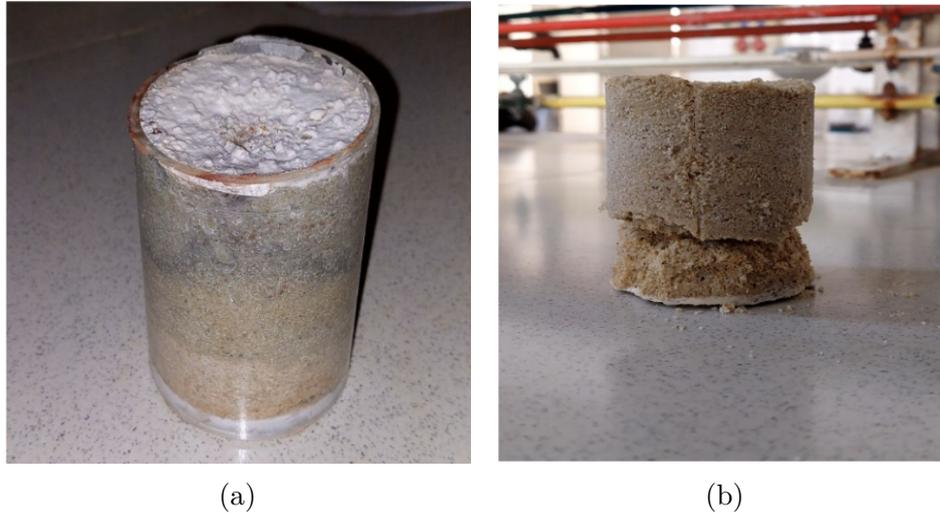


FIGURE 3.10 – L'échantillon de sable après traitement

L'image (a) montre l'échantillon de sable après traitement par MICP, encore dans son moule et avant son séchage complet. Une croûte blanche épaisse s'est formée sur l'une des extrémités de l'échantillon, bloquant progressivement le passage du liquide de cimentation à travers l'ensemble de l'échantillon. Ce phénomène de bouchage est survenu après la septième injection, à partir de laquelle le liquide de cimentation ne parvenait plus à infiltrer correctement les couches inférieures.

Pour pallier ce problème, nous avons inversé l'échantillon afin de permettre l'injection à partir de l'autre extrémité. Cette démarche a entraîné la formation d'une nouvelle croûte blanche sur cette seconde extrémité, résultant en une accumulation de carbonates (probablement la calcite) sur les deux faces de l'échantillon. Ainsi, à la fin du traitement, les deux extrémités étaient recouvertes d'une croûte blanche, témoignant d'une précipitation plus importante à ces points d'injection entraînant une précipitation accrue de carbonates (probablement de la calcite) sur les deux faces.

La présence de différentes nuances de couleurs dans l'échantillon est due à l'humidité résiduelle. Cette humidité indique des niveaux variables de saturation en liquide de cimentation.

La variabilité des couleurs au centre de l'échantillon pourrait aussi suggérer une précipitation moins intense ou des zones encore en cours de traitement. Des études complémentaires, notamment des tests de résistance mécanique et d'uniformité de la solidification, seraient nécessaires pour confirmer si cette différence de coloration se traduit par une hétérogénéité dans la distribution des carbonates.

Les résultats détaillés sur la précipitation et les variations de perméabilité, en relation avec cette observation visuelle, sont abordés dans le chapitre suivant, fournissant une analyse plus approfondie de la distribution des carbonates à l'échelle microscopique.

3.4.2 résultats minéralogiques

1. Analyse diffractométrie de rayons X (DRX) :

Le tableau ci-dessous présente les résultats de l'analyse par diffraction des rayons X (DRX) du sable traité par la précipitation microbienne de carbonate (MICP). Il met en évidence la composition minéralogique du sable après traitement, en indiquant les phases principales identifiées et leurs pourcentages massiques. L'interprétation qui suit permet de mieux comprendre le rôle de chaque composant dans le processus de bio-cimentation et ses implications sur les propriétés mécaniques du matériau traité.

- Quartz Low (SiO_2) 73,1 % : Principal composant inerte du sable, il ne subit pas de modification lors du processus MICP, mais sert de support aux autres transformations [56].
- Calcite ($CaCO_3$) 21,9 % : La calcite précipitée est le principal produit du traitement MICP, consolidant les grains de sable et augmentant la résistance mécanique du matériau.
- Microcline ($KAlSi_3O_8$) 5 % : Minéral accessoire stable, il ne participe pas au processus MICP mais est présent en faible proportion dans le sable traité.

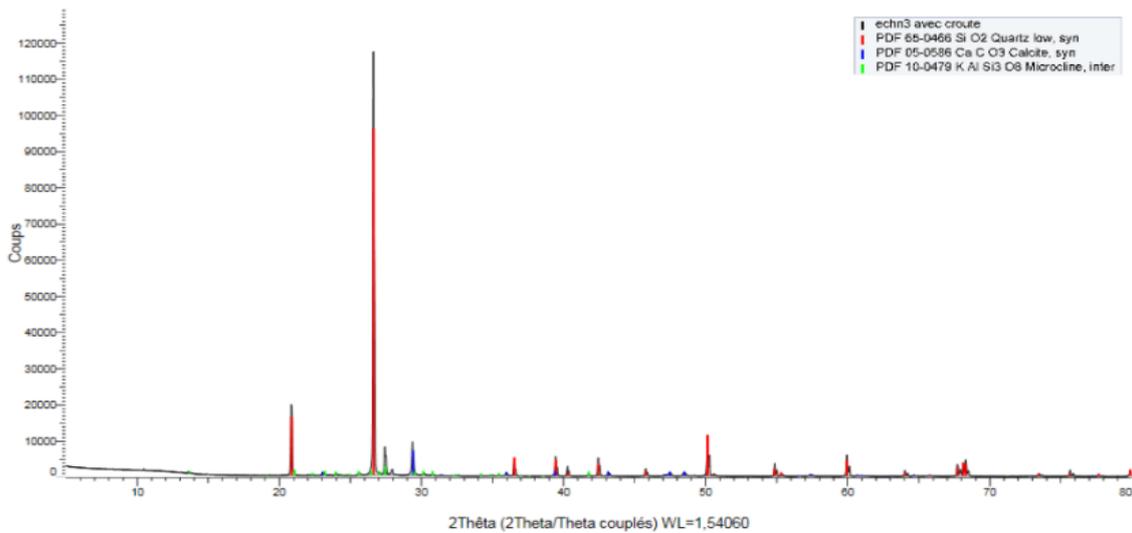


FIGURE 3.11 – Diffractomètre échantillon de sable traité

TABLE 3.3 – Résultats de l'analyse DRX su sable traité

icône	nom de composé	Formule	Masse %
	Quartz low	SiO2	73,1
	Calcite	CaCO3	21,9
	Microcline	KAlSi3O8	5

Après le traitement par MICP, une forte augmentation de la calcite est observée. Cela confirme l'efficacité du processus MICP pour précipiter la calcite, qui joue un rôle clé dans la consolidation des grains de sable. Le Quartz et le microcline restent présents en proportions similaires avant et après le traitement, sans changement significatif dû au processus.

2. Microscopie électronique à balayage (MEB du sable traité)

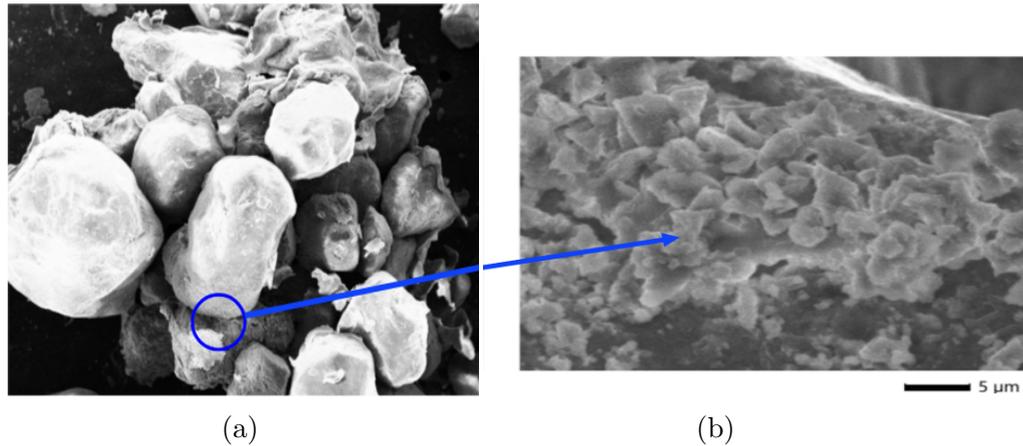


FIGURE 3.12 – a) Observation sous MEB de l'échantillon de sable après traitement par MICP b) Agrandissement de la zone entre deux particules de sable

L'analyse MEB de l'échantillon de sable après traitement MICP a révélé des transformations importantes dues à l'activité bactérienne. À une échelle de $100\ \mu\text{m}$, les images montrent que les grains de sable sont enrobés de précipitations de carbonate de calcium, formées lors du processus de biocimentation. Ces dépôts apparaissent sous forme de couches entourant les grains et connectant les particules entre elles, contribuant ainsi à la solidification de l'échantillon.

Le cercle bleu met en évidence une zone d'intérêt où deux particules de sable sont solidement cimentées l'une à l'autre par des dépôts de carbonate de calcium. Lorsqu'on agrandit cette zone à une échelle de $5\ \mu\text{m}$, la structure fine des dépôts devient plus distincte. On observe des cristaux de carbonate de calcium formés dans la zone intergranulaire, présentant une morphologie caractéristique de la calcite, telle que décrite par Ševčík R. dans son étude sur les propriétés physiques et nanomécaniques des polymorphes cristallins anhydres de CaCO_3 [57]. Les images de son article confirment la structure cristalline typique de la calcite observée ici. Cette précipitation sous forme de calcite démontre l'efficacité du processus MICP pour combler les interstices entre les grains et former un réseau solide.

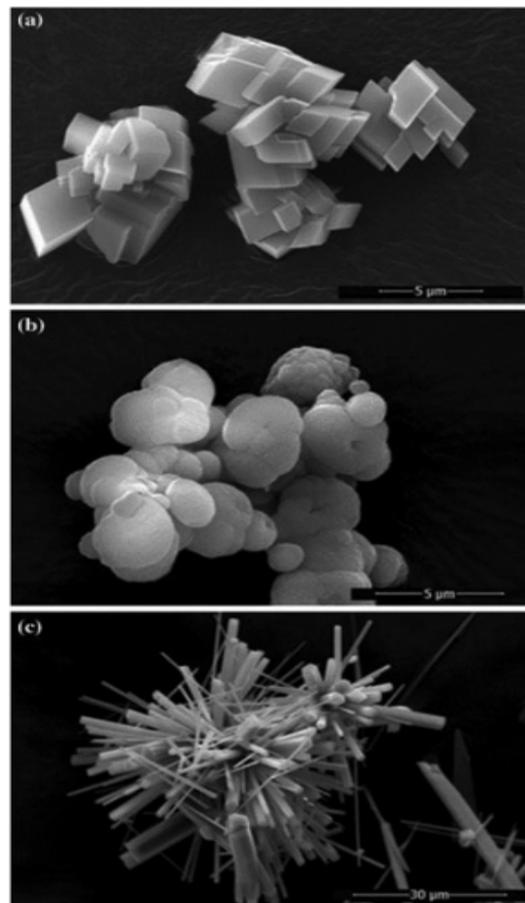


FIGURE 3.13 – Morphologies cristallines du CaCO_3 . Les images de la calcite (a), de la vaterite (b), et de l'aragonite (c) ont été recueillies par microscopie électronique à balayage. [57]

Element	Masse %
O	48,82
Na	0,28
Si	0,42
S	0,84
Ca	48,64
Mg	0,44
Fe	0,56
Total	100

FIGURE 3.14 – résultats MEB-EDS après traitement par MICP

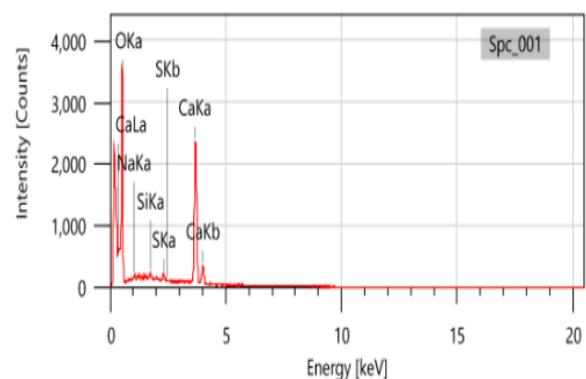


FIGURE 3.15 – spectre des résultats MEB-EDS après traitement par MICP

L'analyse révèle une augmentation significative de l'oxygène (48,82 %), cohérente avec la formation de carbonates (CaCO_3) pendant le processus MICP. Ce composant est abondamment présent à la surface des échantillons biocimentés, où il se lie avec le calcium, qui lui, est mesuré à 48,64 %, reflétant la précipitation de carbonate de calcium (CaCO_3), principal produit du MICP. Cette augmentation, par rapport aux 2,23 % mesurés avant traitement, confirme la formation de calcite sur les grains de sable et une biocimentation réussie. En ce qui concerne les éléments en concentrations inférieures à 5 %, considérés

comme traces, on a le soufre, le magnésium, le sodium et le fer. Le silicium, quant à lui, a considérablement diminué à 0,42 %, par rapport aux 39,19 % initiaux, ce qui indique que la surface analysée est principalement recouverte par les particules de calcite ($CaCO_3$), avec peu de silicates (SiO_2) encore exposés.

La comparaison des résultats avant et après traitement met en évidence une transformation significative de la composition chimique de la surface de l'échantillon. Le processus MICP a conduit à une augmentation notable du calcium et de l'oxygène, confirmant la formation de carbonate de calcium ($CaCO_3$).

3.4.3 Résultats des essais physico-mécaniques

3.4.3.1 Résultats de l'essai de perméabilité

En appliquant les méthodes décrites dans le chapitre 2, nous avons procédé aux mesures suivantes :

$$V = 8ml = 8 \times 10^{-6}m^3; t = 5min = 300s; L = 0.085m; A = 0.065m; H = 20ml = 0.00002m^3$$

Donc :

$$Q = \frac{8 \times 10^{-6}}{300} = 2.66 \times 10^{-8}m^3/s \quad (3.3)$$

Selon la loi de darcy :

$$K = \frac{Q \times L}{A \times \Delta H} = \frac{2.6610^{-8} \times 0.085}{0.065 \times 0.00002} = 1.73 \times 10^{-3}m/s \quad (3.4)$$

La perméabilité diminue à $K_2 = 1.73 \times 10^{-3} m/s$ Cela signifie que le traitement par MICP a considérablement réduit la capacité du sable à laisser passer les fluides. Le processus de précipitation du carbonate de calcium a permis de combler les pores et de réduire la taille des canaux de passage des fluides.

- Variation de perméabilité :

$$\Delta K = \frac{K_1 - K_2}{K_1} \times 100 = \frac{4.23 \times 10^{-3} - 1.73 \times 10^{-3}}{4.23 \times 10^{-3}} \quad (3.5)$$

$$\Delta K = 59.10\%$$

La diminution de la perméabilité de près de 59 % montre que le traitement par MICP a été efficace pour bloquer une grande partie des interstices du sable. Cela témoigne du succès de la technique MICP pour améliorer la résistance à la perméabilité du sol, le rendant plus dense et moins propice à l'écoulement de l'eau.

3.4.3.2 Résultats de l'essai de résistance à la compression

on a

$$F = 3.2kN = 3200N$$

$$A = \pi \times \left(\frac{d}{2}\right)^2 = 0.000331831m^2$$

$$\sigma = \frac{F}{A} \simeq 1MPa \quad (3.6)$$

Le sable non traité a une faible résistance mécanique, souvent inférieure à **0.1 MPa** [54], car les grains de sable glissent facilement les uns sur les autres. Il ne peut pas supporter des charges élevées sans se déformer.

Une résistance de **1 MPa** témoigne de l'efficacité du traitement par MICP pour créer des liaisons solides entre les particules de sable. Cela équivaut à la résistance de certains sols consolidés ou de matériaux faiblement cimentés. Une résistance de **1 MPa** est suffisante pour plusieurs applications d'ingénierie géotechnique, comme le renforcement des sols, la stabilisation des talus ou la réduction de la liquéfaction dans les zones sismiques.

Cela peut également rendre le sable traité par MICP utilisable dans la fabrication de matériaux de construction comme des briques de sol cimentées ou des remblais plus stables.

3.4.4 Comparaisons des résultats

TABLE 3.4 – Tableau de comparaison des résultats avant et après traitement par biocalcification

Analyse	Résultat pré-traitement	Résultats après traitement
Analyse morphologique par MEB	-Distribution indépendante des grains de sables. -L'absence d'interactions physiques ou chimiques préexistantes entre les grains	-Des dépôts apparaissent sous forme de couches entourant les grains et connectant les particules entre elles. -L'agrandissement des dépôts permet de confirmer que leur morphologie correspond a celle caractéristique de la calcite
Test de permeabilite	$4.23 \times 10^{-3}m/s$	$1.73 \times 10^{-3}m/s$
Test de resistance a la compression	0.1 MPa	1 MPa
Analyse mineralogique par DRX	Teneur en calcite $CaCO_3 = 1.5\%$	Teneur en calcite $CaCO_3 = 21.9\%$

Le traitement MICP a considérablement amélioré la structure et les propriétés du sable. Morphologiquement, les particules de sable sont désormais liées par des dépôts de calcite, ce qui explique la réduction de la perméabilité et l'augmentation de la résistance à la compression. La teneur accrue en calcite confirme l'efficacité du processus, qui a transformé un sable meuble en un matériau plus solide et cohésif, adapté à des applications de renforcement de sol.

3.5 Conclusion

Ce chapitre présente les résultats et l'interprétation du traitement MICP pour l'amélioration des propriétés des sables. Les données, de la caractérisation pré-traitement aux tests post-traitement, confirment l'efficacité de la méthode. La formation de carbonate de calcium ($CaCO_3$), vérifiée par les analyses MEB-EDS et DRX, a considérablement augmenté la résistance à la compression des échantillons et réduit leur perméabilité. Ces améliorations structurelles démontrent le potentiel du MICP pour stabiliser les sols de manière durable et écologique. le rendant une solution prometteuse pour les applications géotechniques tout en soutenant les objectifs de durabilité environnementale.

Conclusion générale

En conclusion de ce mémoire de fin d'étude sur l'amélioration des propriétés des sables par la méthode de biocimentation induite par des microorganismes (MICP), nous pouvons affirmer que le MICP est une approche efficace et prometteuse pour renforcer les sables et optimiser leur stabilité. Le ciment joue un rôle essentiel dans notre société moderne, étant un matériau de construction fondamental, mais son impact environnemental et la gestion des émissions de CO_2 liées à sa production posent des défis considérables. La demande croissante en ciment, associée à la pression pour réduire les émissions de gaz à effet de serre, nécessite le développement de méthodes alternatives plus durables.

Le procédé MICP, qui utilise des microorganismes pour précipiter le carbonate de calcium, offre de nombreux avantages par rapport aux méthodes de stabilisation des sols conventionnelles. Son fonctionnement à température et pression ambiantes réduit les besoins énergétiques ainsi que les émissions de gaz nocifs, en faisant une solution plus respectueuse de l'environnement.

Cette étude a exploré et adapté le procédé de biocimentation par précipitation de calcite induite par des microorganismes (MICP) pour l'amélioration des sols sableux. Elle a d'abord abordé les aspects du pré-traitement, avec la caractérisation initiale du sable en termes de granulométrie, porosité et résistance. L'inoculation du sable avec la bactérie *Sporosarcina pasteurii*, capable d'hydrolyser l'urée pour induire la précipitation du carbonate de calcium ($CaCO_3$), a ensuite été réalisée. Les divers paramètres du traitement MICP ont été optimisés, notamment la concentration en urée et en calcium, ainsi que les conditions de croissance bactérienne. Les échantillons traités ont été soumis à des tests de résistance à la compression, de perméabilité, ainsi qu'à des analyses minéralogiques par DRX et MEB-EDS pour évaluer la précipitation du $CaCO_3$.

Les résultats de cette étude ont démontré une réduction significative de la perméabilité des échantillons de sable de 59 %, ainsi qu'une augmentation notable de la résistance à la compression, passant de 0,1 MPa à 1,0 MPa. Ces résultats confirment l'amélioration substantielle des propriétés mécaniques du sable grâce à la précipitation du carbonate de calcium ($CaCO_3$) induite par le processus MICP. L'analyse post-traitement a révélé que la teneur en $CaCO_3$ a augmenté de plus de 10 fois, validant l'efficacité de la cimentation et le potentiel de ce procédé pour des applications géotechniques, notamment dans la stabilisation des sols et les travaux de construction.

Cette recherche a des implications importantes pour les solutions durables en ingénierie géotechnique, en démontrant que le MICP constitue une approche écologique et efficace pour améliorer les propriétés des sols tout en réduisant leur perméabilité. En intégrant ce procédé respectueux de l'environnement, cette étude contribue à l'avancement de technologies durables pour la gestion et l'utilisation responsable des ressources naturelles.

Cependant, certains aspects de l'étude sur le MICP n'ont pas pu être abordés due au temps relativement court de la période de PFE. Pour une recherche future, notamment au niveau

d'une thèse de doctorat, plusieurs perspectives peuvent être envisagées :

- **Optimisation des conditions de précipitation de CaCO_3** : L'étude pourrait explorer différentes concentrations d'uréase, de substrats et de nutriments afin d'optimiser le rendement du processus de précipitation et de cimentation du carbonate de calcium.

- **Évaluation à long terme de la durabilité** : Une étude approfondie sur la stabilité à long terme des sols traités par MICP, en prenant en compte l'influence de divers facteurs environnementaux tels que les cycles de gel-dégel, l'humidité et les contraintes mécaniques.

- **Étude de la méthode d'injection** : Une analyse approfondie des différentes techniques d'injection pourrait être menée, en comparant l'injection continue, l'injection discontinue.

- **Influence des types de sol et des géométries de traitement** : Une analyse plus détaillée pourrait se concentrer sur l'effet du MICP sur différents types de sols (argileux, limoneux, etc.), ainsi que sur des configurations variées de traitement (injections en profondeur, surfaces larges, etc.).

- **Étude économique et environnementale** : Il serait utile d'évaluer les coûts de mise en œuvre du MICP à grande échelle et d'analyser ses avantages environnementaux par rapport aux méthodes traditionnelles de stabilisation des sols.

- **Étude sur l'utilisation des déchets de construction comme source de calcium** : Une analyse pourrait être menée pour évaluer l'utilisation des déchets de construction (tels que les déchets de béton, les gravats, etc.) comme source alternative de calcium pour le processus de précipitation de CaCO_3 .

Ces perspectives ouvrent la voie à des avancées futures dans le domaine de la stabilisation des sols, en rendant le processus MICP plus optimisé, durable et respectueux de l'environnement.

Bibliographie

- [1] Petersen S Herfort, D. Cement production : Focus on what really counts. *Cement International*, 8(4), 52-61., 2010.
- [2] F Wahl. The impact of cement manufacturing on climate change. *Journal of Sustainable Cement Production*, 12(3), 243-256., 2018.
- [3] World energy outlook 2018 – analysis - iea, 2018.
- [4] Cord-Ruwisch R. Shahin M.A Cheng, L. Cementation of sand soil by microbially induced calcite precipitation at various degrees of saturation. *anadian Geotechnical Journal*, 50(1), 81-90., 2013.
- [5] Mortensen-B.M. Martinez B.C. Nelson D.C DeJong, J.T. Bio-mediated soil improvement. *Ecological Engineering*, 36(2), 197-210., 2010.
- [6] Taylor-J.L. Gresham T.L.T. Delwiche M.E. Colwell F.S. McLing T.L. et al. Fujita, Y. Stimulation of microbial urea hydrolysis in groundwater to enhance calcite precipitation. *Environmental Science Technology*, 42(8), 3025-3032., 2008.
- [7] Ronen-Z. Tsesarsky M. Gat, D. Soil bacteria population dynamics following stimulation for ureolytic microbial-induced CaCO_3 precipitation. *Environmental Science Technology*, 48(22), 13467-13476., 2014.
- [8] Kavazanjian-E. Rittmann B.E Hamdan, N. Bio-cementation of sands for improvement of earthquake-induced soil liquefaction. *Geo-Congress 2013 : Stability and Performance of Slopes and Embankments*, 2013.
- [9] Graddy C.M.R. DeJong J.T. Nelson D.C Gomez, M. stimulation of native microorganisms for biocementation in samples recovered from field-scale treatment depth. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 144(1), 04017098., 2014.
- [10] Danuta Kolożyn-Krajewska Dorota Zielińska. Food-origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties : Review. *National library of medicine*, 2018.
- [11] Yuanyuan Chen al. Biomineralization forming process and bio-inspired nanomaterials for biomedical application. *Minerals (ISSN 2075-163X)*, 2019.
- [12] et al Arias, D. Microbially induced calcium carbonate precipitation (micp) for biocementation in sustainable construction. *Journal of Environmental Engineering*, Vol. 143(8), 04017050. DOI : 10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001253., 2017.
- [13] Berenjian-A Seifan, M. Microbially induced calcium carbonate precipitation : A widespread phenomenon in the biological world. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 4693-4708., 2019.
- [14] Cunningham A.B.-Gerlach R. Hiebert R. Hwang C. Lomans B.P. Westrich J. Mantilla C. Kirksey J. Esposito R. Spangler L. Phillips, A.J. Fracture sealing with microbially-induced calcium carbonate precipitation : A field study. *Environmental Science Technology*, 47(23), 14258-14266., 2013.
- [15] Achal-V. Cordoba A. Montañez C. Chaparro-Acuña, S.P. Microbial-induced carbonate precipitation (micp) and its potential in bioengineering : A review. *Biotechnology Reports*, 15, 84-93., 2017.

- [16] MUSKHAZLI MUSTAFA1* ABDULAZIZ ALIYU DARDAU1, 2 and NOR AZ-WADY ABD AZIZ. Microbial-induced calcite precipitation : A milestone towards soil improvement. *Malays. Appl. Biol.* (2021) 50(1) : 11–27, 2021.
- [17] van Loosdrecht M.C.M. Roeselers, G. Microbial phytase-induced calcium-phosphate precipitation– a potential soil stabilization method. *Folia Microbiol* 55 (6) : 621–624, 2010.
- [18] V.S. Whiffin. Microbial caco3 precipitation for the production of biocement. *Phd thesis, Murdoch University, Western Australia*, 2004.
- [19] Tekleweyni Gebremicael Kidanemariam a Haile Kidane Gebretinsae Kbrom Alebel Gebru a. Bio-cement production using microbially induced calcite precipitation (micp) method : A review. *Chemical Engineering Science* 238 (2021) 116610, 2021.
- [20] Olivier Girinsky. Pré-industrialisation d'un procédé de consolidation de sol par biocalcification in situ. *Sciences du Vivant [q-bio]. Université d'Angers, 2009*, 2009.
- [21] Stabnikov et al. Microbial biocementation of sand using spores of *Bacillus pasteurii*. *Journal of Biotechnology*, 2011.
- [22] Mortensen B.M. Martinez B.C. Nelson D.C. DeJong, J.T. Bio-mediated soil improvement. *Ecological Engineering*, 36(2), 197-210., 2010a.
- [23] Bing Li. Geotechnical properties of biocement treated sand and clay. *Doctoral thesis, Nanyang Technological University, Singapore.*, 2015.
- [24] Chu et al. A review of the biotechnological applications of biofilms for wastewater treatment. *Journal of Environmental Management*, 2009.
- [25] Kirihara et al. Development of a microbial fuel cell using an electrically conductive polymer membrane. *Journal of Power Sources*, 2007.
- [26] Hansen T.A. Widdel F. Rabus, R. Dissimilatory sulfate- and sulfurreducing prokaryotes. *In D. Martin, The Prokaryotes (659-768). New York : Springer.*, 2006.
- [27] K. Konhauser. Introduction to geomicrobiology. *Wiley-Blackwell.*, 2007.
- [28] R. H. Karol. Chemical grouting and soil stabilization. *New York, M. Dekker*, 2003.
- [29] P. Vandevivere, P. Baveye. Relationship between transport of bacteria and their clogging efficiency in sand columns. *Applied Environ. Microb.* 58(8) : 2523-2530., 1992.
- [30] Cheng X.H. Li M. Guo, H.X. Experimental analysis of bio-stimulated sealing process in environmental geotechnical engineering. *Science China Technological Sciences* 56 (3) : 732–738, 2013.
- [31] Chu J. Ivanov, V. Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 7 : 139-153., 2008.
- [32] Wang J.Y. Wang R.X. Cheng L. Qian, C.X. Corrosion protection of cement-based building materials by surface deposition of caco3 by *Bacillus pasteurii*. *Materials Science and Engineering : C* 29(4) : 1273–1280., 2009.
- [33] Pan Q.F. Wang R.X. Qian, C.X. Development of a microbial fuel cell using an electrically conductive polymer membrane. *Cementation of sand grains based on carbonate precipitation induced by microorganism.*, 2010a.
- [34] Wang R.X. Cheng L. Wang J.Y. Qian, C.X. Theory of microbial carbonate precipitation and its application in restoration of cement-based materials defects. *Chinese Journal of Chemistry* 28(5) : 847–857, 2010b.
- [35] H.E. Mohamed, A.M.O. Antia. Geoenvironmental engineering. amsterdam. *Elsevier*, 1998.
- [36] Kuhad R.C. Ward O.P. Singh, A. Advances in applied bioremediation. *Springer Berlin Heidelberg*, 2006.
- [37] Ferris F.G. . Mitchell, A.C. The coprecipitation of sr into calcite precipitates induced by bacterial ureolysis in artificial groundwater : temperature and kinetic dependence. *Geochim Cosmochim Acta* 69 : 4199–4210, 2005.

- [38] J.C. Mitchell, J.K. Santamarina. Biological considerations in geotechnical engineering. *Journal of the Geotechnical and Geoenvironmental Engineering Division, ASCE 131(10) : 1222-1233.*, 2005.
- [39] DeJong J.T. Mortensen, B.M. Strength and stiffness of micp treated sand subjected to various stress paths. *GeoFrontiers : Adv Geotech Eng :4012-4020*, 2011.
- [40] B. St-Onge. Soil stabilization using biocementation : A laboratory-scale study. *Canadian Geotechnical Journal, 53(9), 1426-1440*, 2016.
- [41] Cheng X.H. Li M.. Guo, H.X. Experimental analysis of bio-stimulated sealing process in environmental geotechnical engineering. *Science China Technological Sciences 56 (3) : 732-738*, 2013.
- [42] Galinat J.K. Bang S.S. Stocks-Fischer, S. Microbiological precipitation of CaCO_3 . *Soil Biology and Biochemistry 31 : 1563-1571.*, 1999.
- [43] R Cheng, L. Cord-Ruwisch. Upscaling biocementation by surface percolation for stabilization of sand. *Geotechnical and Geological Engineering, 32(2), 245-250.*, 2014.
- [44] Martinez et al. Experimental optimization of microbial-induced carbonate precipitation for soil improvement. *J. Geotech. Geoenviron. Eng. 139 : 587-598.*, 2013.
- [45] M. Ozdogan. Ground improvement by means of biocementation. *Doctoral dissertation, Middle East Technical University*, 2010.
- [46] Cuthbert M.O.-Greswell R.B. Riley M.S. Renshaw J.C. Handley-Sidhu S. Phoenix V.R. Tobler, D.J. Comparison of rates of ureolysis between *Sporosarcina pasteurii* and an indigenous groundwater community under conditions required to precipitate large volumes of calcite. *Geomicrobiology Journal, 28(5-6), 519-530*, 2011.
- [47] L.A. Van Paassen. Bio-mediated ground improvement : From laboratory experiment to pilot applications. *Proceedings of the 17th International Conference on Soil Mechanics and Geotechnical Engineering*, 2009.
- [48] R Cheng, L. Cord-Ruwisch. Upscaling effects of soil improvement by microbially induced calcite precipitation by surface percolation. *Geomicrobiology Journal, 28(5-6), 519-530*, 2014.
- [49] Welsh C. Cappuccino, J. G. Microbiology : A laboratory manual (12th ed.). *Pearson. ISBN : 9780134298606.*, 2017.
- [50] Kahlon H. S. Kumar, A. Microbial concrete : A bio-based material for sustainable construction. *Materials Today : Proceedings, 32, 923-928.*, 2020.
- [51] Newbury D. E. Joy D. C. Lyman C. E.-Echlin P. Lifshin E. ... Michael J. R. Goldstein, J. Microbial concrete : A bio-based material for sustainable construction. *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis (4th ed.)*, 2017.
- [52] Bolton M. Schofield A. Springman, S. The role of the grain size distribution in micp effectiveness. *Journal of Soil Mechanics, 18(3), 287-295.*, 1991.
- [53] R. F. Craig. Soil mechanics. 2004.
- [54] van Paassen L. A. Harkes M. P. Whiffin, V. S. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique. *Geomicrobiology Journal, 24(5), 417-423.*, 2007.
- [55] Soga K. Kavazanjian E. Burns S. van Paassen L.A.-Al Qabany A. et al DeJong, J.T. Biogeochemical processes and geotechnical applications : Progress, opportunities and challenges. *Géotechnique, 63(4), 287-301. DOI : 10.1680/geot.SIP13.P.017...*, 2013.
- [56] B. M Das. Principles of geotechnical engineering (8th ed). *Cengage Learning.*, 2015.
- [57] R.L. Folk. Folk, r.l. (1974). petrology of sedimentary rocks. hemphill publishing company. *Austin, Texas*, 1974.