

UNIVERSITÉ D'ORLÉANS

ÉCOLE DOCTORALE :

« Énergie, Matériaux, Sciences de la Terre et de l'univers »

Laboratoire de Mécanique Gabriel Lamé

THÈSE présentée par :

Mohamad EL HAJJAR

Soutenue le : **11 décembre 2023**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université d'Orléans**

Discipline/ Spécialité : **Génie civil**

**Impact des microorganismes sur le comportement des
matériaux biosourcés pour le bâtiment**

JURY :

| | |
|-----------------------------|--|
| M. AIT-MOKHTAR Karim | Professeur, Université de La Rochelle, Président de jury |
| M. ZENTAR Rachid | Professeur, IMT Nord Europe, Rapporteur |
| M. ROZIERE Emmanuel | Professeur, Ecole Centrale de Nantes, Rapporteur |
| Mme. PROROT Audrey | Maitre de conférences HDR, Université de Limoges, Examinatrice |
| Mme. BELAYACHI Naima | Professeur, Université d'Orléans, Directrice de thèse |
| M. BOURGERIE Sylvain | Maitre de conférences HDR, Université d'Orléans, Co-encadrant de thèse |

Remerciements

Au cours de mes trois années de doctorat, mes travaux de recherche menés au sein du laboratoire de mécanique Gabriel Lamé à l'Université d'Orléans, de 2020 à 2023, ont abouti à d'importants résultats concernant la durabilité des matériaux biosourcés à base de granulats végétaux en relation avec le développement microbien. Je tiens ainsi à exprimer ma profonde gratitude envers toutes les personnes ayant contribué au succès de ce travail de recherche.

En tout premier lieu, je tiens à adresser mes remerciements à la Région Centre Val de Loire pour avoir soutenu financièrement le projet MATBIO, au sein duquel ma thèse est inscrite. Je souhaite exprimer ma reconnaissance envers le Laboratoire Lamé, pour m'avoir offert l'environnement et les moyens de travail tout au long de mes trois années de thèse. Je n'oublie pas de mentionner le laboratoire LBLGC, qui m'a accueilli pour la partie microbiologie.

Mes premiers mots de reconnaissance vont à Mme. Naima BELAYACHI, ma directrice de thèse, qui a été présente à mes côtés tout au long de ce parcours. Elle m'a formé, guidé, et motivé lors des moments complexes. Elle a su valoriser mes compétences et me faire confiance. Ses qualités humaines et professionnelles sont une source d'inspiration et je la considère comme un excellent exemple à suivre dans ma carrière, tant sur le plan professionnel que personnel. Un sincère merci pour tout ce qu'elle m'a apporté.

Je tiens également à remercier M. Sylvain BOURGERIE, mon co-encadrant, qui a également été constamment présent et disponible. Il m'a initié au domaine de la microbiologie, une discipline totalement nouvelle pour moi. Cette découverte fut des plus enrichissantes malgré sa complexité. Sur le plan humain, je ne peux que saluer son engagement. Mes remerciements lui sont sincères.

Au-delà de ma directrice et de mon co-encadrant, d'autres personnes ont contribué à ma thèse. Je pense en premier lieu à M. Christian DEFARGE pour son expertise dans l'analyse Cryo-HRSEM et chromatographique, à Mme. Fabienne BRULE pour la formation en microbiologie, à Mme. Audrey DUFOUR pour les analyses ioniques, et à Mme. Virginie BAZIN pour les observations par Cryo-HRSEM.

Je saisis également l'occasion pour exprimer ma reconnaissance envers les membres du jury qui ont accepté d'évaluer mon manuscrit et le travail de ma thèse. Je suis profondément reconnaissant pour leur engagement et leur soutien tout au long de ce processus, et je les remercie chaleureusement pour leur contribution. Leurs remarques et leurs commentaires éclairés ont été grandement enrichissants pour mes recherches et également pour mon développement personnel.

À mes amis doctorants, Dalia ALMOHAMAD, Mohamad DAHER, Raghed ALTHIB, Zeyad ALSHNDAAH, Zaynab DIAB, Malek BALAWI, Chafic ACHOUR, ainsi que les autres avec qui j'ai partagé des échanges, des rires et des moments précieux, je leur adresse un sincère remerciement. Ces souvenirs sont gravés dans ma mémoire.

Je dédie un immense merci à mes proches, à mes amis Dalia ALMOHAMAD, Mohamad HARAKE, Abed TALEB, et à tous les autres, pour leur soutien, leur motivation et leur présence infaillible à mes côtés. Vraiment, merci du fond du cœur.

Enfin, je réserve un énorme remerciement à ma famille : mon père, ma mère, mes deux petits frères, mes cousins et cousines, pour avoir été à mes côtés depuis ma naissance et à chaque étape de ma vie jusqu'à aujourd'hui.

Résumé

Le développement des matériaux biosourcés à base de granulats végétaux est une solution alliant performance technique et environnementale. Cependant, leur comportement vis-à-vis de l'eau et plus particulièrement du développement des microorganismes est encore mal connu. Afin d'apporter les réponses nécessaires pour les intégrer dans le bâtiment, la recherche actuelle vise à comprendre et maîtriser leurs propriétés face aux fortes humidités et le risque de développement microbien. Dans ce contexte, cette thèse inscrite dans le cadre du projet région Centre Val de Loire, MATBIO, porte sur l'étude de l'impact du développement microbien sur les matériaux biosourcés à base de granulats végétaux utilisés dans l'isolation thermique et la réhabilitation énergétique des bâtiments. Les objectifs de cette recherche incluent l'évaluation des effets du développement microbien sur ces matériaux, la compréhension des mécanismes microstructuraux à l'origine du comportement macroscopique, ainsi que l'étude de traitements préventifs pour éviter ou réduire le développement microbien sur ces matériaux. L'étude a été menée sur quatre types de granulats végétaux et quatre biocomposites à base de ces granulats. Ces matériaux ont été soumis à un vieillissement accéléré dans des conditions favorisant le développement microbien. Tout d'abord, différentes caractérisations ont été réalisées sur ces matériaux pour évaluer l'effet du développement microbien sur les propriétés fonctionnelles des matériaux. Les caractérisations ont inclus des évaluations microbiologiques, mécaniques, thermiques, et physico-chimiques. Les tests de dénombrement ont montré que les granulats étaient initialement contaminés par des microorganismes avant le vieillissement, probablement en raison des conditions de stockage chez l'agriculteur. Pour les biocomposites, aucune contamination n'a été observée avant le vieillissement accéléré, probablement en raison de la présence de chaux, ayant une forte alcalinité. Cependant, tous les matériaux ont présenté une croissance microbienne significative après 12 mois de vieillissement. Par ailleurs, les observations cryo-HRSEM ont corroboré les constatations tirées des résultats obtenus pour les granulats et les biocomposites. La conductivité thermique et la masse volumique des granulats étudiés ont montré une légère diminution entre 0 et 3 mois et sont restés constantes jusqu'à 12 mois. De plus, la résistance mécanique, la conductivité thermique et la masse volumique des biocomposites ont montré des diminutions entre 0 et 12 mois et en particulier WaL, le biocomposite à base de paille de blé, de chaux, et d'additifs. Cette diminution des propriétés physiques des matériaux biosourcés étudiés est probablement attribuée à la dégradation de leur microstructure par les microorganismes. Ensuite, l'identification des souches bactériennes cultivables sur les biocomposites étudiés, a révélé trois genres bactériens : *Nocardiopsis* (présent sur tous les biocomposites), *Bacillus* et *Roseomonas* (présents sur le biocomposite WaL). Enfin, pour éviter les microorganismes, des traitements aux additifs antimicrobiens tels que la poudre de cuivre et le sulfate de cuivre ont été évalués à différentes concentrations. Ces traitements se sont avérés efficaces contre le développement microbien sans altérer significativement les propriétés fonctionnelles des biocomposites. Le traitement des biocomposites par la poudre de cuivre à une concentration de 3g/L constitue la solution la plus efficace pour prévenir de la contamination microbienne tout en maintenant les caractéristiques souhaitées des biocomposites.

Mots clés : matériaux biosourcés, durabilité, microorganismes, biodégradation, microstructure, granulats végétaux, vieillissement microbien, dénombrement, bactéries, champignons, conductivité thermique, résistance mécanique, identification microbiologique, traitement, additifs antimicrobiens.

Abstract

The development of bio-based materials using plant aggregates is a solution that combines technical performance and environmental benefits. However, their behavior towards water, especially concerning the growth of microorganisms, is still not well understood. In order to provide the necessary answers to integrate them into the construction sector, current research aims to understand and control their properties faced with high humidity and the risk of microbial growth. In this context, this thesis, conducted as part of the MATBIO project funded by Centre Val de Loire region, focuses on studying the impact of microbial development on bio-based materials using plant aggregates for thermal insulation and energy-efficient building rehabilitation. The objectives of this research include evaluating the effects of microbial growth on these materials, understanding the microstructural mechanisms underlying macroscopic behavior, and studying preventive treatments to avoid or reduce microbial growth on these materials. The study was conducted on four types of plant aggregates and four biocomposites based on these aggregates. These materials underwent accelerated aging in conditions conducive to microbial growth. First, various characterizations were performed on these materials to assess the effect of microbial growth on their functional properties. These characterizations included microbiological, mechanical, thermal, and physico-chemical evaluations. Enumeration tests showed that the aggregates were initially contaminated with microorganisms before aging, possibly due to storage conditions on the farm. For the biocomposites, no contamination was observed before accelerated aging, probably due to the presence of lime, which has high alkalinity. However, all materials exhibited significant microbial growth after 12 months of aging. Furthermore, cryo-HRSEM observations supported the findings obtained for the aggregates and biocomposites. The thermal conductivity and bulk density of the studied aggregates showed a slight decrease between 0 and 3 months, remaining constant up to 12 months. In addition, the mechanical strength, thermal conductivity, and bulk density of the biocomposites exhibited decreases between 0 and 12 months, especially for WaL, the biocomposite based on wheat straw, lime, and additives. This decrease in the physical properties of the studied bio-based materials is probably attributed to the degradation of their microstructure by microorganisms. Next, the identification of cultivable bacterial strains on the studied biocomposites revealed three bacterial genera: *Nocardiopsis* (present on all biocomposites), *Bacillus*, and *Roseomonas* (present on the WaL biocomposite). Finally, to prevent microbial growth, treatments with antimicrobial additives such as copper powder and copper sulfate were evaluated at various concentrations. These treatments proved to be effective against microbial development without significantly altering the functional properties of the biocomposites. Treating the biocomposites with a copper powder concentration of 3 g/L proved to be the most effective solution for preventing microbial contamination while maintaining the desired characteristics of the biocomposites.

Keywords: bio-based materials, durability, microorganisms, biodegradation, microstructure, vegetable aggregates, microbial aging, enumeration, bacteria, fungi, thermal conductivity, mechanical strength, microbiological identification, treatment, antimicrobial additives.

Sommaire

| | |
|--|----|
| Résumé | 4 |
| Abstract | 5 |
| Sommaire | 6 |
| Liste des figures | 12 |
| Liste des tableaux | 21 |
| Introduction générale..... | 23 |
| Chapitre 1 : Etat de l'art et revue bibliographique | 29 |
| 1.1. Introduction..... | 29 |
| 1.2. Matériaux biosourcés | 29 |
| 1.2.1. Développement des matériaux biosourcés | 29 |
| 1.2.2. Développement des matériaux biosourcés dans la Région Centre Val de Loire | 31 |
| 1.2.3. Propriétés des matériaux biosourcés..... | 32 |
| 1.2.3.1. Propriétés mécaniques | 32 |
| 1.2.3.2. Propriétés thermiques | 37 |
| 1.2.3.3. Propriétés hydriques | 40 |
| 1.3. Intérêt de l'étude de durabilité des matériaux | 44 |
| 1.3.1. Etude de vieillissement accéléré au laboratoire..... | 45 |
| 1.3.1.1. Vieillissement environnemental accéléré au laboratoire | 45 |
| 1.3.1.1.1. Comportement des matériaux vis-à-vis de l'humidification/séchage..... | 46 |
| 1.3.1.1.2. Comportement des matériaux vis-à-vis du gel-dégel | 48 |
| 1.3.1.1.3. Comportement des matériaux vis-à-vis de l'attaque aux sels..... | 51 |
| 1.3.1.2. Vieillissement biologique au laboratoire : biodégradation | 53 |
| 1.4. Microorganismes..... | 57 |
| 1.4.1. Généralités sur les microorganismes | 57 |
| 1.4.2. Types de microorganismes | 57 |
| 1.4.2.1. Bactéries | 57 |
| 1.4.2.2. Champignons..... | 58 |
| 1.4.2.3. Algues et cyanobactéries | 60 |
| 1.4.2.4. Biofilms..... | 60 |
| 1.4.3. Conditions de développement microbien | 61 |
| 1.4.3.1. Facteurs intrinsèques au matériau (bioréceptivité)..... | 62 |
| 1.4.3.1.1. Activité de l'eau (aw)..... | 62 |
| 1.4.3.1.2. Eléments nutritifs..... | 63 |
| 1.4.3.1.3. Propriétés physiques du matériau | 64 |
| 1.4.3.2. Facteurs extrinsèques environnementaux..... | 65 |

Sommaire

| | | |
|--------------|--|----|
| 1.4.3.2.1. | Humidité..... | 65 |
| 1.4.3.2.2. | pH..... | 66 |
| 1.4.3.2.3. | Température..... | 67 |
| 1.5. | Approches expérimentales pour l'étude des microorganismes au laboratoire..... | 69 |
| 1.5.1. | Méthodes d'échantillonnage des microorganismes..... | 69 |
| 1.5.1.1. | Ecouvillonnage..... | 69 |
| 1.5.1.2. | En vrac..... | 70 |
| 1.5.1.3. | Rubans adhésifs..... | 70 |
| 1.5.1.4. | Méthode de gélose contact..... | 70 |
| 1.5.2. | Approches expérimentales pour la quantification des microorganismes au laboratoire ... | 70 |
| 1.5.2.1. | Méthodes directes..... | 71 |
| 1.5.2.1.1. | Microscopie électronique à transmission (MET)..... | 71 |
| 1.5.2.1.2. | Cytométrie en flux..... | 71 |
| 1.5.2.1.3. | Méthodes indirectes : mise en culture des microorganismes..... | 72 |
| 1.5.3. | Approches expérimentales pour l'identification des microorganismes au laboratoire.. | 73 |
| 1.5.3.1. | Analyses phénotypiques par l'identification des composants chimiques/biochimiques..... | 73 |
| 1.5.3.2. | Approches moléculaires..... | 74 |
| 1.5.3.2.1. | Extraction de l'ADN..... | 74 |
| 1.5.3.2.2. | Méthode d'analyse par empreinte génétique..... | 75 |
| 1.5.3.2.3. | Méthodes d'analyse par hybridation génétique..... | 75 |
| 1.5.3.2.4. | Méthode d'analyse par séquençage génétique..... | 76 |
| 1.5.3.2.4.1. | Techniques de séquençage..... | 76 |
| 1.5.3.2.4.2. | Sélection des marqueurs génétiques 16S et 18S..... | 77 |
| 1.5.3.2.4.3. | Analyse des données de séquençage..... | 77 |
| 1.6. | Approches analytiques pour la prédiction de la croissance microbienne sur un matériau | 78 |
| 1.6.1. | Le modèle « Rapport de température »..... | 78 |
| 1.6.2. | Le modèle de Hens..... | 79 |
| 1.6.3. | Le modèle « Temps d'humidité »..... | 79 |
| 1.6.4. | Le modèle de Johansson..... | 80 |
| 1.6.5. | Le modèle biohygrothermal..... | 82 |
| 1.6.6. | Le modèle VTT..... | 84 |
| 1.6.7. | Comparaison des modèles analytiques..... | 87 |
| 1.7. | Traitements par des inhibiteurs de développement microbien..... | 88 |
| 1.7.1. | Microparticules de cuivre..... | 89 |
| 1.7.2. | Nanoparticules de cuivre..... | 90 |
| 1.7.3. | Nanoparticules d'oxyde de fer..... | 91 |

Sommaire

| | |
|---|-----|
| Bilan | 91 |
| Chapitre 2 : Matériaux, méthodes expérimentales et analytiques | 93 |
| 2.1. Introduction..... | 93 |
| 2.2. Matériaux étudiés..... | 95 |
| 2.2.1. Granulats végétaux..... | 95 |
| 2.2.2. Liant minéral : la chaux..... | 95 |
| 2.2.3. Additifs antimicrobiens | 95 |
| 2.3. Méthodes expérimentales..... | 96 |
| 2.3.1. Préparation des granulats..... | 96 |
| 2.3.2. Préparation des biocomposites | 97 |
| 2.3.2.1. Biocomposites sans additifs antimicrobiens..... | 97 |
| 2.3.2.2. Biocomposites avec additifs antimicrobiens | 97 |
| 2.3.2.3. Etapes de fabrication des biocomposites | 98 |
| 2.3.3. Préparation des liants..... | 99 |
| 2.3.4. Vieillissement accéléré du développement microbien | 100 |
| 2.3.5. Caractérisation des granulats | 101 |
| 2.3.5.1. Granulométrie..... | 101 |
| 2.3.5.2. Absorption d'eau | 102 |
| 2.3.5.3. Masse volumique apparente | 102 |
| 2.3.6. Caractérisations microbiologiques des matériaux | 102 |
| 2.3.6.1. Dénombrement des microorganismes | 102 |
| 2.3.6.1.1. Etapes de la technique de dénombrement..... | 102 |
| 2.3.6.1.2. Etude statistique des résultats de dénombrement | 104 |
| 2.3.6.2. Identification des microorganismes..... | 104 |
| 2.3.6.3. Test de tolérance au sulfate de cuivre des bactéries | 106 |
| 2.3.7. Caractérisations mécanique et thermique des matériaux..... | 107 |
| 2.3.7.1. Compression uniaxiale | 107 |
| 2.3.7.2. Mesure de la conductivité thermique..... | 107 |
| 2.3.7.2.1. Méthode du fil chaud..... | 107 |
| 2.3.7.2.2. Méthode fluxmétrique | 108 |
| 2.3.8. Caractérisations physico-chimiques des matériaux | 108 |
| 2.3.8.1. Chromatographie ionique | 108 |
| 2.3.8.2. pH et conductivité électrique..... | 109 |
| 2.3.8.3. Analyse thermogravimétriques ATG | 109 |
| 2.3.8.4. Observation au Cryo-HRSEM..... | 110 |
| 2.4. Modèles analytiques pour la prédiction analytique de la croissance microbienne | 111 |
| 2.4.1. Indices de microorganismes et pourcentage analytique de contamination..... | 111 |

Sommaire

| | | |
|----------|--|-----|
| 2.4.2. | Traitement d'image | 112 |
| 2.4.2.1. | Analyse d'image par le logiciel Leica | 112 |
| 2.4.2.2. | Calcul du pourcentage expérimental de contamination..... | 113 |
| | Bilan | 113 |
| | Chapitre 3 : Comportement des matières premières vis-à-vis du développement microbien | 115 |
| 3.1. | Introduction..... | 115 |
| 3.2. | Granulats végétaux..... | 116 |
| 3.2.1. | Caractérisation des granulats à l'état initial (avant le vieillissement accéléré) | 116 |
| 3.2.1.1. | Granulométrie..... | 116 |
| 3.2.1.2. | Absorption d'eau et masse volumique..... | 117 |
| 3.2.2. | Culture des microorganismes sur les granulats | 119 |
| 3.2.2.1. | Dénombrement des bactéries..... | 119 |
| 3.2.2.2. | Dénombrement des champignons..... | 120 |
| 3.2.2.3. | Comparaison des deux types de dénombrement..... | 122 |
| 3.2.2.4. | Evolution du pH et de la conductivité électrique pendant le développement microbien | 122 |
| 3.2.3. | Observations des microorganismes : visuelle et microscopique par Cryo-HRSEM | 124 |
| 3.2.3.1. | Sur la paille de blé (WS) | 125 |
| 3.2.3.2. | Sur la paille de colza (RS)..... | 126 |
| 3.2.3.3. | Sur l'écorce de tournesol (SB) | 128 |
| 3.2.3.4. | Sur la moelle de tournesol (SP) | 129 |
| 3.2.4. | Comparaison des résultats : dénombrement des microorganismes, observations visuelles et microscopiques par Cryo-HRSEM..... | 131 |
| 3.2.5. | Influence du développement microbien sur la conductivité thermique des granulats | 132 |
| 3.3. | Comportement du liant à base de chaux Tradical PF70 vis-à-vis des microorganismes | 135 |
| 3.3.1. | Dénombrement des bactéries et des champignons | 135 |
| 3.3.2. | pH et conductivité électrique..... | 136 |
| 3.3.3. | Masse volumique apparente | 138 |
| | Conclusion..... | 139 |
| | Chapitre 4 : Comportement des matériaux biosourcés vis-à-vis du développement microbien | 141 |
| 4.1. | Introduction..... | 141 |
| 4.2. | Culture des microorganismes en milieu solide sur les biocomposites..... | 141 |
| 4.2.1. | Dénombrement des bactéries et des champignons | 141 |
| 4.2.2. | Effet de l'hémoglobine et de la caséine sur la croissance microbienne sur les biocomposites paille-additifs (WaL) | 144 |
| 4.2.3. | Evolution du pH et de la conductivité électrique pendant la croissance microbienne | 146 |
| 4.3. | Observations des microorganismes : visuelle et microscopique par Cryo-HRSEM | 148 |

Sommaire

| | | |
|--------|--|-----|
| 4.3.1. | Sur le biocomposite WL..... | 149 |
| 4.3.2. | Sur le biocomposite WaL..... | 151 |
| 4.3.3. | Sur le biocomposite RL..... | 153 |
| 4.3.4. | Sur le biocomposite SL..... | 154 |
| 4.3.5. | Comparaison des résultats : dénombrement des microorganismes, observations visuelles et microscopiques par Cryo-HRSEM..... | 156 |
| 4.4. | Evolution des propriétés mécaniques et thermiques des biocomposites en fonction du développement microbien..... | 156 |
| 4.4.1. | Résistance mécanique..... | 156 |
| 4.4.2. | Conductivité thermique..... | 160 |
| 4.5. | Prédiction analytique de la croissance microbienne..... | 163 |
| 4.5.1. | Analyse d'image : mesure de la croissance microbienne sur la surface des biocomposites | 163 |
| 4.5.2. | Evolution du pourcentage expérimental de contamination (P_{exp}) en fonction du temps . | 164 |
| 4.5.3. | Evolution du pourcentage analytique de contamination (P_{ana}) en fonction du temps..... | 165 |
| 4.5.4. | Comparaison des résultats expérimentaux et analytiques..... | 166 |
| 4.5.5. | Analyse inverse : effet de la classe des matériaux..... | 166 |
| 4.5.6. | Adaptation du modèle VTT aux résultats expérimentaux..... | 168 |
| | Conclusion..... | 168 |
| | Chapitre 5 : Identification des microorganismes et traitement des biocomposites..... | 170 |
| 5.1. | Introduction..... | 170 |
| 5.2. | Identification des souches bactériennes développés sur les biocomposites..... | 171 |
| 5.2.1. | Sélection des souches bactériennes pour l'identification..... | 171 |
| 5.2.2. | Amplification (PCR) du gène codant l'ARNr 16S..... | 173 |
| 5.2.3. | Identification des bactéries..... | 173 |
| 5.2.4. | Test de tolérance des bactéries au sulfate de cuivre..... | 176 |
| 5.3. | Traitement en masse des biocomposites par des additifs antimicrobiens..... | 177 |
| 5.3.1. | Dénombrement des bactéries et des champignons..... | 177 |
| 5.3.2. | Aspect visuel des biocomposites après le traitement antimicrobien..... | 178 |
| 5.3.3. | Analyse ionique par chromatographie des granulats et des biocomposites non-traités... | 179 |
| 5.3.4. | Analyse ionique par chromatographie sur les biocomposites traités à 6 mois de vieillissement accéléré..... | 184 |
| 5.3.5. | Analyse thermogravimétrique et mesures des pH et des conductivités électriques..... | 185 |
| 5.3.6. | Résistance mécanique..... | 187 |
| 5.3.7. | Conductivité thermique..... | 190 |
| | Conclusion..... | 191 |
| | Conclusions générales et perspectives..... | 193 |
| | Références..... | 198 |

Sommaire

| | |
|--|-----|
| Annexe A1..... | 211 |
| Annexe A2..... | 212 |
| A2. Traitements curatifs en surface des matériaux contre les microorganismes..... | 212 |
| A2.1. Nettoyage..... | 212 |
| A2.2 Méthodes chimiques..... | 212 |
| A2.3. Méthodes physiques | 213 |
| A2.4. Méthodes thermiques..... | 213 |
| A2.4.1. Stérilisation..... | 214 |
| A2.4.2. Pasteurisation..... | 214 |
| A2.4.3. Technique UHT (Ultra-haute température)..... | 214 |
| Annexe A3..... | 214 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1. 1 : Part mondiale de l'énergie finale et des émissions du secteur du bâtiment et de la construction en 2019 [1]..... | 30 |
| Figure 1. 2 : Evolution de la contrainte mécanique en fonction de la masse volumique du béton chanvre [21] | 33 |
| Figure 1. 3 : Evolution de la contrainte de compression en fonction des déformations pour des biocomposites de béton-paille avec différentes quantités de fibres végétaux [28] | 33 |
| Figure 1. 4 : Densité de chènevotte en fonction de la contrainte mécanique des biocomposites fabriqués avec des particules de tailles différentes [19]..... | 34 |
| Figure 1. 5 : Evolution du module d'Young après (a) 1 mois et (b) 3 mois pour différents types de vieillissement [35] | 35 |
| Figure 1. 6 : Résistance mécanique des biocomposites à base de chanvre après 6 mois d'incubation [49] | 36 |
| Figure 1. 7 : Evolution de la résistance mécanique de (a) FL-HC et (b) NC-HC en fonction de temps [17] | 36 |
| Figure 1. 8 : Evolution de la conductivité thermique en fonction de la masse volumique et l'humidité relative [21] | 37 |
| Figure 1. 9 : Conductivité thermique du béton-chanvre en fonction de la teneur en eau massique [38] | 38 |
| Figure 1. 10 : Evolution de la conductivité thermique des différents biocomposites (a) BC, (b) BP, (c) OC et (d) OP) en fonction de la teneur en eau (échelle logarithmique) [30]..... | 38 |
| Figure 1. 11 : Conductivité thermique des biocomposites à base de chanvre après 6 mois d'incubation [49] | 39 |
| Figure 1. 12 : Evolution de la conductivité thermique de (a) FL-HC mélange chaux – chanvre et (b) NC-HC mélange ciment chanvre en fonction de temps de vieillissement accéléré au développement microbien [17] | 40 |
| Figure 1. 13 : Courbes de sorption/désorption de quelques matériaux [43]..... | 41 |
| Figure 1. 14 : Courbes des isothermes de sorption-désorption de quelques matériaux biosourcés issus de la littérature [39]..... | 41 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1. 15 : Comparaison de l'adsorption d'eau du béton chanvre, du (a) liant et du (b) chanvre en fonction du temps [17] | 43 |
| Figure 1. 17 : Evolution de la résistance en compression en fonction du nombre de cycles [77]..... | 47 |
| Figure 1. 18 : Evolution de la variation de la résistance des bétons soumis à des cycles d'humidification/séchage en (a) compression et en (b) traction [68]..... | 48 |
| Figure 1. 19 : Comportement mécanique et aspect du biocomposite à base de paille de blé et de plâtre après des cycles humidification/séchage [80] | 48 |
| Figure 1. 20 : Surfaces endommagées d'un béton après les cycles de gel-dégel [78] | 49 |
| Figure 1. 21 : Evolution des endommagements des matériaux à base de terre battue après (a) 1 cycle, (b) 2 cycles, (c) 3 cycles et (d) 4 cycles [79] | 49 |
| Figure 1. 22 : Comportement mécanique des biocomposites à base de paille de blé et de plâtre après 5, 20 et 40 cycles d'humidification/séchage [47]..... | 50 |
| Figure 1. 23 : Résistance en compression des bétons non-biofibrés et biofibrés avant et après les 300 cycles [52] | 50 |
| Figure 1. 24 : Photos des éprouvettes des bétons avant et après les 300 cycles de gel-dégel pour les bétons biofibrés et non-biofibrés [52] | 51 |
| Figure 1. 25 : Evolution de la résistance en compression des mortiers soumis à l'attaque sulfatique [86] | 52 |
| Figure 1. 26 : Résistance à la compression des biocomposites à base de bois avec et sans traitement à des différents teneurs en fibres de palme [76]..... | 53 |
| Figure 1. 27 : Etapes d'étude de la biodégradation d'un matériau au laboratoire | 53 |
| Figure 1. 28 : Photo des mortiers tachés par des microorganismes [96] | 54 |
| Figure 1. 29 : Evolution de la surface couverte en algues en fonction de temps d'incubation sur les quatre formulations (M1, M2, M3 et M4) [96] | 54 |
| Figure 1. 30 : Colonisation de la souche <i>C. spaerospermum</i> sur quatre types de mortier [97] | 55 |
| Figure 1. 31 : Dénombrement des moisissures à la surface des matériaux à différents pourcentages de lin après incubation pendant 3 mois à 30°C et 96% hr en conditions stériles (en bleu), naturelles (en rouge) etensemencées (en vert)([35] [87]) | 55 |
| Figure 1. 32 : Développement des microorganismes après conservation des biocomposites à 30°C et 98% hr [17] [100]..... | 56 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1. 33 : Représentation schématique des trois formes principales des bactéries [102]..... | 58 |
| Figure 1. 34 : Exemple des champignons cultivés de type <i>Scopulariopsis brevicaules</i> [103] | 59 |
| Figure 1. 35 : Exemples des algues et cyanobactéries en microscopie optique [106]..... | 60 |
| Figure 1. 36 : Photographie de microscopie électronique d'un biofilm bactérien de type <i>E. coli</i> (à gauche) et d'un biofilm fongique de type <i>Candida albicans</i> (à droite) [110]..... | 61 |
| Figure 1. 37 : Interaction de trois paramètres pour un développement microbien | 61 |
| Figure 1. 38 : Classification de microorganismes en fonction du pH du milieu dans lequel ils se développent | 66 |
| Figure 1. 39 : Schéma de la variation du taux de la croissance bactérienne en fonction de la température pour les principales classes [133]..... | 67 |
| Figure 1. 40 : Image par MET des biofilms développés sur le mortier [140] | 71 |
| Figure 1. 41 : Exemples de résultats de l'identification bactérienne à l'aide d'une galerie API [148].. | 74 |
| Figure 1. 42 : Méthode d'empreinte génétique par DGGE (adaptée de [152])..... | 75 |
| Figure 1. 43 : Procédure de détermination de la diversité microbienne présente sur un biofilm bactérien (adaptée de (Wang et al., 2022 [157]) | 76 |
| Figure 1. 44 : (a) fHr et (b) fT deux fonctions utilisées dans l'équation (1. 7) et (c) isoplèthes de l'humidité en fonction de la température [172]..... | 81 |
| Figure 1. 45 : Systèmes Isoplèthes généralisés pour la germination des spores : (a) $Cat0 A$, (b) $cat0 B/C$, (c) $catI$ et (d) $catII$ [156]..... | 83 |
| Figure 1. 46 : Systèmes Isoplèthes généralisés pour la croissance mycélienne : (a) $Cat0 A$, (b) $cat0 B/C$, (c) $catI$ et (d) $catII$ [156]..... | 83 |
| Figure 1. 47 : Morphologie des microparticules de cuivre [186] | 89 |
| Figure 1. 48 : Histogrammes montrant le nombre de colonies formés par millilitres en fonction de la concentration en Cu et CuO (0,325 mg/mL) au temps T_0 , T_1 (1h), T_2 (2h) et T_3 (3h) d'incubation de la souche (a) <i>S. Aureus</i> et (b) <i>E. coli</i> . [186] | 90 |
| Figure 2. 1 : Diagramme de la méthodologie adoptée dans cette étude | 94 |
| Figure 2. 2 : Photos des granulats végétaux étudiés : (a) paille de blé (WS), (b) paille de colza (RS), (c) écorce de tournesol (SB), and (d) moelle de tournesol (SP) à leur état initial après broyage | 96 |

Liste des figures

| | |
|---|-----|
| Figure 2. 3 : Les quatre biocomposites de base : (a) paille de blé et chaux (WL), (b) paille de blé, chaux et les deux additifs hémoglobine et caséine (WaL), (c) paille de colza et chaux (RL) et (d) mélange de tournesol et chaux (SL) | 97 |
| Figure 2. 4 : Processus de fabrication : (a) préparation des matériaux, (b1) ajout de la poudre de cuivre à la chaux, (b2) dissolution du sulfate de cuivre (II), (c) ajout de l'hémoglobine et de la caséine (cette étape est uniquement pour WaL), (d) mélange du liant, (e) mélange des composants, et (f) moulage des matériaux (exemple sur RL)..... | 99 |
| Figure 2. 5 : Conservation des échantillons sous des conditions accélérés pour le développement microbien..... | 101 |
| Figure 2. 6 : (a) image des particules et (b) seuillage réalisé par le code Matlab..... | 101 |
| Figure 2. 7 : Résumé des différentes étapes de la technique de dénombrement | 104 |
| Figure 2. 8 : Etapes de l'identification des microorganismes..... | 105 |
| Figure 2. 9 : Etapes du test de mesure de la tolérance au sulfate de cuivre des bactéries | 106 |
| Figure 2. 10 : Compression uniaxiale (exemple sur SL) | 107 |
| Figure 2. 11 : Dispositifs pour la mesure de la conductivité thermique par la méthode du fil chaud (exemple sur la paille de blé)..... | 108 |
| Figure 2. 12 : Essai thermique : (a) HFM et (b) positionnement de l'échantillon entre les deux plaques | 108 |
| Figure 2. 13 : Etapes de mesure du pH et de la conductivité électrique à l'aide d'un pH-mètre à électrode double | 109 |
| Figure 2. 14 : Ajustement du pourcentage analytique P_{ana} en fonction de l'indice des microorganismes I_{mana} | 112 |
| Figure 2. 15: Analyse d'image de WaL à 180 jours de vieillissement pour le développement microbien. | 113 |
| Figure 3. 1 : Courbes granulométriques des quatre granulats végétaux étudiés : paille de blé (WS), paille de colza (RS), écorce de tournesol (SB) et moelle de tournesol (SP) | 116 |
| Figure 3. 2 : Taux d'absorption des granulats végétaux (paille de blé (WS), paille de colza (RS), écorce de tournesol (SB) et moelle de tournesol (SP)), avant le vieillissement accéléré | 117 |
| Figure 3. 3 : Évolution du nombre de bactéries (moyenne \pm écart-type ; n=3), cultivées sur les granulats étudiés, à 0, 3, 6 et 12 mois. Les études statistiques (in english statistical study (SS)) sont reportées dans les tableaux au-dessous de la figure : les lettres minuscules indiquent la différence entre les granulats à un même temps et les lettres majuscules indiquent l'effet du temps sur chaque granulats. | 119 |

Liste des figures

- Figure 3. 4 : Évolution du nombre de champignons (moyenne \pm écart-type ; n=3), cultivées sur les granulats étudiés, à 0, 3, 6 et 12 mois. Les études statistiques (SS) sont reportées dans les tableaux au-dessous de la figure : les lettres minuscules indiquent la différence entre les granulats à un même temps et les lettres majuscules indiquent l'effet du temps sur chaque granulats. 121
- Figure 3. 5 : Evolution (a) du pH (moyenne \pm écart-type ; n=3) et (b) de la conductivité électrique EC (moyenne \pm écart-type ; n=3) de l'eau d'infusion des quatre granulats WS, RS, SB, and SP à 0, 3, 6 et 12 mois de vieillissement accéléré 124
- Figure 3. 6 : Suivi du développement des microorganismes sur WS, RS, SB et SP à 0, 3, 6 et 12 mois de vieillissement accéléré..... 124
- Figure 3. 7 : Images par Cryo-HRSEM de la paille de blé (WS): (a) vue de surface montrant des filaments microbiens (fm) à 0 mois, (b) vue de surface montrant la prolifération de filaments microbiens à 6 mois, (c) agrandissement de la surface à 0 mois, montrant des hyphes fongiques filamenteux et des spores (f), (d) agrandissement de la spore fongique fléchée dans (c), (e) agrandissement de la surface à 6 mois, montrant la prolifération de spores fongiques, (f) agrandissement de hyphes fongiques portant des spores à 6 mois 126
- Figure 3. 8 : Images par Cryo-HRSEM de la paille de colza (RS) : (a) vue de la surface à 0 mois montrant la présence de microorganismes (exemple de filament indiqué par une flèche), (b) vue de la surface à 6 mois, montrant la prolifération de microorganismes filamenteux (f) et ellipsoïdaux (e), (c) agrandissement de microorganismes à 6 mois, comprenant (i) des colonies d'organismes ellipsoïdaux, probablement bactériens, organisés autour de filaments fongiques, (ii) des colonies d'organismes sphériques, et (iii) des sphères individuelles plus grandes, (d) agrandissement de microorganismes présents à 6 mois, comprenant des hyphes fongiques (h) et des chaînes de sphères fongiques (s), (e) coupe transversale à 0 mois, (f) coupe transversale à 6 mois, montrant la présence de microorganismes à l'intérieur d'alvéoles dont les parties filamenteuses semblent percer les parois du matériau (voir flèche) 127
- Figure 3. 9 : Images Cryo-HRSEM de l'écorce de tournesol (SB) : (a) vue de la surface à 0 mois, montrant une faible présence de microorganismes (flèches), (b) vue de la surface à 6 mois, montrant la prolifération de microorganismes (filaments et chaînes de sphères); la zone carrée est agrandie dans (d), (c) vue agrandie des microorganismes présents à 6 mois, dont l'organisation arbusculaire est évocatrice de conidies d'ascomycètes, (d) vue agrandie de la zone carrée de (b), montrant des structures filamenteuses évocatrices d'hyphes fongiques (h), de sphères épineuses évocatrices de spores fongiques (f) et de chaînes de sphères plus grandes évocatrices de bactéries (b), (e) coupe transversale à 0 mois et (f) coupe transversale à 6 mois, montrant des alvéoles envahies par des microorganismes (filaments, structures de type conidies d'ascomycètes)..... 129

Liste des figures

- Figure 3. 10 : Images Cryo-HRSEM de la moelle de tournesol (SP) : (a) vue de la moelle à 0 mois, montrant la surface recouverte de mucilage enveloppant notamment des filaments microbiens (fm), (b) vue agrandie de la moelle à 0 mois, montrant des spores fongiques (s) enveloppées de mucilage ainsi que des filaments (f), (c) vue d'un exemple de spore fongique (s) présent à 0 mois sur la moelle de tournesol, avec des hyphes probables en émergence (h); (d) vue de l'extérieur du cortex à 0 mois, montrant des hyphes fongiques bien développés (h, comparer avec c), (e) coupe transversale à 0 mois, montrant la présence de filaments fongiques (ff) dans les alvéoles, et (f) vue de l'extérieur du cortex à 6 mois, montrant la prolifération de microorganismes filamenteux (principalement des champignons).
..... 130
- Figure 3. 11 : Évolution de la conductivité thermique (moyenne \pm écart-type ; n=5) et de la densité en apparente (moyenne \pm écart type ; n=3) en fonction du temps de vieillissement accéléré pour le développement microbien pour (a) la paille de blé (WS), (b) la paille de colza (RS), (c) l'écorce de tournesol (SB), et (d) la moelle de tournesol (SP)..... 133
- Figure 3. 12 : Evolution du pH des quatre liants LE, LEC, LEH et LECH) en fonction de temps de suivi en vieillissement accéléré au développement microbien (0, 3 et 6 mois) 137
- Figure 3. 13 : Evolution de la conductivité électrique (EC) des quatre liants LE, LEC, LEH et LECH) en fonction du temps de suivi en vieillissement accéléré au développement microbien (0, 3 et 6 mois)
..... 137
- Figure 3. 14 : Evolution de la masse volumique apparente (ρ) des quatre liants L, LC, LH et LCH) en fonction du temps de suivi en vieillissement accéléré au développement microbien (0, 3 et 6 mois) 138
- Figure 4. 1 : Évolution du nombre de microorganismes en CFU/g de matériau (moyenne \pm std, n=3) : bactéries (culture en milieu YEG) et champignons (culture en milieu PDA) cultivés sur (a)WL, (b) WaL à 0, 3, 6 et 12 mois de vieillissement accéléré 142
- Figure 4. 2 : Évolution du nombre de microorganismes en CFU/g de matériau (moyenne \pm std, n=3) : bactéries (culture en milieu YEG) et champignons (culture en milieu PDA) cultivés sur (a) RL et (b) SL à 0, 3, 6 et 12 mois de vieillissement accéléré..... 143
- Figure 4. 3 : Évolution du nombre de microorganismes en CFU/g de matériau (moyenne \pm std, n=3) : (a) bactéries (culture en milieu YEG) et (b) champignons (culture en milieu PDA) cultivés sur WL, WLC, WLH et WaL à 0, 3 et 6 mois de vieillissement accéléré..... 145
- Figure 4. 4 : Evolution du (a) pH (moyenne \pm écart-type ; n=3) et de (b) la conductivité électrique EC (moyenne \pm écart-type ; n=3) de l'eau d'infusion des quatre biocomposites WL, WaL, RL et SL à 0, 3, 6 et 12 mois de vieillissement accéléré 147
- Figure 4. 5 : Suivi du développement des microorganismes sur les biocomposites WL, WaL, RL et SL à 0 et 12 mois de vieillissement microbien. Les cadres sur WL montrent la couche de microorganismes et ceux sur RL et SL montrent les microorganismes sous forme de taches grises et de points noirs.. 149

Liste des figures

- Figure 4. 6 : Images par Cryo-HRSEM biocomposite (WL): (a) vue de surface montrant des cristaux de CaO sans aucune présence de microorganismes à 0 mois, (b) vue de surface montrant la prolifération de filaments microbiens à 6 mois, (c) agrandissement de la zone 1 à 6 mois, montrant la prolifération des microorganismes (filaments microbien (fm), spores fongiques (f), hyphes fongiques (h)), (d) agrandissement de la zone 2 à 6 mois, montrant la prolifération des filaments microbien (fm), (e) coupe transversale à 0 mois, (f) coupe transversale à 6 mois, (g) et (h) agrandissement de la zone 3 et 4 respectivement montrant des alvéoles envahies par des microorganismes filamenteux..... 151
- Figure 4. 7 : Images par Cryo-HRSEM du biocomposites (WaL): (a) vue de surface montrant des cristaux de CaO sans aucune présence de microorganismes à 0 mois, (b) vue de surface montrant la prolifération de microorganismes à l'intérieur du brin à 6 mois, (c) agrandissement à 6 mois de (b), montrant la prolifération des microorganismes (filaments microbien (fm), sphères fongiques (s)), (d) vue de surface montrant la prolifération de microorganismes à l'extérieur du brin à 6 mois, (e) agrandissement à 6 mois de (d), montrant la prolifération des microorganismes (filaments microbien (fm), spores fongiques (f)), (f) coupe transversale à 0 mois, (g) coupe transversale à 6 mois, montrant la prolifération des microorganismes et (h) agrandissement de (g), montrant la prolifération des microorganismes (filaments microbien (fm), sphères fongiques (s))..... 153
- Figure 4. 8 : Images par Cryo-HRSEM du biocomposite (RL) : (a) vue de la surface à 0 mois, montrant l'absence de microorganismes et la présence d'amas granulaires de CaO (fléchés), (b) vue de la surface à 6 mois, montrant des sphères évoquant des spores fongiques (s), (c) vue agrandie des microorganismes présents à 6 mois, avec des probables des hyphes fongiques (h) et des filaments fongiques (ff), (d) microorganismes endommagés après 6 mois de vieillissement microbien 154
- Figure 4. 9 : Images par Cryo-HRSEM de l'écorce du biocomposite (SL) : (a) vue de surface montrant l'écorce à 0 mois, (b) coupe transversale de l'écorce à 12 mois, montrant des alvéoles envahies par des filaments, (c) vue de la surface de l'écorce à 12 mois, montrant des spores (s) et des amas granulaires de CaO, (d) vue agrandie de l'écorce à 12 mois, montrant des hyphes (h) et des spores endommagées (s), (e) vue de surface de la moelle à 0 mois, couvert des amas granulaires de CaO et (f) vue de surface de la moelle à 12 mois, couvert également des amas granulaires de CaO 155
- Figure 4. 10 : Evolution de la résistance mécanique (moyenne \pm std, n=3) de (a) WL et (b) WaL en fonction du temps de vieillissement microbien accéléré 157
- Figure 4. 11 : Evolution de la résistance mécanique (moyenne \pm std, n=3) de (a) RL et (b) SL en fonction du temps de vieillissement microbien accéléré 158
- Figure 4. 12 : Photos démontrant la dégradation superficielle du matériau WaL : (a) à 0 mois, et (b) à 12 mois de vieillissement microbien. Les flèches indiquent la biodégradation de l'échantillon 159
- Figure 4. 13 : Evolution de la conductivité thermique (moyenne \pm std, n=3) de (a) WL et (b) WaL en fonction du temps de vieillissement microbien accéléré 161
- Figure 4. 14 : Evolution de la conductivité thermique (moyenne \pm std, n=3) de (a) RL et (b) SL en fonction du temps de vieillissement microbien accéléré 162

Liste des figures

| | |
|--|-----|
| Figure 4. 15 : Suivi et acquisition des photos du développement des microorganismes sur les différents biocomposites à 4 différentes périodes (t0 ; 145, 180, 365 jours pour WL et WaL ou t0, 180, 225 et 365 jours pour RL et SL)..... | 164 |
| Figure 4. 16 : Evolution du pourcentage expérimental de contamination P_{exp} en fonction du temps pour les 4 biocomposites étudiés (WL, WaL, RL et SL)..... | 164 |
| Figure 4. 17 : Evolution du pourcentage analytique P_{ana} (biohygrothermal et VTT) en fonction du temps, à 30°C et 90% d'humidité..... | 165 |
| Figure 4. 18 : Comparaison entre les pourcentages analytiques P_{ana} (biohygrothermal et VTT) et les pourcentages expérimentaux P_{exp} | 166 |
| Figure 4. 19 : Résultats de l'analyse inverse de P_{ana} avec les 6 combinaisons (a)(C1, C2), (b)(C1, C3), (c)(C1, C4), (d)(C2, C3), (e)(C2, C4) et (f)(C3, C4)..... | 167 |
| Figure 4. 20 : Résultats prédits en utilisant les classes de matériaux combinés déterminés par étude inverse entre les pourcentages analytiques et expérimentaux de surface contaminée pour les quatre matériaux étudiés..... | 168 |
| Figure 5. 1 : Colonies de bactéries cultivées sur des boîtes de pétri avec le milieu de culture YEG à partir des biocomposites WL, WaL, RL et SL à 12 mois de vieillissement microbien accéléré. Le carré en bas est un agrandissement du carré présente sur la figure (b) 171 | |
| Figure 5. 2 : Résultats des amplifications sur les ADN extraits des colonies bactériennes choisies : photo du gel d'électrophorèse de la migration des amplifiats obtenus (observation sous UV après traitement au BET) ; la flèche à gauche donne la position attendue pour l'amplifiat recherché..... | 173 |
| Figure 5. 3 : Evolution de la croissance microbienne (absorbance corrigée mesurée à 600 nm) en fonction des concentrations en $CuSO_4$ (mg/mL) et du temps d'incubation (0h, 6h, 24h, 48h, 72h et 96h) | 176 |
| Figure 5. 4 : Aspect visuel du biocomposites WaL à 6 mois de vieillissement accéléré : (a) WaL6M, (b) WaL1, (c) WaL2, (d) WaL3 et (d) WaL4 | 178 |
| Figure 5. 5 : Evolutions des concentrations des ions présents dans les granulats (a) WL, (b) WaL, (c) RL et (d) SL en fonction de trois temps différent (0, 3, 6 et 12 mois) de vieillissement microbien accéléré. La petite figure est un agrandissement de la grande figure pour montrer des petites valeurs écrasées à grande échelle..... | 180 |
| Figure 5. 6 : Evolutions des concentrations des ions présents dans les biocomposites non-traités (a) WL, (b) WaL, (c) RL et (d) SL en fonction de trois temps différent (0, 3, 6 et 12 mois) de vieillissement microbien accéléré. La petite figure est un agrandissement de la grande figure pour montrer des petites valeurs écrasées à grande échelle. | 182 |
| Figure 5. 7 : Analyse thermogravimétrique de (a) WL6M, WL1 et WL3, (b) WaL6M, WaL1 et WaL3, (c) RL6M, RL1 et RL3et (d) SL6M, SL1 et SL3 à 6 mois de vieillissement accéléré..... | 185 |

Liste des figures

| | |
|--|-----|
| Figure 5. 8 : Comparaison de la résistance mécanique (moyenne \pm std, n=3) (en histogrammes) et de la densité apparente (en points) entre les matériaux non-traités et traités à 6 mois de vieillissement accéléré | 188 |
| Figure 5. 9 : Comparaison de la conductivité thermique (moyenne \pm std, n=3) (en histogrammes) et de la densité apparente (en points) entre les matériaux non-traités et traités à 6 mois de vieillissement accéléré..... | 190 |
| Figure A2. 1 : (a) élimination des colonisations noires à l'éponge, (b) aspect des mycéliums éliminés [202] | 212 |
| Figure A2. 2 : (a) calcaire non traité et (b) calcaire traité par des polymères de silicone fonctionnalisés [244] | 213 |
| Figure A3. 1 : Electrophorégrammes obtenus après séquençage de la région V1V9 du gène ARNr 16S des souches 3 (a) et 7 (b). | 215 |

Liste des tableaux

| | |
|--|-----|
| Tableau 1. 1 : Synthèse de l'effet du développement microbien sur la résistance mécanique des matériaux de construction | 34 |
| Tableau 1. 2 : Comparaison des valeurs de gain massique en eau en fonction de la masse volumique de différents matériaux de construction issus de la littérature | 42 |
| Tableau 1. 3 : Résumé de quelques études du vieillissement environnemental des matériaux de construction (hr : humidité relative)..... | 45 |
| Tableau 1. 4 : Limite de l'activité de l'eau (aw) pour la croissance de quelques types de microorganismes | 62 |
| Tableau 1. 5 : Liste des nutriments les plus couramment consommés par les microorganismes..... | 63 |
| Tableau 1. 6 : Liste des humidités relatives utilisés pour favoriser la croissance microbienne sur des matériaux du génie civil | 65 |
| Tableau 1. 7 : Synthèse des gammes de pH de quelques microorganismes développés sur des matériaux de construction | 67 |
| Tableau 1. 8 : Liste des températures optimales pour le développement des microorganismes sur des matériaux du génie civil | 68 |
| Tableau 1. 9 : Liste des milieux de culture couramment utilisés pour la culture des microorganismes sur des matériaux du génie civil..... | 72 |
| Tableau 1. 10 : Description des niveaux des indices de Johansson..... | 81 |
| Tableau 1. 11 : Catégories des matériaux pour les systèmes des Isoplèthes [171] | 82 |
| Tableau 1. 12 : Tableau décrivant les niveaux de l'indice des microorganismes[173]..... | 84 |
| Tableau 1. 13 : Les catégories de matériaux du modèle VTT [173] | 86 |
| Tableau 1. 14 : Tableau représentant les caractéristiques de chaque classe de matériau [49]..... | 86 |
| Tableau 1. 15 : Tableau comparatif des modèles analytiques décrits dans cette étude bibliographique : + prise en compte du paramètre ; - : non-prise en compte du paramètre..... | 87 |
| Tableau 2. 1 : Désignation des composites et proportions détaillées de mélanges (kg/m ³), G : Granulats, E : Eau, L : Liant, H : Hémoglobine, C : Caséine, Cu : Poudre de cuivre et CuSO ₄ : Sulfate de cuivre (II) | 98 |
| Tableau 2. 2 : Désignation des mélanges des liants et proportions de mélanges détaillées, E : Eau, L : Liant, C : Caséine, H : Hémoglobine | 100 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----|
| Tableau 2. 3 : Description des niveaux des indices de microorganismes..... | 111 |
| Tableau 3. 1 : Caractéristiques de granulats étudiés à leur état initial avant le vieillissement accéléré 118 | |
| Tableau 3. 2 : Comparaison de la conductivité thermique des granulats étudiés à 0 mois de vieillissement accéléré avec celle des mêmes granulats étudiés dans des travaux antérieurs de la littérature | 134 |
| Tableau 3. 3 : Nombre de microorganismes (moyenne \pm écart-type ; n=3) : bactéries (culture sur milieu YEG) et champignons (culture sur milieu PDA) cultivés sur les quatre types de liants étudiés (L, LC, LH et LCH) à 3 échéances (0, 3 et 6 mois) de vieillissement accéléré | 136 |
| Tableau 5. 1 : Tableau descriptif des 16 souches bactériennes choisies cultivées sur les quatre biocomposites étudiés..... | 172 |
| Tableau 5. 2 : Genres bactériens identifiés sur les quatre biocomposites étudiés | 174 |
| Tableau 5. 3 : instructions des premiers secours après la contamination par Nocardiosis et Bacillus [228] | 175 |
| Tableau 5. 4 : Nombre de microorganismes en CFU/g de matériau (moyenne \pm std, n=3) : bactéries (culture en milieu YEG) et champignons (culture en milieu PDA) cultivés sur les matériaux non-traités et traités (1 pour Cu (3g/L), 2 pour Cu (6g/L, 3 pour CuSO ₄ (4,2 g/L) et 4 pour CuSO ₄ (11 g/L) à 0, 3, 6 et 12 mois de vieillissement accéléré. | 177 |
| Tableau 5. 5 : Concentration de Ca ²⁺ , Na ²⁺ et K ⁺ (moyenne \pm std, n=3) et taux de carbonatation des biocomposites non-traités et traités à 6 mois de vieillissement microbien accéléré..... | 184 |
| Tableau 5. 6 : Taux de carbonatation, pH (moyenne \pm std, n=3) et conductivité électrique (moyenne \pm std, n=3) des matériaux non-traités et traités à 6 mois de vieillissement accéléré. (-) : non-déterminé..... | 186 |
| Tableau A1. 1 : Quelques normes sur la croissance microbienne [46] | 211 |

Introduction générale

Face à une croissance accrue de l'industrialisation et de l'urbanisation, l'énergie représente un enjeu particulier du fait de ses modes actuels de production induisant une augmentation des émissions de gaz à effet de serre (GES) dans l'atmosphère et de la raréfaction des énergies fossiles. Ces émissions sont considérées parmi les facteurs importants intervenant sur le changement climatique. Le secteur du bâtiment est considéré parmi les plus consommateurs d'énergie, par sa participation à environ 35% de la consommation mondiale [1] (40% en France [2]). De plus, ce secteur produit environ 136 millions de tonnes de déchets par an, dont la moitié provient du secteur de la démolition [3], lequel participe également à l'émission d'environ 38% des émissions des GES [1] (20% en France [4]). L'expansion considérable du secteur de la construction a permis l'utilisation croissante du charbon, du pétrole et du gaz naturel pour alimenter les activités nécessitant de l'électricité. Le bâtiment représente à lui seul environ 55% de la consommation mondiale d'électricité [1]. Par ailleurs, le béton est le matériau le plus utilisé dans le domaine du bâtiment. En effet, sa production est estimée à 10 milliards de tonnes chaque année [5]. Cette importante production s'accompagne évidemment d'une forte demande en ciment, celui-ci étant un constituant essentiel du béton. La consommation mondiale de ciment est estimée de 6 milliards de tonnes chaque année [6]. En terme d'émission de GES, le processus de production de ciment est responsable de 7 à 8% des émissions de CO₂ qui est le premier gaz responsable de l'effet de serre [7]. La production d'une tonne de ciment génère plus de 900 kg de CO₂ [8]. Les granulats, tels que le sable et le gravier, représentent les ressources naturelles les plus exploitées à l'échelle mondiale, avec une quantité colossale de 44 milliards de tonnes extraites en 2017 par exemple [6]. Cette quantité dépasse largement la capacité de production annuelle de sable que le gisement actuel peut fournir. Cette consommation des granulats risque de doubler d'ici 2060 en raison de l'émergence économique de certains pays [9] [10] [11]. Face à ces problèmes en lien avec les activités du secteur de la construction, trouver des solutions pour limiter ces impacts négatifs sur l'environnement est devenu une urgence depuis quelques années.

Dans ce contexte, le développement de éco-matériaux à base de déchets industriels, des produits ou déchets agricoles, constitue une alternative qui vise à réduire l'impact du secteur de la construction sur l'environnement, en termes d'émissions de GES, de consommation d'énergie pour la fabrication de matériaux et d'exploitation de matières premières granulaires. Dans le contexte de la transition écologique, l'efficacité énergétique des matériaux et des constructions s'impose comme un impératif incontournable pour réduire leur empreinte carbone et favoriser un bâti plus respectueux de l'environnement. L'intégration de l'efficacité énergétique dans le choix des matériaux de construction est un levier essentiel de la transition écologique, permettant de promouvoir des bâtiments à faible consommation d'énergie et ainsi de contribuer activement à la lutte contre le changement climatique. L'usage de ces matériaux constitue une solution garantissant l'efficacité énergétique des bâtiments tout en essayant de maintenir leurs performances techniques et leur fonctionnalité optimales. Le développement des matériaux biosourcés est l'une des premières et importantes approches dans l'isolation des bâtiments, répondant à la fois à l'objectif énergétique et environnemental visant à améliorer la performance

énergétique des bâtiments et diminuer l'impact des matériaux de constructions. Ces matériaux biosourcés sont à base de granulats végétaux, issus de déchets et co-produits agricoles. Ces granulats sont caractérisés par une forte porosité et une faible densité, leur offrant une performance thermique intéressante pour l'isolation des bâtiments et un comportement hygroscopique pour le confort hygrothermique des occupants.

Malgré les résultats novateurs et prometteurs de ces développements [12], l'utilisation et l'industrialisation des matériaux biosourcés restent encore limitées. En effet, le manque de normes spécifiques et de règles d'application ne permet pas encore l'utilisation généralisée de ces matériaux et la maîtrise de leur mise en œuvre. De même, il n'existe pas à ce jour un cadre normatif établi pour l'étude au laboratoire de la durabilité de ces matériaux. Leur présence dans des conditions d'utilisation environnementales exceptionnelles et/ou accidentelles (utilisation dans des structures à forte humidité, contact avec l'eau liquide, etc.), peut les exposer à une humidité excessive. Par ailleurs, ce contact permanent avec l'eau ou la forte humidité ainsi que la nature biologique des matériaux, peuvent favoriser le développement des microorganismes. L'attaque du matériau par des microorganismes est définie par le phénomène de biodégradation.

La biodégradation est un processus naturel de décomposition organique d'un matériau, induite par des microorganismes vivants tels que les bactéries, les champignons et les levures. Ces microorganismes peuvent avoir une action directe lorsque la dégradation résulte du développement ou de l'inoculation des microorganismes dans le matériau. Cependant, ils peuvent agir indirectement en produisant des substances qui réagissent avec le matériau, entraînant sa dissolution et la formation de produits non-cohésifs. Quel que ce soit le mode d'action de ces microorganismes, la biodégradation peut modifier les propriétés fonctionnelles du matériau, notamment ses propriétés mécaniques, thermiques et hydriques. En outre, cette dégradation éventuelle peut entraîner une détérioration du matériau, créant ainsi des risques pour la sécurité et la stabilité des structures. L'étude de la biodégradation au laboratoire suscite un grand intérêt dans le domaine de la recherche. En effet, ce phénomène complexe est extrêmement long et son étude et sa compréhension peuvent durer longtemps. Pour cela, l'étude de ce phénomène est souvent réalisée en utilisant des essais de vieillissement accélérés au laboratoire permettant de simuler l'environnement du matériau en croisant les différentes conditions permettant de reproduire les variations climatiques ou accidentelles à l'origine de la dégradation. Cependant, des essais non-accelérés sont également possibles, en exposant les matériaux à leur environnement réel et à des variations journalières de température et d'humidité. Ces essais accélérés ou non accélérés, réalisés sur des matériaux de construction classique (béton, mortier, brique, bois, ...), sont cadrés par des normes spécifiques. A titre d'exemple, on peut citer la norme NF EN 350 [13] spécifique pour l'étude de la durabilité du bois et des matériaux dérivés de bois vis-à-vis des agents biologiques. Une autre norme (ASTM D3273) [14] est utilisé pour évaluer la résistance des revêtements intérieurs à la croissance fongique dans un environnement intérieur pendant une période de 4 semaines. De même, l'ASTM D6329 [15] propose une méthodologie d'évaluation de la capacité des matériaux d'intérieur à soutenir la croissance microbienne à l'aide de chambres environnementales statiques. Concernant les matériaux biosourcés à base de granulats végétaux, il n'existe pas de normes spécifiques. L'étude de la biodégradation est donc basée sur les travaux et les normes

des matériaux classiques avec des adaptations prenant en compte les propriétés particulières de ces matériaux.

Le projet MATBIO, intitulé « Impact des microorganismes sur le comportement des matériaux biosourcés pour les bâtiments » et financé par la Région Centre Val de Loire, constitue une continuité des travaux et projets antérieurs (PROMETHE, BIOCOMP et PEPITE) autour du développement des matériaux biosourcés de l'équipe Génie civil du laboratoire de Mécanique Gabriel Lamé. Les travaux de ma thèse sont inscrits dans le cadre du projet MATBIO, dont l'objectif principal est d'étudier l'influence du développement microbien sur des granulats végétaux et des matériaux biocomposites, exposés à des conditions accélérées favorisant le développement des microorganismes au laboratoire. Cette étude se concentre sur une caractérisation microbiologique, physique et mécanique permettant de comprendre la croissance microbienne et son impact sur les propriétés mécaniques et thermiques, afin d'évaluer l'effet de ce développement microbien sur le comportement des matériaux biosourcés à long terme. Une partie de cette étude est dédiée à l'identification et à l'analyse microbiologique des microorganismes qui se développent sur les granulats et les biocomposites sélectionnés. En complément de cette étude expérimentale, une modélisation analytique simple a été utilisée pour prédire la croissance microbienne sur les matériaux biosourcés étudiés, en utilisant des modèles capables de prendre en compte les conditions expérimentales de température et d'humidité d'exposition au laboratoire.

Trois objectifs scientifiques se déclinent à partir de l'objectif principal du projet. Le premier objectif de ma thèse consiste en l'évaluation de l'impact du développement microbien sur les matériaux biosourcés et la compréhension des mécanismes microstructuraux à l'origine du comportement macroscopique. Les matériaux étudiés sont à base de paille de blé, de paille de colza, d'écorce et de moelle de tournesol, mélangés avec un liant minéral à base de chaux préformulée (Tradical PF70). Il s'agit d'une étude détaillée des quatre granulats végétaux et des quatre matériaux biosourcés différents à base de ces granulats.

Tout d'abord, tous les matériaux ont été exposés pendant une année à des conditions accélérées constantes d'humidité de 90% et à une température de 30°C afin de favoriser un développement microbien. Différentes caractérisations ont été effectuées à quatre échéances pendant le vieillissement avec un suivi de masse et d'aspect extérieur à 0, 3, 6 et 12 mois. Dans un premier temps, une caractérisation microbiologique qui consiste à dénombrer les microorganismes cultivables sur les matériaux en utilisant deux milieux de culture spécifiques pour la culture d'une part des bactéries et d'autre part des champignons, a été réalisée. Ensuite, une étude des propriétés thermiques et mécaniques est effectuée pour permettre d'évaluer l'effet du développement microbien sur la résistance mécanique des matériaux biosourcés et la conductivité thermique de tous les matériaux étudiés. Enfin, une étude physico-chimique en milieu dilué en utilisant la chromatographie ionique permet de suivre les changements ioniques possibles pendant le vieillissement accéléré. Cette partie comporte également un suivi de pH et de conductivité électrique permettant de comprendre également les mécanismes qui peuvent être soit à l'origine du développement microbien soit une de ses conséquences. Ainsi, une analyse thermogravimétrique (ATG) et des observations au Cryo-HRSEM sont effectuées pour compléter la compréhension de l'effet des microorganismes, à l'échelle microscopique.

Introduction générale

Le second objectif de la thèse consiste à étudier des traitements simples et économiques pour éviter ou réduire le développement microbien sur les matériaux biosourcés étudiés. Il s'agit d'un traitement en masse préventif consistant à intégrer dans le mélange, pendant la phase de préparation des biocomposites, deux additifs antimicrobiens : la poudre de cuivre ou le sel de sulfate de cuivre. D'après les résultats antérieurs de la littérature, ces deux additifs ont montré leur efficacité vis-à-vis de souches différentes de bactéries et de champignons à des faibles dosages. La tolérance de ces additifs a été testée directement sur les souches. Toutefois, pour ce travail, les additifs sont utilisés comme un constituant du biocomposite. En général, le traitement des matériaux biosourcés s'effectue sur les granulats avant la phase de production, mais cela nécessite un traitement supplémentaire et un temps de séchage généralement long. De plus, le traitement des granulats demande des quantités importantes de matières de traitement qui pourront avoir un effet négatif sur l'environnement et sur les propriétés des biocomposites.

Le troisième et dernier objectif de la thèse consiste à utiliser des modèles analytiques permettant la prédiction de la croissance microbienne sur les matériaux biosourcés. En effet, l'estimation expérimentale du développement microbiens sur les matériaux reste long et coûteux pour la fabrication des échantillons et la mise en place des essais de vieillissement. Les modèles numériques ou analytiques permettent généralement de déterminer le pourcentage de contamination de la surface d'un matériau.

Le manuscrit, structuré en 5 chapitres, synthétise mon travail de recherche au cours de ces trois années de thèse :

Le premier chapitre comprend une première partie qui met en avant un état de l'art sur les matériaux biosourcés ainsi que leurs propriétés mécaniques, thermiques et hydriques. Différents travaux de la littérature ont été menés pour étudier l'impact du développement microbien sur ces propriétés, en permettant d'explorer les mécanismes microstructuraux et leur effet ensuite sur le comportement macroscopique et d'établir des liens avec les propriétés intrinsèques de ces matériaux. Ce chapitre propose également une revue bibliographique sur la durabilité des matériaux, les différents essais d'évaluation de la durabilité au laboratoire, en particulier la biodégradation des matériaux vis-à-vis d'une attaque biologique par des microorganismes. Ce chapitre présente une troisième partie qui vise à définir les microorganismes, à présenter leur type et les conditions de développement microbien dans un matériau. Ces conditions peuvent être des facteurs intrinsèques au matériau comme l'activité de l'eau, les éléments nutritifs, la rugosité et la porosité du matériau ou des facteurs environnementaux extrinsèques au matériau comme l'humidité, le pH et la température. Cette partie comporte deux approches distinctes de l'étude de la croissance microbienne. Une première approche expérimentale présentant différentes méthodes d'échantillonnage des microorganismes. Ensuite, elle définit des méthodes de quantifications directes de microorganismes (Microscope électronique à transmission et cytométrie en flux) et indirectes (mise en culture des microorganismes). Enfin, cette approche présente des méthodes d'identification phénotypiques des microorganismes en se basant sur les composés chimiques/biochimiques et d'autres méthodes moléculaires en utilisant l'ADN des matériaux. La deuxième approche étudiée est analytique, consistant à présenter des modèles analytiques

Introduction générale

utilisés pour la prédiction de la croissance microbienne sur différents matériaux. Enfin, ce chapitre propose dans une quatrième et dernière partie, plusieurs types de traitement de matériaux utilisés dans la littérature. Cette partie présente des traitements préventifs par des additifs antimicrobiens montrant une efficacité importante contre plusieurs souches bactériennes et fongiques.

Le deuxième chapitre expose les matériaux étudiés et la méthodologie proposée et adoptée dans cette étude. En premier, nous exposons l'ensemble des matières premières constituant les matériaux biocomposites ainsi que la préparation de différentes formulations sans et avec additifs antimicrobiens choisis à partir de l'étude bibliographique. Après la préparation, le vieillissement accéléré pour la croissance microbienne sur les matériaux étudiés est décrit dans un second temps. Nous décrivons ensuite les différents essais expérimentaux utilisés pour la caractérisation des matériaux suite au développement microbien. Les différentes caractérisations sont les suivantes : (1) microbiologique en utilisant des essais de dénombrement et d'identification par des approches moléculaires, des bactéries et des champignons cultivables sur les matériaux étudiés ; (2) mécanique par des tests de compression uniaxiale ; (3) thermique avec la mesure de la conductivité thermique ; (4) microstructurale en milieu dilué par la mesure de pH, de conductivité électrique et d'analyse par chromatographie ionique. Des observations microscopiques au Cryo-HRSEM des granulats et des biocomposites complètent ces caractérisations physico-chimiques et microbiologiques. Dans une seconde partie du travail, nous nous intéressons à décrire deux modèles analytiques utilisés pour prédire la croissance des microorganismes sur les matériaux de construction : le modèle biohygrothermal et le modèle VTT. Ces deux modèles utilisés sont basés sur des études antérieures qui ont permis d'établir des systèmes d'isoplèthes qui représentent des courbes de variation de la croissance microbienne en fonction de la température et de l'humidité sur différents matériaux, et des équations permettant de décrire la croissance microbienne surfacique.

Le troisième chapitre présente les résultats des différentes caractérisations des granulats végétaux (paille de blé, paille de colza, écorce et moelle de tournesol). Avant de mettre les granulats dans les conditions de vieillissement accéléré, une analyse granulométrique, une mesure de l'absorption d'eau et de masse volumique, ont été réalisées. Après le vieillissement accéléré, les résultats de l'étude microbiologique par dénombrement des bactéries et des champignons sur les granulats et le liant, sont ensuite présentés. L'évolution des propriétés physico-chimiques et thermiques est présentée après un suivi d'une année complète d'exposition avec les quatre échéances (0, 3, 6 et 12 mois) pour évaluer l'effet du développement microbien sur le comportement de ces matériaux. Les observations microstructurales à l'échéance 0 et 6 mois présente le développement microbien après le vieillissement accéléré.

Le quatrième chapitre concerne l'étude des biocomposites à base de granulats de paille céréalière, paille de colza, écorce et moelle de tournesol, investigués dans le chapitre précédent. Les résultats de caractérisation microbiologique par dénombrement de bactéries et de champignons des composites biosourcés, sont présentés dans un premier temps. Ensuite, l'effet de ce développement microbien est mis en évidence avec l'évolution de la résistance

Introduction générale

mécanique, de la conductivité thermique en fonction du temps de vieillissement. Ce chapitre propose la même démarche que le chapitre précédent avec des analyses en milieu dilués et des observations microscopiques. Les résultats de prédiction en utilisant les deux modèles analytiques choisis dans ce travail (le modèle biohygrothermal et le modèle VTT), en termes de croissance microbienne surfacique sur les matériaux biosourcés sont présentés. Cette croissance microbienne est mesurée par un indice de microorganismes variant entre 0 et 6, comme étant un critère de conception lié à un pourcentage de contamination de la surface des matériaux. Ces résultats analytiques sont comparés au pourcentage de contamination déterminé expérimentalement à partir de l'analyse des photos de suivi visuel pendant l'exposition au vieillissement accéléré, pour permettre d'évaluer la capacité de ces modèles à prédire la croissance microbienne sur des matériaux biosourcés, en prenant en compte les différents paramètres reflétant une croissance réaliste des microorganismes.

Le cinquième et dernier chapitre, présente les résultats d'identification de certaines souches bactériennes cultivés les biocomposites étudiés. Ensuite, ce chapitre propose des traitements des biocomposites en utilisant deux additifs antimicrobiens, la poudre de cuivre (Cu) et le sulfate de cuivre (CuSO₄), pour inhiber le développement microbien. Les différentes caractérisations microbiologique, thermiques, mécaniques et physico-chimiques sont réalisées à 6 mois de vieillissement accéléré, afin d'étudier le comportement de ces matériaux après le traitement. L'échéance 6 mois est choisie suite au comportement des biocomposites qui ont montré une croissance microbienne importante à partir de 6 mois. Ensuite, une analyse thermogravimétrique est proposée pour la comparaison proposée ici entre les matériaux traités et non-traités pour examiner l'évolution minéralogique. Enfin, ce chapitre présente également les résultats des analyses ioniques par chromatographie ionique, pour suivre les changements ioniques possibles durant le vieillissement accéléré avant et après traitement.

Le manuscrit s'achève par les principales conclusions et perspectives émanant de ces travaux de recherche permettant de poursuivre les contributions de l'équipe au développement des matériaux biosourcés et aux recommandations de leur utilisation et mise en œuvre.

Chapitre 1 : Etat de l'art et revue bibliographique

1.1. Introduction

La dégradation des matériaux est une problématique majeure pour les structures du génie civil, qui nécessite une compréhension de ses mécanismes liés à la stabilité et la sécurité des structures et des ouvrages à court et à long terme. Parmi les causes du processus de dégradation des matériaux liées à l'environnement où ils se trouvent, le développement et la croissance des microorganismes jouent un rôle important sur différentes parties des ouvrages. En plus de l'impact néfaste de ce développement sur les matériaux et leurs propriétés, ils présentent un risque important pour la santé humaine.

L'objectif principal de ce travail de thèse est l'étude et la compréhension de l'impact du développement des microorganismes sur des matériaux biosourcés à base de granulats végétaux, destinés à l'isolation thermique des bâtiments. Dans ce chapitre, nous allons établir un état de connaissances autour de la durabilité des matériaux et, en particulier, vis-à-vis du développement microbien.

La première partie présente l'état de l'art sur les matériaux biosourcés, sur les enjeux environnementaux et socio-économiques de leur développement et de leurs caractéristiques fonctionnelles déterminées suite aux études intensives menées ces dernières années.

La deuxième partie met en avant l'intérêt de l'évaluation de la durabilité des matériaux dans le domaine des bâtiments et des exigences de performance à long terme des matériaux et des structures. Cette évaluation consiste en l'étude du comportement du matériau vis-à-vis des différentes conditions environnementales sévères telles que les variations de température et d'humidité, qui entraînent le processus de dégradation. Ce processus est généralement long et peut s'étendre sur plusieurs années. Cette partie met en évidence également les essais de vieillissement accéléré au laboratoire, à la fois environnementaux et biologiques, qui permettent d'effectuer des études de durabilité appropriées.

La troisième partie vise tout d'abord à définir les différents types de microorganismes, ensuite à présenter les facteurs intrinsèques et extrinsèques environnementaux, qui favorisent leur développement. Cette partie regroupe deux approches distinctes du suivi de la croissance des microorganismes. Une première approche expérimentale visant à quantifier et identifier les microorganismes au laboratoire et une deuxième approche, analytique, utilisant des modèles analytiques pour prédire leur croissance.

La quatrième et dernière partie présente les différents types de traitement utilisés pour lutter contre le développement des microorganismes.

1.2. Matériaux biosourcés

1.2.1. Développement des matériaux biosourcés

Face aux objectifs ambitieux de réduire la consommation d'énergie et les émissions de CO₂ de l'industrie et du secteur du bâtiment (Figure 1. 1), en plus de l'épuisement de matières

premières, le développement de matériaux biosourcés semble une solution porteuse, en termes d'émissions de dioxyde de carbone et d'énergie utilisée pour la fabrication de matériaux.

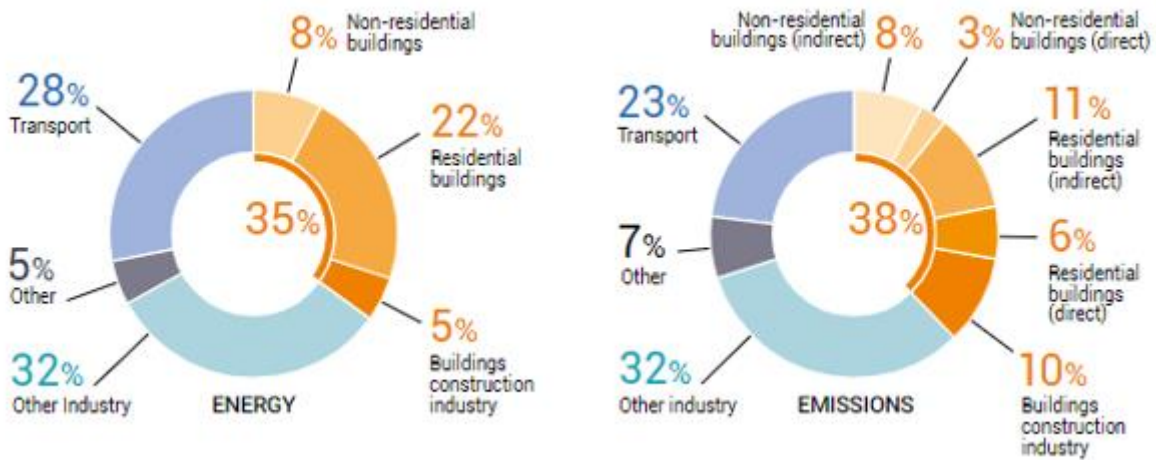


Figure 1.1 : Part mondiale de l'énergie finale et des émissions du secteur du bâtiment et de la construction en 2019 [1]

Un matériau est dit biosourcé lorsqu'un ou plusieurs de ses composants est d'origine de la biomasse. Ces biomasses sont issues de deux filières [16] : (1) les filières animales qui regroupent les matières d'origine biologique comme la peau, la graisse ou la laine... ; (2) les filières végétales qui regroupent par exemple le chanvre ([17] [18] [19] [20] [21]), le bois [22], le lin [23], les feuilles de banane [24], le tournesol [25], la paille de colza [25] et la paille de blé ([26] [27] [28] [29] [30]) qui sont les plus utilisées actuellement. Grâce aux caractères renouvelables, recyclables, respectueux de l'environnement, de ces matériaux, ils sont récemment développés et largement étudiés pour des applications dans le domaine du bâtiment et surtout dans l'enveloppe des bâtiments pour obtenir un environnement sain et confortable.

Dans le but de répondre à la fois aux critères environnementaux et d'utilisation, plusieurs chercheurs ont adopté différentes stratégies de développement, en proposant des éco-liants, des additifs provenant de la biomasse, des méthodologies de formulation et de caractérisation pour ces matériaux. Dans ce contexte, plusieurs matériaux biosourcés à base de ciment et de chaux ont été élaborés ([21] [31] [32] [33] [34] [35]) pour assurer des propriétés mécaniques et de durabilité. D'autres sont à base d'argile ou de terre crue ([25] [36]), des biopolymères extraits de chanvre, de lin, ou de biomasse animale ([37] [38] [39] [40]). Plus récemment des éco-liants utilisant des déchets granulaires [41], pour diminuer l'impact environnemental des matériaux ont été proposés. Différentes investigations expérimentales se sont intéressées au comportement thermique en développant des matériaux avec des performances thermiques et des résultats concurrents avec les matériaux classiques en utilisant par exemple des granulats de chanvre, de tournesol, de paille de colza ou de riz ([17] [18] [24]). En plus de leurs propriétés thermiques, ces matériaux sont fortement hygroscopiques grâce à leur porosité importante avoisinant 60 à 95%. En effet, plusieurs chercheurs ont mis en évidence leur bonne capacité de tampon hydrique, et leurs propriétés hydriques intéressantes ([25] [36] [42] [43] [44]). La littérature scientifique s'est largement intéressée au développement de ces matériaux et a montré leur intérêt croissant dans le domaine de la construction. Néanmoins, l'étude de la durabilité et la pérennité de ces performances liées directement à la sécurité des constructions ne sont pas

encore établies. A l'exception de quelques études de la littérature ([17] [45] [46] [34] [47]), la compréhension du comportement des matériaux biosourcés vis-à-vis des variations de température, d'humidité, des agents chimiques ou mêmes les actions accidentelles, reste un domaine où plusieurs questions sont encore posées sans réponses consensus et normalisées.

1.2.2. Développement des matériaux biosourcés dans la Région Centre Val de Loire

Différents travaux de recherches novateurs, visant à optimiser les performances thermiques des composites à base de granulats végétaux issus des déchets agricoles de la région Centre Val de Loire, sont entrepris au sein du Laboratoire de Mécanique Gabriel Lamé. Ces travaux ont permis le développement des biocomposites avec un objectif de réduire la conductivité thermique tout en maintenant des propriétés mécaniques acceptables pour une utilisation en tant qu'isolants thermiques dans les bâtiments. Dans la suite, nous allons présenter quelques travaux qui se sont intéressés au développement de biocomposites basés sur les résidus agricoles de paille de céréales, de colza et de tournesol.

(Belayachi et al., 2013) [28] ont étudié le comportement d'un matériau de construction léger composé de la chaux, de l'eau et la paille de céréales. Deux types de fibres ont été utilisés : la paille de blé et la paille d'orge. L'impact de certains paramètres tels que les types de fibres, les types de liants (chaux et/ou chaux-ciment), les rapports fibres/liants et eau/liants sur les propriétés mécaniques et thermiques est examiné. La résistance à la compression, la conductivité thermique et la densité du matériau ont été analysées. Les résultats ont montré que la conductivité thermique des composites paille-chaux diminue avec une augmentation de la quantité de paille. Les comparaisons des résultats ont également révélé que le composite renforcé par des fibres de paille de blé présentait la plus grande résistance à la compression.

(Brouard, 2018) [25] a travaillé sur le développement et l'optimisation des matériaux biocomposites à base des granulats végétaux comme la paille de colza, l'écorce et la moelle de tournesol, et de l'argile. Il a constaté une importante diversité de la masse volumique des matériaux en fonction des granulats utilisés. Ce paramètre est le plus influençant sur les performances d'un matériau d'isolation. Leur performance mécanique limite leur utilisation à l'isolation non structurelle. Concernant les performances thermiques, ces matériaux sont qualifiés comme des matériaux isolants thermiques des bâtiments.

D'autres travaux entrepris par (Ismail, 2020) [39] ont porté sur le développement et l'optimisation des performances thermiques de deux biocomposites à base de paille de blé mélangée à la chaux ou au plâtre. Ces biocomposites ont été développés dans des anciens travaux de notre équipe de recherche ([28] [29]). L'objectif principal était de réduire la conductivité thermique de ces biocomposites, en préservant les propriétés mécaniques inhérentes à leur capacité à soutenir son poids propre. Pour ce fait, une approche novatrice a été adoptée, impliquant l'incorporation de l'hémoglobine en tant qu'additif d'origine animal, renouvelable et biodégradable au sein de la matrice. Cet additif a été employé pour jouer le rôle d'un entraîneur d'air aux constituants du matériau et créer une porosité supplémentaire dans la matrice, ce qui permet de diminuer la conductivité thermique. En parallèle, pour augmenter

d'avantage cette porosité, il a été décidé de diminuer la quantité du liant minéral. En effet, le liant possède la capacité de pénétrer dans le matériau et de combler des pores des granulats, ce qui, par conséquent, augmente la conductivité thermique. Cependant, la diminution de la quantité de liant entraîne également une diminution de l'adhérence de la matrice aux fibres. Pour cela, la caséine, un second additif d'origine animale, a été utilisée pour remplacer une partie de la chaux. Ce choix stratégique a conféré au biocomposite des qualités adhésives et a contribué à améliorer ses performances mécaniques.

Malgré les résultats innovants, encourageants et exceptionnels fournis par le développement des matériaux biosourcés en tant qu'isolant thermique dans le bâtiment, leur industrialisation, leur utilisation et leur mise en œuvre ne sont pas encore cadrées par des normes spécifiques et des règles d'application. En effet, l'exposition de ces matériaux dans des environnements à fortes humidités dans des utilisations exceptionnelles ou accidentelles, ainsi que la nature biologique de ces matériaux, peuvent favoriser le développement des microorganismes. Dans ce contexte, mon travail de thèse se focalise sur l'étude de l'impact du développement de microorganismes sur des matériaux biosourcés, et contribue à l'avancée des travaux de recherche du Laboratoire de Mécanique Gabriel Lamé.

1.2.3. Propriétés des matériaux biosourcés

Ces dernières années, divers travaux de recherche ont été menés pour explorer les potentialités des matériaux biosourcés, dotés de propriétés intrinsèquement intéressantes, et surtout dans le domaine de l'isolation des bâtiments. Cette partie constitue une synthèse de plusieurs études de la littérature, visant à appréhender les comportements mécaniques, thermiques et hydriques, de ces matériaux faces à diverses conditions susceptibles de modifier leur réponse.

1.2.3.1. Propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques des matériaux biosourcés sont influencées par de nombreux paramètres : le type et la taille des granulats, le dosage en liant et les conditions de compactage, les additifs ajoutés ou les traitements réalisés.

La Figure 1. 2 représente un exemple (Cerezo, 2005) [21] de l'évolution de la résistance mécanique en fonction de sa masse volumique pour trois mélanges du béton chanvre pour différentes applications (toiture (A4-1 et A4-1,5) ; mur (Mur)). Les résultats obtenus montrent que les résistances mécaniques du béton-chanvre varient proportionnellement avec la masse volumique. En effet, une variation de la masse volumique est souvent associée à plusieurs facteurs. Une grande compacité lors de la fabrication du biocomposite entraîne la diminution de cette masse.

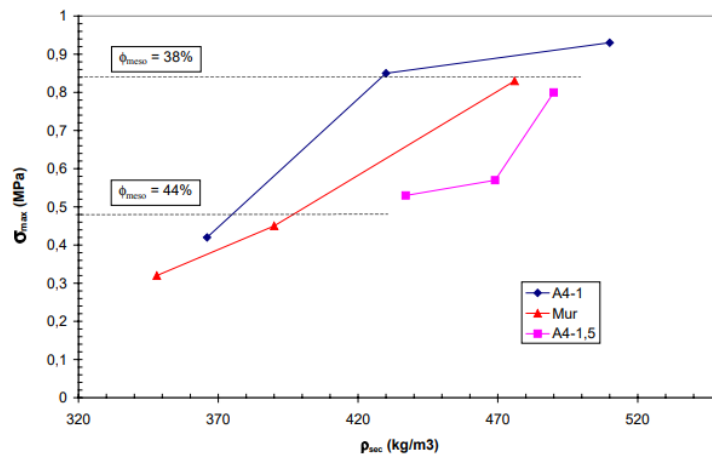


Figure 1. 2 : Evolution de la contrainte mécanique en fonction de la masse volumique du béton chanvre [21]

D'autres travaux se sont intéressés à l'influence de la quantité de granulats incorporés dans la matrice sur le comportement mécanique des biocomposites. (Belayachi et al., 2013) [28] ont effectué des études mécaniques par compression sur des biocomposites à base de béton paille. Avec un rapport eau/liant constant, l'augmentation du rapport fibres/liant influence de manière significative la résistance à la compression des biocomposites et leur comportement qui devient de plus en plus compactant (Figure 1. 3). De même, les études menées par (Ismail et al., 2020) [27] ont démontré qu'en augmentant le rapport massique granulat/liant de 0,2 à 0,3, dans le biocomposite à base de granulats de paille céréalière et de chaux, la masse volumique et la résistance mécanique du matériau diminuent. De plus, l'ajout d'un pourcentage massique de 5% d'un additif (hémoglobine) par rapport à la chaux, a favorisé la création d'une porosité plus importante dans la matrice, ce qui a contribué également à la diminution de la masse volumique des biocomposites et à l'augmentation de leur performance thermique.

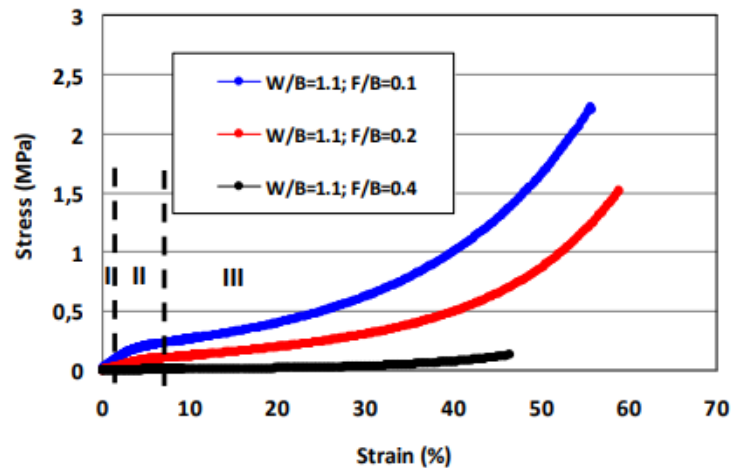


Figure 1. 3 : Evolution de la contrainte de compression en fonction des déformations pour des biocomposites de béton-paille avec différentes quantités de fibres végétales [28]

(Cerezo, 2005) [21] a réalisé des essais de compression sur des formulations différentes du béton chanvre en variant le dosage en liant. Une augmentation du dosage en liant de 10 à 40% a entraîné une augmentation de la résistance mécanique de 0,22 à 1,15 MPa et du module d'Young de 4 à 160 MPa. Plus le dosage en liant est faible, plus les particules sont moins connectées par le liant et le matériau présente donc des propriétés mécaniques faibles.

D'autres études menées par (Almusawi, 2018) [19] ont mis en évidence l'influence de la taille des particules de chènevotte sur la densité et la contrainte mécanique des biocomposites. En effet, l'utilisation des particules de petite taille a permis d'obtenir des biocomposites plus denses et mécaniquement plus résistants (Figure 1. 4). Cette amélioration est due à la facilité de rangement des particules au sein de la matrice, ce qui contribue à réduire la porosité entre les granulats.

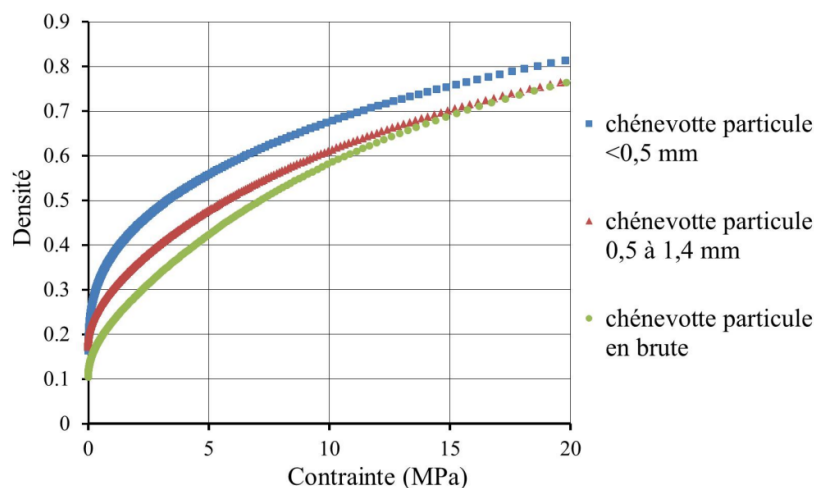


Figure 1. 4 : Densité de chènevotte en fonction de la contrainte mécanique des biocomposites fabriqués avec des particules de tailles différentes [19]

En plus des facteurs mentionnés précédemment influençant la résistance mécanique des matériaux biosourcés, les microorganismes ont un impact significatif sur son comportement mécanique. Ce comportement peut varier suite à l'attaque microbienne. Le Tableau 1. 1 regroupe plusieurs travaux de la littérature portant sur l'étude de l'effet des microorganismes sur le comportement mécanique.

Tableau 1. 1 : Synthèse de l'effet du développement microbien sur la résistance mécanique des matériaux de construction

| Références | Matériaux | Développement microbien | Effet mécanique |
|------------|-------------------|---|---|
| [48] | Roches | Développement naturel des algues et des cyanobactéries | Diminution de la résistance mécanique |
| [35] | Béton chanvre | Inoculation avec un milieu de culture constitué de 3 souches microbiennes | Diminution du module d'Young E après 3 mois d'inoculation |
| [49] | Béton chanvre | Inoculation des bactéries <i>P. putida</i> et des champignons de <i>Rh. Oryzae</i> et <i>A. fumigatus</i> | Diminution de de la résistance mécanique après 6 mois d'inoculation |
| [50] | Mortier de ciment | Inoculation de 100 000 cellules/mL d'eau | Augmentation de de la résistance mécanique après l'inoculation |
| [17] | Béton chanvre | Vieillessement accéléré (90% Hr et 25°C) | Pas de variation |

(Ortega-Calvo et al., 1991) [48] ont étudié l'impact du développement naturel des algues et des cyanobactéries sur des roches de monuments historiques. Ces organismes peuvent dissoudre le carbonate de calcium des pierres calcaires, béton et mortier [51]. Ils peuvent pénétrer dans le réseau poreux du matériau, induisant par gonflement ou retrait de leur mucilage (spores) des fissurations de la structure rocheuse.

(Rabii, 2017) [35] a mené une recherche sur l'étude du vieillissement de composites renforcés de fibres de lin naturelles pour une application de construction. Quatre biocomposites différents, avec des pourcentages différents de fibres de lin ajoutées (11, 29, 38 et 54%), ont été testés, après un vieillissement microbien accéléré. La surveillance du module de Young des biocomposites a été établie afin d'évaluer l'effet de la croissance microbienne (Figure 1. 5). Seul le composite PE+38% de masse de lin a connu une baisse de son module de Young, attribuée principalement aux conditions d'humidité plutôt qu'au vieillissement microbien. Comparé aux résultats à trois mois, où la colonisation microbienne était plus importante (près de 10^6 UFC.cm⁻²) et la baisse de module était plus prononcée, le développement après six mois peut être associé à une colonisation microbienne moins importante (moins de 10^5 UFC.cm⁻²) qu'au cours des tests à trois mois. De cette étude, il est à noter que la diminution des propriétés mécaniques du matériau peut être due à l'humidité dans un premier temps, et/ou au vieillissement microbien, dans un deuxième temps.

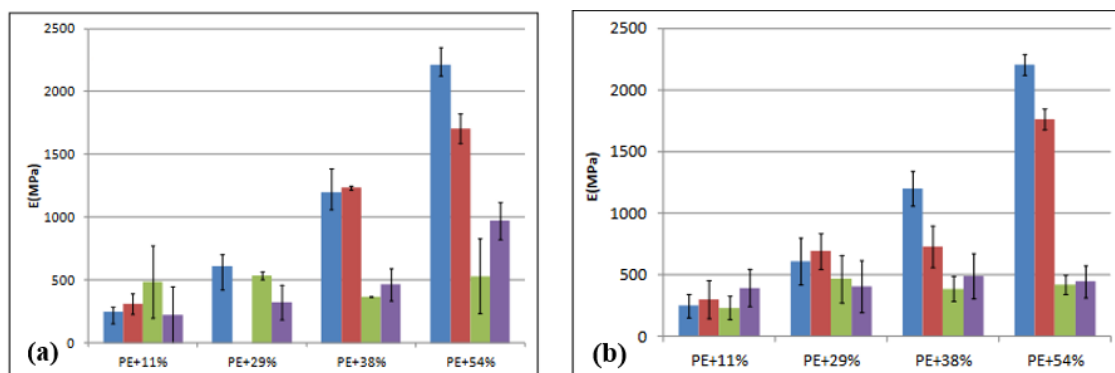


Figure 1. 5 : Evolution du module d'Young après (a) 1 mois et (b) 3 mois pour différents types de vieillissement [35]

Les résultats de (Vasiliauskienė et al., 2023) [49] ont montré que les valeurs de résistance à la compression des biocomposites à base de HS et de CS diminuent considérablement après 6 mois d'incubation avec des microorganismes. Ce paramètre diminue de 13,5% pour les biocomposites imprégnés d'huile de lin et de 53,2% pour les biocomposites imprégnés d'huile de tung (Figure 1. 6). Les deux huiles testées sont généralement utilisées pour diminuer le caractère hydrophobe des particules végétales et couramment utilisées comme traitement hydrofuge du bois [52]. Une fois qu'ils sont appliqués sur le matériau, ils pénètrent en profondeur dans les fibres du matériau, renforçant ainsi sa résistance à l'eau. (Monreal et al., 2011) [53] ont montré une diminution de l'absorption d'eau de la pulpe de betterave, de 240 à 90% après enrobage de la pulpe par l'huile de lin. De plus, l'huile de lin assure une protection des matériaux contre les moisissures et les insectes nuisibles. Par ailleurs, l'huile de tung protège le matériau contre les insectes. Cela a été démontré dans le travail de (Vasiliauskienė et al., 2023) [49] où les activités enzymatiques, provenant des microorganismes, les plus élevées ont été trouvées dans les biocomposites imprégnés d'huile de

tung, et qui est 1,5 fois plus élevées que les biocomposites imprégnés d'huile de lin 6 mois après l'incubation.

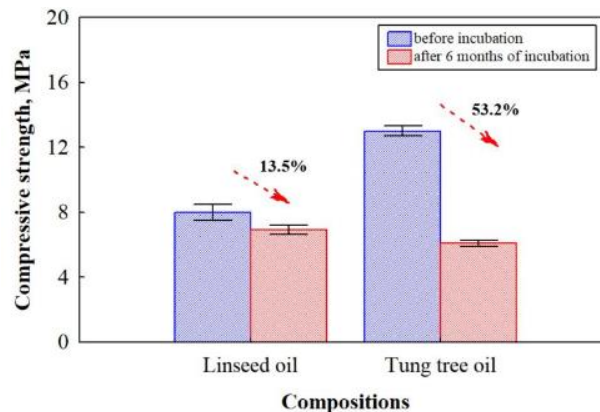


Figure 1. 6 : Résistance mécanique des biocomposites à base de chanvre après 6 mois d'incubation [49]

D'autres études menées par (Siddique et al., 2011) [50] ont montré que cette résistance augmente après l'inoculation de microorganismes dans le matériau. (Siddique et al., 2011) [50] ont étudié l'effet des bactéries uréolytiques sur les propriétés d'un mortier de ciment. L'incubation de microorganismes anaérobies a augmenté la résistance du mortier. Ils ont rapporté que la résistance a augmenté de 25% après 28 jours suite à l'ajout d'environ 100 000 cellules/mL d'eau du mélange. Ces bactéries ont la capacité de produire une enzyme appelée uréase, qui catalyse la décomposition de l'urée en carbonate de calcium et en ammoniacque [54]. Le carbonate de calcium peut précipiter sous forme de calcite, ce qui entraîne un processus de minéralisation des espaces poreux. Ce processus conduit à une augmentation de la cohésion du matériau, en renforçant et consolidant le matériau d'une manière naturelle et durable [55].

Cependant, d'autres recherches menées par (Delannoy, 2018) [17], ont montré que la résistance mécanique n'a montré aucune évolution significative au cours du développement microbien. (Delannoy, 2018) [17] a réalisé des essais de compression sur du béton de chanvre pour deux formulations, l'une préparée avec du ciment, nommée NC-HC et l'autre avec de la chaux hydraulique, nommée FL-HC. Les courbes de variation de la contrainte en fonction du temps ont montré une dispersion des valeurs de la résistance mécanique quel que soit la formulation et le type de vieillissement (Figure 1. 7). D'autre part, NC-HC a montré une résistance plus élevée que FL- HC et cela est dû aux réactions d'hydratation du ciment par rapport à la carbonatation de la chaux pure.

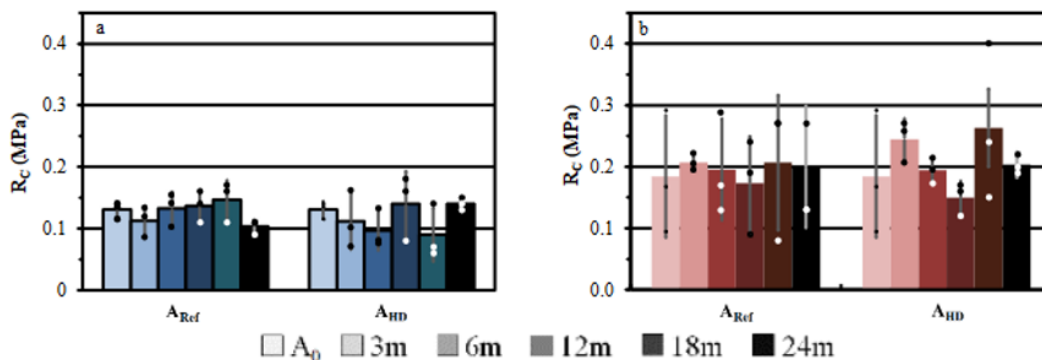


Figure 1. 7 : Evolution de la résistance mécanique de (a) FL-HC et (b) NC-HC en fonction de temps [17]

1.2.3.2. Propriétés thermiques

Très souvent, les propriétés thermiques des biocomposites sont présentés par la conductivité thermique de ces matériaux, même si le comportement thermique dépend d'autres propriétés comme la chaleur spécifique et la diffusivité. La conductivité thermique dépend également de plusieurs paramètres comme la composition des matériaux (rapports eau/liant et granulats/liant), le type de granulats et de liant, le traitement et la fabrication, la teneur en eau et les conditions de cure après démoulage. Ces différents paramètres se traduisent parfois par une influence significative de la porosité et la masse volumique des matériaux.

Les études menées par (Al Rim et al., 1999) [56] ont montré que l'augmentation des proportions des granulats du bois de 10 à 50% dans des biocomposites à base d'argile et de ciment, a entraîné une diminution de la conductivité thermique de 0,24 à 0,008 W/(m.K). Plus la quantité de granulats poreux incorporée dans le biocomposite est grande, plus la conductivité thermique est faible. D'autres études menées par (Tran Le, 2010) [57] ont montré l'influence de la variation de la proportion du liant par rapport au celle du granulats au sein de biocomposites à base de chènevette et de liant composé d'amidon et d'eau. L'augmentation de 10% de la quantité de liant a eu pour conséquence une augmentation de 7% de la conductivité thermique. Plus la quantité du liant est grande, plus les granulats sont noyés par une matrice du liant ce qui permet de réduire la conductivité thermique [57].

Les résultats des études de (Cerezo, 2005) [21], montrent une augmentation de la conductivité thermique du béton biocomposite de chanvre avec l'augmentation de la masse volumique et de l'humidité auxquelles le matériau a été exposé (Figure 1. 8). Plus le matériau est dense, plus sa porosité est petite et donc plus sa conductivité thermique est grande. De plus, lorsqu'un matériau est exposé à l'humidité, l'eau peut pénétrer à l'intérieur de ses pores. Dans les matériaux poreux, l'eau remplace l'air emprisonné dans les pores, ce qui fait augmenter la conductivité thermique.

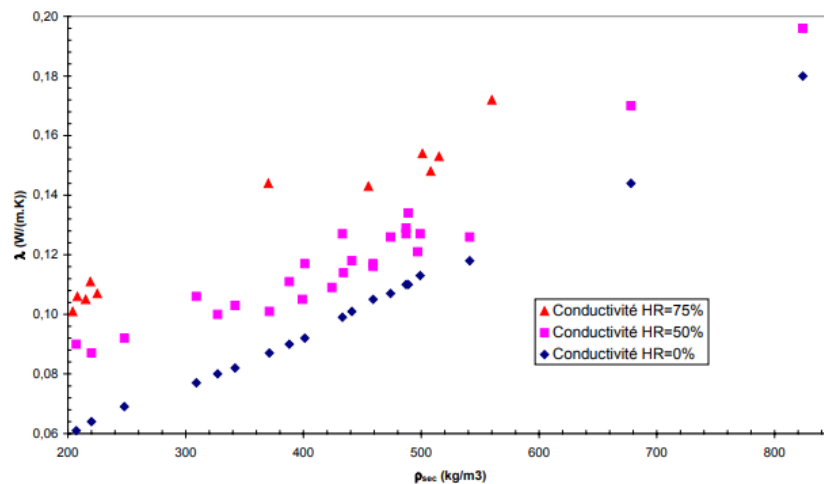


Figure 1. 8 : Evolution de la conductivité thermique en fonction de la masse volumique et l'humidité relative [21]

De même, (Collet et al., 2014) [38] ont réalisé des travaux sur le béton chanvre, un mélange de chènevottes avec de la chaux. Une augmentation de la teneur en eau de 0 à 25% a entraîné l'augmentation de 34% de la conductivité thermique (Figure 1. 9).

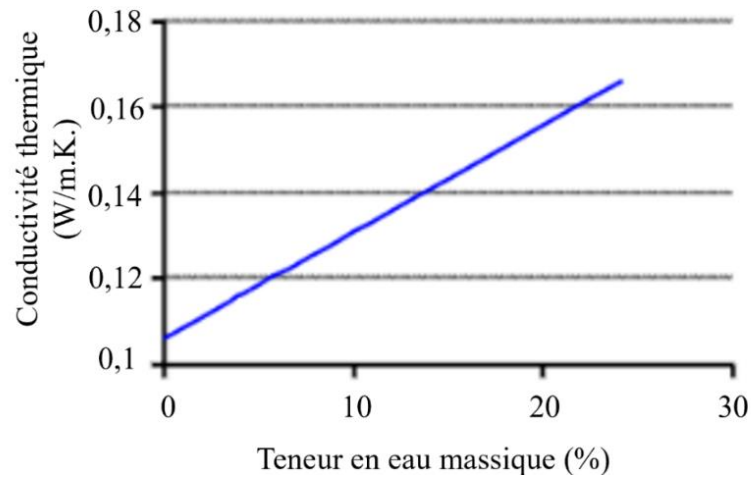


Figure 1. 9 : Conductivité thermique du béton-chanvre en fonction de la teneur en eau massique [38]

D'autres études menées par (Belayachi et al., 2015) [30] se sont concentrées sur des biocomposites à base de paille de blé (B) ou de paille d'orge (O) et de la chaux (C) ou du plâtre (P). La Figure 1. 10, issue de leurs études, présente l'évolution de la conductivité thermique des divers biocomposites (BC, BP, OC et OP) en fonction de la teneur en eau. Ils ont également démontré que la conductivité thermique diminue avec l'augmentation de la teneur en eau pour les quatre formulations étudiées. Par ailleurs, en substituant la chaux par le plâtre comme liant, la conductivité thermique a diminué. De même, le changement du type de granulats, en remplaçant la paille de blé par de la paille d'orge, a également entraîné une diminution de la conductivité thermique avec la chaux comme liant.

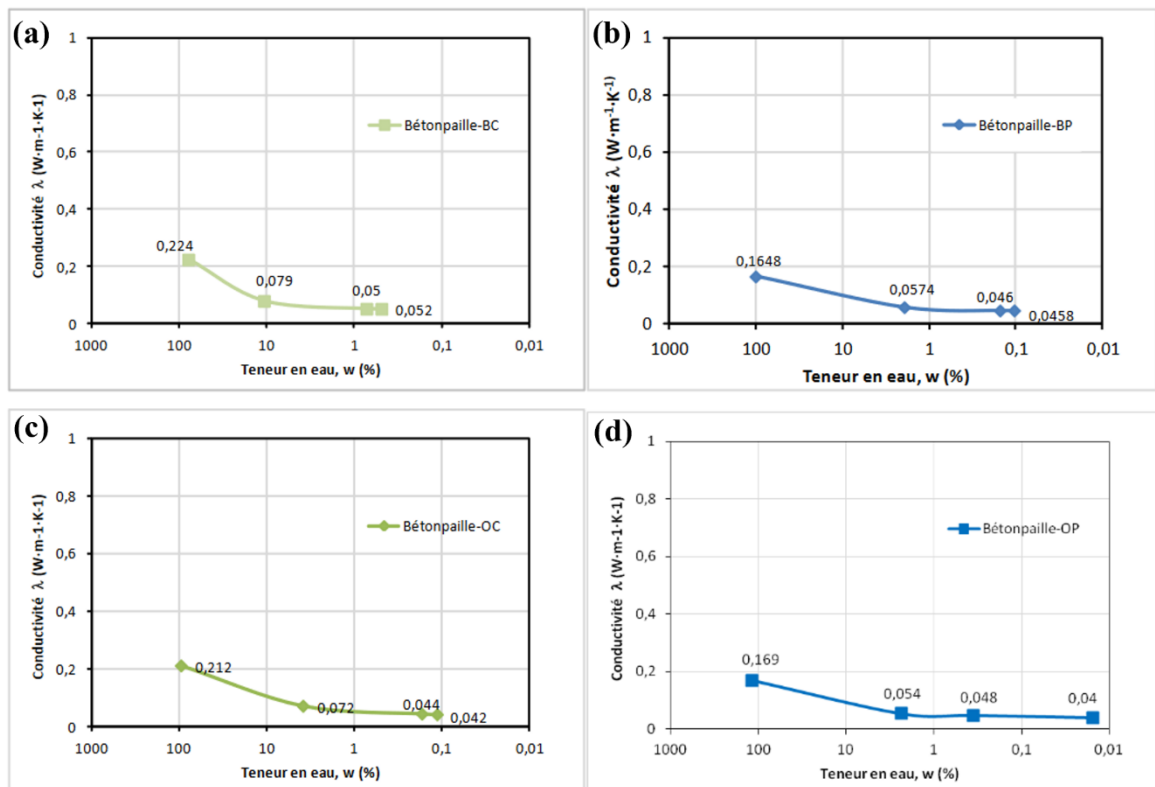


Figure 1. 10 : Evolution de la conductivité thermique des différents biocomposites (a) BC, (b) BP, (c) OC et (d) OP en fonction de la teneur en eau (échelle logarithmique) [30]

D'autres travaux de recherches menés par (Delannoy, 2018) [17] ont montré que les valeurs de la conductivité thermique trouvées du béton de chanvre sont de l'ordre de 0,1 W/(m.K) pour une densité d'environ 350 kg/m³. Ces résultats sont cohérents avec ceux trouvés par (Marceau et al., 2016) [58] qui ont mesuré une conductivité de l'ordre de 0,105 W/(m.K) pour une densité de 325 kg/m³.

En plus de l'effet de l'eau, de l'humidité et la masse volumique, les microorganismes ont une influence significative sur la conductivité thermique des matériaux biosourcés. Différentes études de la littérature ([17] [31] [58]) ont investigué cet effet des microorganismes sur les performances thermiques des matériaux de construction.

(Vasiliauskienė et al., 2023) [35] ont étudié l'impact des microorganismes sur les performances de composites imprégnés d'huile de lin et d'huile de tung fabriqués à partir de copeaux de chanvre et d'amidon de maïs. Après 6 mois d'incubation de ces matériaux, leur conductivité thermique avait diminué en moyenne de 1,8% (Figure 1. 11). Le procédé d'imprégnation à base d'huiles végétales favorise une pénétration en profondeur de l'huile au sein des fibres constitutives du matériau, ce qui confère un renforcement substantiel de sa résistance face à l'humidité.

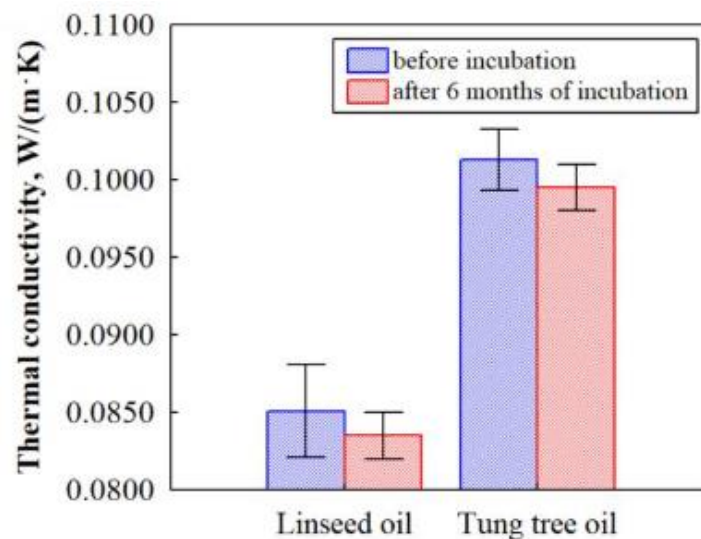


Figure 1. 11 : Conductivité thermique des biocomposites à base de chanvre après 6 mois d'incubation [49]

D'autre part, les microorganismes peuvent également influencer la conductivité thermique par le biais de leur métabolisme. La plupart des microorganismes produisent de la chaleur lorsqu'ils métabolisent des nutriments dans leur environnement [59], ce qui peut augmenter localement la conductivité thermique. (Delannoy, 2018) [17] a remarqué que le biofilm de bactéries présent à la surface du béton de chanvre avait fermé la porosité et entraîné par conséquent une augmentation de la conductivité thermique de deux formulations (FL-HC et NV-HC) (Figure 1. 12).

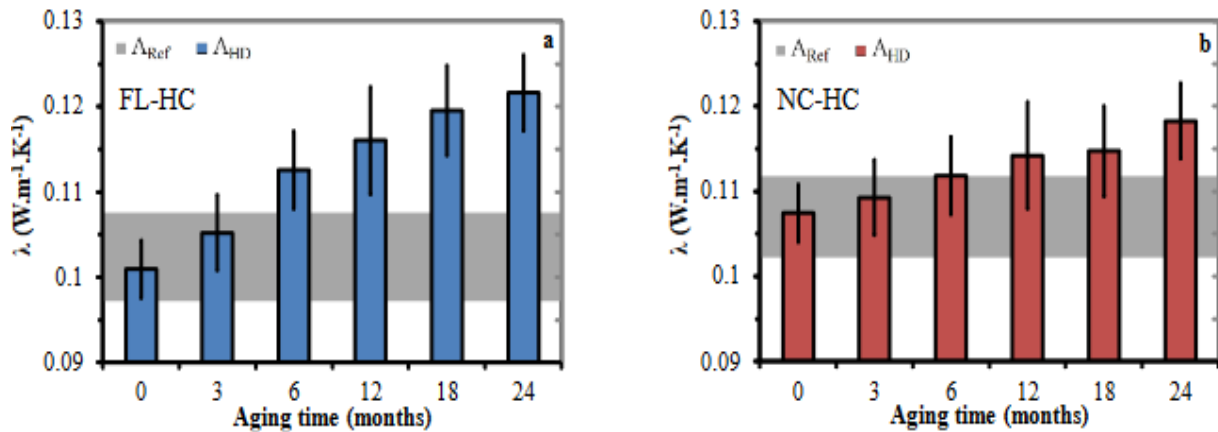


Figure 1. 12 : Evolution de la conductivité thermique de (a) FL-HC mélange chaux – chanvre et (b) NC-HC mélange ciment chanvre en fonction de temps de vieillissement accéléré au développement microbien [17]

Contrairement aux études de (Vasiliauskienė et al., 2023) [31] et (Delannoy, 2018) [17] qui ont montré une influence du développement microbien sur la conductivité thermique, par une diminution et une augmentation respectivement, (Marceau et al., 2016) [58] ont montré que la conductivité thermique du béton-chanvre n'a pas varié après leur exposition à un environnement favorable au développement microbien. Cet environnement a été représenté par huit cycles d'humidification et séchage sous des humidités variant entre 40 et 90% à une température de 30°C.

1.2.3.3. Propriétés hydriques

Après cet aperçu sur la résistance de compression et la conductivité thermique des matériaux biosourcés, nous avons constaté que l'état hydrique a une grande influence sur les propriétés de ces matériaux. Ces matériaux se caractérisent par une porosité importante qui leur confèrent une isolation thermique, mais aussi un comportement hygroscopique et une sensibilité à l'eau et à l'humidité. Une évolution de l'humidité relative de l'air ambiant entraîne rapidement une évolution de la teneur en eau des matériaux et influence donc leur comportement. La variation de la teneur massique en eau en fonction de l'humidité relative est représentée par la courbe de sorption/désorption. Les Figure 1. 13 et Figure 1. 14 présentent les courbes de sorption/désorption de quelques matériaux (Bois, béton et brique) obtenues par (Serada et al., 1973) [43] et d'autres matériaux biosourcés [39]. Ces courbes présentent une hystérésis entre la courbe de séchage équilibrée (désorption) et la courbe d'humidification (sorption). La différence entre les réponses des matériaux est influencée par la nature du matériau, les dimensions des pores et l'espace total des pores.

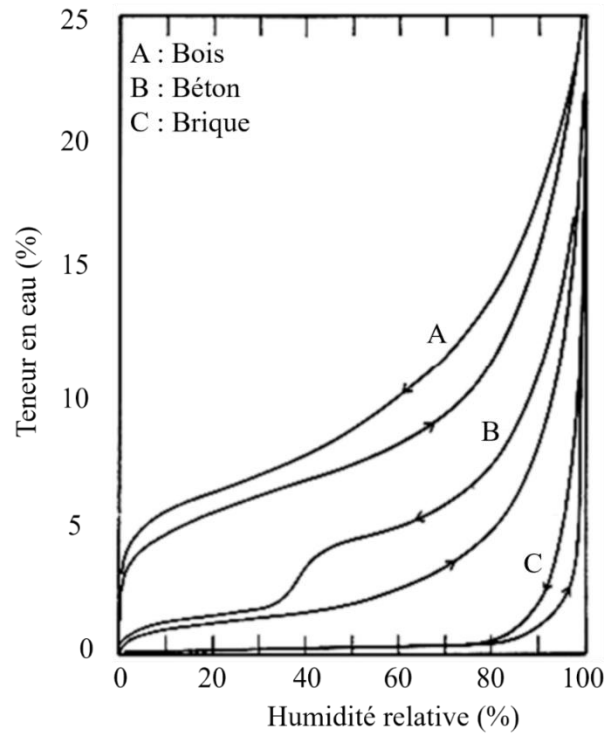


Figure 1.13 : Courbes de sorption/désorption de quelques matériaux [43]

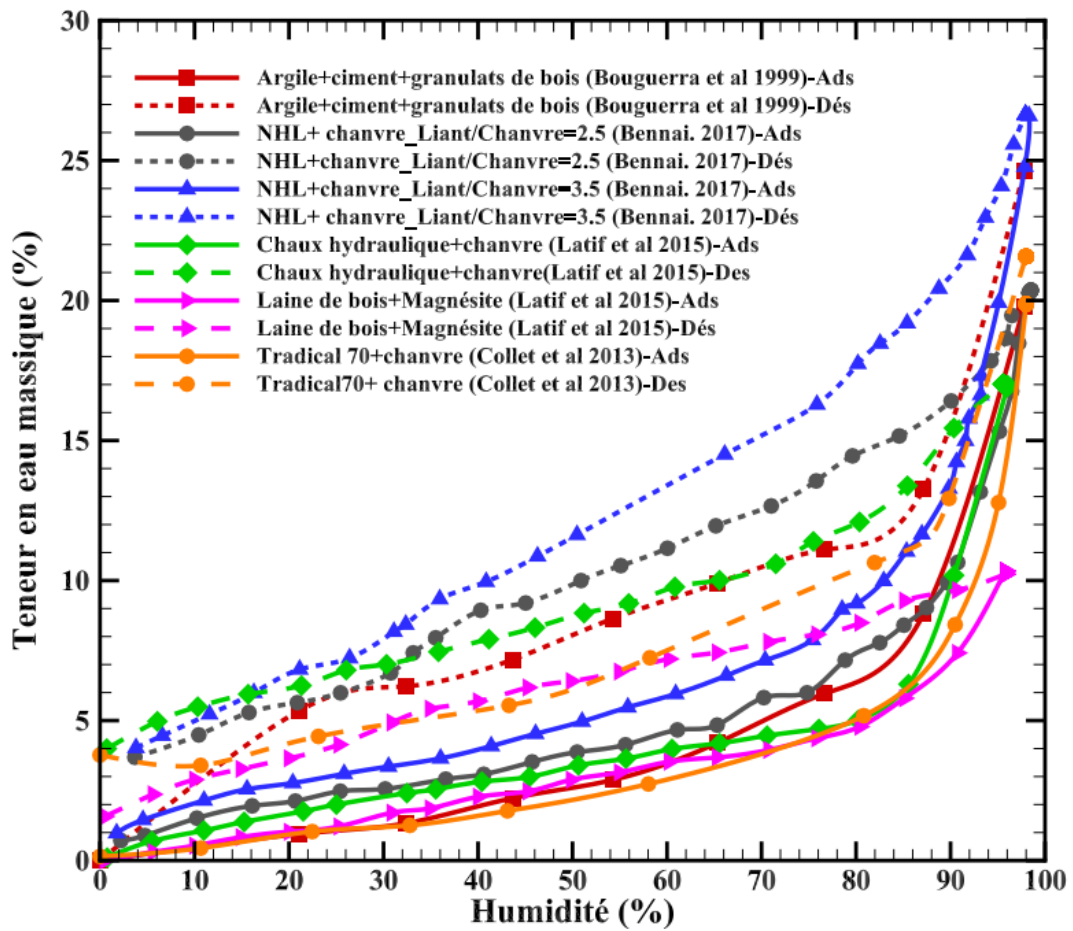


Figure 1.14 : Courbes des isothermes de sorption-désorption de quelques matériaux biosourcés issus de la littérature [39]

La sensibilité des matériaux biosourcés à l'humidité se traduit par des variations dimensionnelles accompagnant les variations de cette humidité. Plusieurs travaux de la littérature sur les matériaux biosourcés ([60] [44]) ont démontré que la quantité de particules végétales présente dans le matériau influence la stabilité dimensionnelle du matériau. Plus la quantité de particules est élevée, plus la quantité d'eau absorbée est grande, et par conséquent les variations dimensionnelles sont importantes. Par ailleurs, l'augmentation de la quantité de liant peut résoudre le problème de l'instabilité dimensionnelle, mais cette solution n'est pas avantageuse du point de vue environnemental et thermique. Pour cela, plusieurs études ([53] [60] [44] [61] [62]) ont proposé des traitements de granulats pour limiter leur sensibilité aux variations de l'humidité relative. Les travaux menés par (Khazma et al., 2011) [62] ont montré que l'ajout de saccharose a amélioré la stabilité dimensionnelle du béton végétal.

Pour mieux voir les différences de comportement entre différents matériaux après une exposition à des fortes humidités, le Tableau 1. 2 présente une comparaison des valeurs de gain massique en eau, déduites des courbes de sorption/désorption à 50% d'humidité, en fonction de la masse volumique.

Tableau 1. 2 : Comparaison des valeurs de gain massique en eau en fonction de la masse volumique de différents matériaux de construction issus de la littérature

| Références | Matériaux | Gain massique à 50% d'humidité (%) | Masse volumique (kg/m ³) |
|------------|---|------------------------------------|--------------------------------------|
| [43] | Béton hydraulique | 2 | 2300 |
| | Béton cellulaire | 3 | 500 |
| | Brique | 0,%)5 | 1800 |
| | Plâtre + ciment | 0,2 | 2500 |
| | Bois | 8 | 800 |
| [17] | Chanvre + chaux | 5 | 348 |
| | Chanvre + ciment | 5 | 350 |
| [39] | Paille de blé + chaux + hémoglobine + caséine | 13 | 312 |
| | Paille de blé + chaux + gélatine | 8 | 294 |
| | Paille de blé + plâtre | 0,2 | 285 |
| [25] | Ecorce de tournesol + argile | 4 | 714 |
| | Moelle de tournesol + argile | 3 | 235 |
| | Ecorce et moelle + argile | 8 | 512 |
| | Paille de colza + argile | 5 | 438 |

(Delannoy, 2018) [17] a étudié le comportement hydrique d'un béton de chanvre par des isothermes de sorption-désorption. Il a suivi la quantité d'eau absorbée par le biocomposite en totalité, le liant de chaux seul et les granulats de chènevotte seuls. Il a montré que le béton

chanvre a un comportement similaire à la chènevotte pour les premiers jours (5 jours) d'humidification de 0 à 97% d'humidité. L'eau est majoritairement adsorbée par les granulats végétaux grâce à leur porosité élevée en comparaison avec le liant [10] (Figure 1. 15).

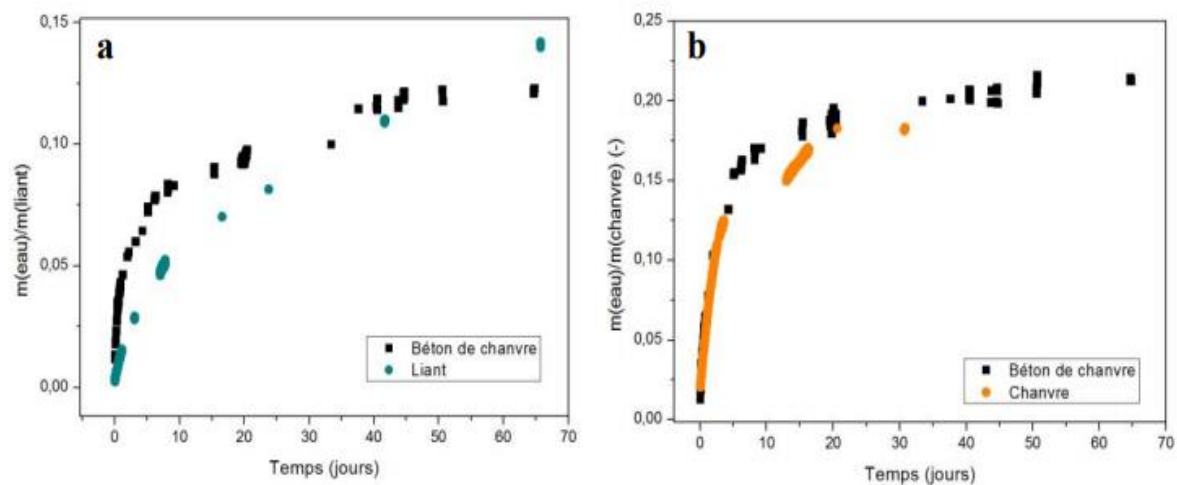


Figure 1. 15 : Comparaison de l'adsorption d'eau du béton chanvre, du (a) liant et du (b) chanvre en fonction du temps [17]

Différents chercheurs ([25] [39]) ont étudié également la valeur tampon hydrique (MBV) des matériaux biosourcés. Ce paramètre permet de déterminer la capacité du matériau à modérer les variations d'hygrométrie en fonction des variations des humidités relatives. Quel que soit le type de granulats (paille de blé [39], paille de colza et tournesol [25],...) ou le type du liant (chaux [39] et terre crue [25],...), les biocomposites développés ont été qualifiés d'excellents régulateurs hydriques avec des valeurs tampons hydriques supérieures à $2 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \% \text{RH})$.

La perméabilité à la vapeur d'eau est un paramètre utilisé dans le domaine de construction pour permettre l'évaluation de la capacité du matériau à transférer la vapeur d'eau dans une paroi. Par ailleurs, la mesure de la perméabilité des matériaux est essentielle pour la conception d'une enveloppe efficace de bâtiments confortables et sans problèmes de condensation. Grâce à leur perméabilité élevée comme celle du béton chanvre de $2,3 \cdot 10^{-11} \text{ kg}/\text{m.s.Pa}$ [57] ou celle des biocomposites à base de paille d'environ $2,4 \cdot 10^{-11} \text{ kg}/\text{m.s.Pa}$ [39], les matériaux biosourcés sont les meilleurs candidats pour l'isolation thermique des bâtiments neufs et la réhabilitation des bâtiments anciens.

1.2.4. Phénomène de carbonatation de la chaux

Les matériaux biosourcés utilisent généralement des liants hydrauliques tels que le ciment et la chaux. Dans le cas des biocomposites à base de chanvre ([17]), de paille de blé ([28] [39]), de paille de colza ([17] [18]) et de tournesol ([25]), il s'agit souvent d'un liant préformulé qui est un mélange de chaux aérienne, de chaux hydraulique et de liants pouzzolaniques ([17]). La chaux vive (CaO) est le résultat de cuisson d'un calcaire pur sans argile à une température autour de 1000°C . Sa prise, résultant d'une réaction avec le dioxyde de carbone CO_2 , se produit par carbonatation, formant du CaCO_3 . Ce processus peut prendre plusieurs mois, voire plusieurs années. En revanche, la chaux hydraulique, produite principalement avec de l'argile lors de la cuisson, induit la formation de silicate dicalcique C_2S , avec une proportion variante entre 5 et

40 %, et une quantité moindre de silicate tricalcique C₃S. L'hydratation des C₃S entraîne une prise hydraulique à court terme (quelques heures), tandis que celle des C₂S contribue à la résistance mécanique à long terme (à partir de 28 jours et jusqu'à un an) [63].

Les conditions d'humidité, ont une influence majeure sur les mécanismes de carbonatation/hydratation et le temps de durcissement [64]. La carbonatation est possible pour une humidité entre 40 et 90%, avec une gamme optimale variant entre 50 et 70%. En effet, l'absence totale d'humidité empêche la dissolution de CO₂, tandis qu'une humidité excessive (au-delà de 90 %) entraîne la condensation capillaire, bloquant la diffusion de CO₂.

La carbonatation de mélange de chaux aérienne-hydraulique, nécessitent d'une part, un contact au CO₂ et d'autre part, un contact à l'eau. Généralement, l'évaluation du phénomène de carbonatation peut être fait par des analyses thermogravimétriques (ATG) qui permettent de calculer un taux de carbonatation de la chaux. Plus le taux de carbonatation est élevé, plus la résistance mécanique est élevée. Cérezo (2005) [21] a mené une étude sur les propriétés mécaniques du béton de chanvre (mélange de chaux et de chènevotte) sur une période s'étalant de 21 jours à 24 mois, avec une caractérisation effectuée tous les 3 mois. Ses observations ont mis en évidence une évolution significative de la résistance mécanique au cours du temps, se décomposant en trois phases distinctes. Durant les 3 premiers mois, la résistance mécanique a été multipliée par deux pour diverses formulations. De 3 mois à 1 an, cette valeur a augmenté de 10 à 50 % en fonction du dosage en liant de chaque formulation. Au-delà d'une année de cure, l'augmentation de cette résistance est devenue beaucoup plus lente, avec un pourcentage de croissance inférieur à 10%.

1.3. Intérêt de l'étude de durabilité des matériaux

La durabilité d'un matériau est son aptitude à maintenir dans le temps ses fonctions, lorsqu'il est soumis à de multiples conditions. Ces conditions peuvent être internes au matériau c'est à dire liées à sa microstructure ([65] [66]) et/ou à la physico-chimie de ses composants ([67] [68]) comme elles peuvent être externes, liées aux conditions environnementales telles que l'humidité et la température. (Crozatier, 2017) [69] a défini la durabilité par la durée de vie d'un matériau, correspondant au temps réel durant lequel la structure réalise ses fonctions en toute sécurité. L'évaluation de la durabilité dans le domaine des bâtiments relève des critères du développement durable et de sécurité exigeant l'utilisation des matériaux avec des propriétés fonctionnelles à long terme et garantissant la stabilité de la structure. Ces propriétés sont étudiées sur la durée de vie du produit, de production jusqu'à sa détérioration complète en fin de vie. Ces études permettent de suivre l'évolution des propriétés des matériaux en lien avec trois paramètres importants : les propriétés initiales du matériau, les conditions de son utilisation et l'environnement dans lequel il se trouve. Malgré les études nombreuses dédiées à ce sujet, la mesure de la durabilité d'un matériau de manière précise reste impossible. En effet, la dégradation des matériaux est souvent le résultat de plusieurs sollicitations et l'interaction de différents mécanismes très complexes.

L'étude de la durabilité est souvent réalisée en utilisant des essais de vieillissement accéléré au laboratoire permettant de simuler l'environnement du matériau en croisant les différentes conditions qui permettent de reproduire les variations de différentes sollicitations climatiques

ou accidentelles. Des essais non-accélérés sont possibles également en exposant les matériaux à leur environnement réel et des variations journalières de température et d'humidité [17]. Dans les travaux de la littérature qui concernent les matériaux de construction classiques comme le béton, les enduits/mortiers de protection, la pierre, l'acier et le bois, les essais de durabilité sont bien cadrés avec des normes particulières et spécifiques [39]. Ces normes détaillent les conditions de l'étude, le temps, le nombre de cycles à effectuer et les caractérisations à réaliser ainsi que les critères à respecter selon la classe structurale et environnementale des matériaux. Concernant les matériaux biosourcés à base de granulats végétaux, il n'existe pas à ce jour un cadre normatif et un consensus autour des essais prenant en compte ce nouveau type de matériaux. L'étude de durabilité est basée sur les travaux et les normes des matériaux classiques avec des adaptations parfois en prenant en comptes la densité de ces matériaux, leurs conditions d'utilisation et leur composition.

1.3.1. Etude de vieillissement accéléré au laboratoire

Différents types d'essais de vieillissement ont été adoptés pour accélérer l'évolution des propriétés des matériaux de construction y compris les bétons à base de végétaux au laboratoire : le vieillissement environnemental, basé sur des variations de température, d'humidité, du milieu chimique comme les essais d'humidification/séchage, les essais gel/dégel et les essais d'attaque au sel, ainsi que le vieillissement biologique représenté par la biodégradation.

1.3.1.1. Vieillissement environnemental accéléré au laboratoire

Les études de vieillissement environnementales au laboratoire sont importantes pour tenter de comprendre le comportement des matériaux et leur détérioration avec le temps dans des conditions réelles d'utilisation. Ces études permettent de simuler les effets du vieillissement accéléré sous des conditions contrôlées, ce qui permet d'obtenir des résultats plus rapidement en comparaison avec le vieillissement naturel dans leur environnement d'utilisation.

Le Tableau 1. 3 présente un résumé de quelques études décrite dans la littérature sur le vieillissement environnemental des matériaux de construction classiques, y compris quelques matériaux biosourcés. Il présente également les conditions des essais de vieillissement accéléré en termes des protocoles normés utilisés, de durée et de température.

Tableau 1. 3 : Résumé de quelques études du vieillissement environnemental des matériaux de construction (hr : humidité relative)

| Essai | Matériaux | Descriptions | Durée | Normes | Références |
|------------------------|---------------|--|------------|----------------------------|------------|
| Humidification/séchage | Béton | Immersion (18h) Séchage (6 à 8h à 60°C) | 250 cycles | - | [70] |
| | Béton terre | Immersion (5h) Séchage (42h à 60°C) | 25 cycles | ASTM D559/D559M [71] | [72] |
| | Béton chanvre | Humidification (98% hr, 30°C, 5j) | 2 ans | - | [17] |

| | | | | | |
|------------------|---------------------------------|--|--------------------|----------------------------|------|
| | | Séchage (40% hr, 30°C, 2j) | | | |
| | Béton paille | Humidification (95% hr, 10°C, 1j) Séchage (60°C, 1j) | 3 mois | - | [39] |
| Gel/dégel | Matériaux cimentaires | T = [-20 à 20°C] 15h gel et 9h dégel | - | - | [73] |
| | Béton chanvre | T = [-15 à 20°C] | 10 cycles (9 mois) | NF -EN ISO 15304/2010 [74] | [34] |
| | Béton paille | T = [-15 à 30°C] durant 8 h | 10 cycles | NF -EN ISO 15304/2010 [74] | [39] |
| Attaque aux sels | Pierre de Tuffeau et Sébastopol | Immersion (2h) à 20°C dans une solution saline : NaCl (14%), Na ₂ SO ₄ (14%) Séchage (20h) à 105°C Refroidissement (2h) à 20°C | 15 cycles | NF-EN 12370 [75] | [76] |
| | Enduit de protection | | | NF-EN 12370 [75] | [26] |
| | Biocomposites à base de bois | Immersion pendant 30 min dans une solution saline : NaCl (5%), NaOH (5%) et H ₂ SO ₄ (5%) | - | ASTM C 267 - 96 [77] | [78] |

Ci-dessus, sont décrits de manière succincte les protocoles utilisés et quelques résultats de la littérature sur l'étude du comportement des matériaux de construction vis-à-vis du vieillissement environnemental représenté par les essais d'humidification/séchage, de gel/dégel et des attaques aux sels.

1.3.1.1.1. Comportement des matériaux vis-à-vis de l'humidification/séchage

De nombreux matériaux, tels que les revêtements, les peintures, les composites, les matériaux de construction, peuvent être soumis à des cycles d'humidité et de séchage dans leur environnement d'utilisation. Le test d'humidification-séchage permet de simuler ces conditions réelles et d'évaluer comment ces matériaux se comportent sous des cycles d'humidité répétés. Exposés à ces cycles, ces matériaux peuvent réagir de plusieurs manières à l'absorption d'humidité. Ils peuvent gonfler, se fissurer et se dégrader à la fin. Dans la plupart des cas, les propriétés mesurées après ces cycles sont les propriétés mécaniques pour évaluer l'impact sur l'évolution des résistances mécaniques. Par exemple, les études menées par (Hakimi et al., 1998) [79] sur l'effet des cycles d'humidification-séchage des blocs de terre comprimée et stabilisée au ciment, ont montré une perte de performance mécanique après une série de cycles. La Figure 1. 16 montre une diminution progressive de la résistance mécanique du matériau en

fonction du nombre de cycles appliqués, en notant une diminution de 18% entre le 1^{er} et le 6^{ème} cycle).

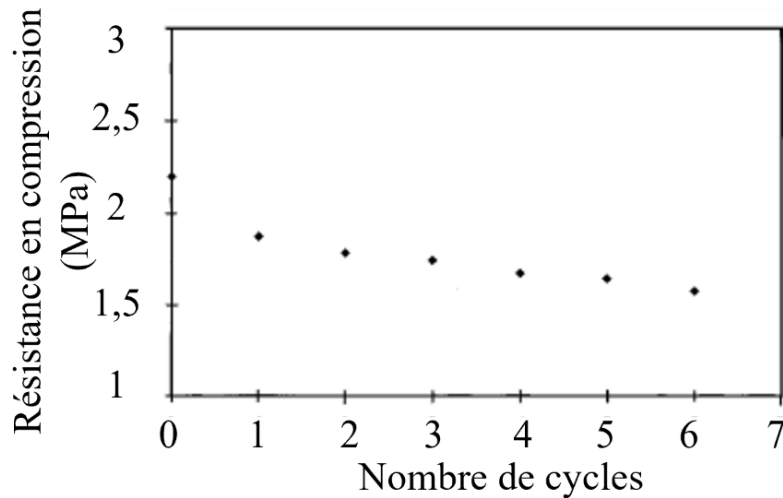


Figure 1. 16 : Evolution de la résistance en compression en fonction du nombre de cycles [79]

(Sall, 2011) [70] a travaillé sur l'amélioration de la durabilité d'un béton utilisé pour des revêtements routiers prévus pour des climats chauds et secs, par l'ajout des composants de tuf volcanique avec un superplastifiant Melment F10. Le béton de contrôle (non modifié) et le béton modifié avec les composants ont été exposés à des cycles d'humidification et de séchage. Des essais de compression et de traction ont été réalisés pour évaluer l'effet de ces cycles sur leur comportement mécanique (Figure 1. 17). Les résultats ont montré que le béton de contrôle a perdu sa résistance mécanique après 240 et 180 cycles en compression et en traction respectivement.

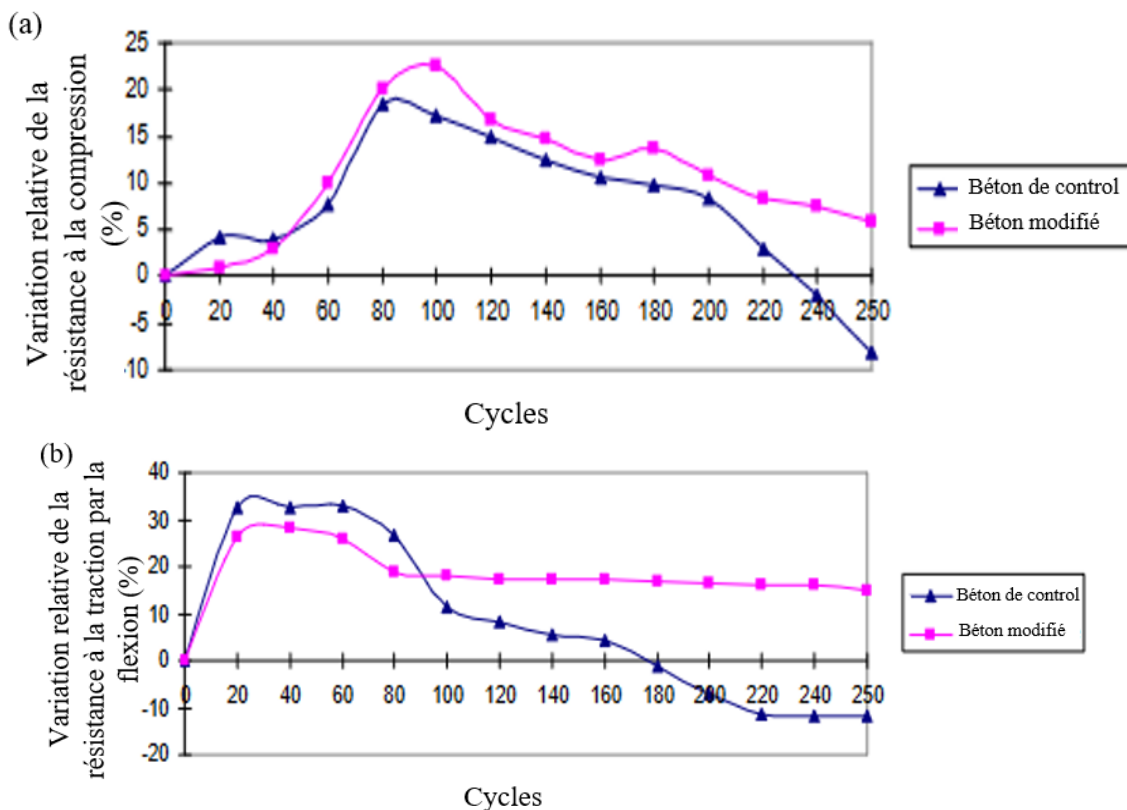


Figure 1. 17 : Evolution de la variation de la résistance des bétons soumis à des cycles d'humidification/séchage en (a) compression et en (b) traction [70]

(Delannoy, 2018) [17] a travaillé sur la durabilité du béton de chanvre soumis à des cycles d'humidification-séchage sur une période de deux années. Les résultats de cette étude ont montré que pendant le processus de vieillissement accéléré, la valeur de la conductivité thermique a augmenté d'environ 18%. La valeur du coefficient d'absorption acoustique est restée constante, tandis que la valeur de la résistance mécanique a montré une certaine dispersion au cours du temps, mais cette dispersion était plus faible probablement en lien avec une mauvaise hydratation des liants. La valeur de la porosité a montré une augmentation non significative de 3%. En ce qui concerne la masse, elle a augmenté d'environ 10% après 18 mois et est ensuite restée constante jusqu'à 24 mois.

(Kouta et al., 2021) [72] a étudié l'effet des cycles humidification/séchage sur le comportement mécanique des bétons de terre. Après l'application de 25 cycles, des essais de compression ont été réalisés. Une diminution de la résistance mécanique d'environ 50% a été observée, accompagnée d'une fissuration importante de la surface des éprouvettes du béton dès les premiers cycles d'humidification/séchage.

Différents travaux de la littérature ont été menés sur l'effet des cycles humidification/séchage sur des matériaux biosourcés à base paille de blé ([39], [47]). Ces matériaux ont montré une sensibilité face à ces cycles. En effet, la résistance mécanique a montré une diminution après le 5^{ème} cycle (Figure 1. 18) et cela est due au lessivage du liant à la surface de la paille du fait de l'immersion des éprouvettes testées [47]. Il a été également constaté une diminution de la conductivité thermique due essentiellement à l'augmentation de la porosité induite par les microfissures provoquées par ces cycles [39].

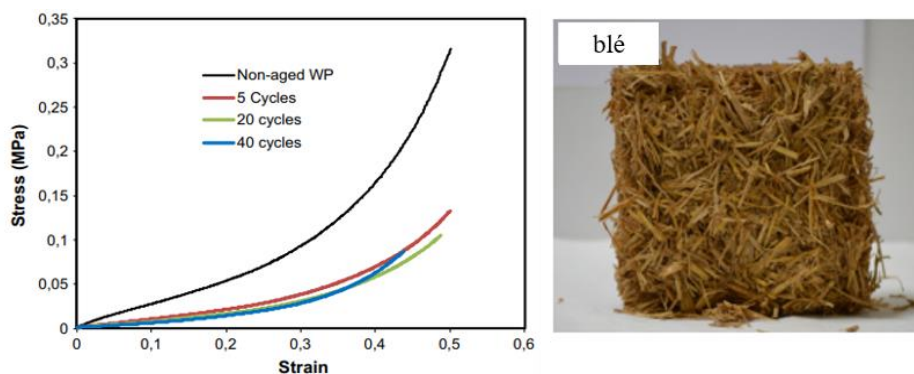


Figure 1. 18 : Comportement mécanique et aspect du biocomposite à base de paille de blé et de plâtre après des cycles humidification/séchage [47]

1.3.1.1.2. Comportement des matériaux vis-à-vis du gel-dégel

Les cycles gel-dégel sont réalisés sur les matériaux pour évaluer leur résistance et leur comportement face aux conditions de gel et de dégel répétées. Ces cycles sont particulièrement importants pour les matériaux qui sont exposés à des environnements froids et humides, où l'eau peut se congeler et décongeler à plusieurs reprises. Le test des cycles gel-dégel permet de simuler ces conditions réelles pour ensuite évaluer le comportement des matériaux sous ces cycles à court et à long termes. Ces cycles peuvent provoquer des fissures et des dégradations des

matériaux d'où l'intérêt d'améliorer la conception des produits et le choix des matériaux pour des performances optimales dans des environnements froids et humides.

Différentes études ont été menées sur des matériaux de construction soumis à des cycles gel-dégel pour évaluer leur durabilité dans des conditions accélérées au laboratoire. Des endommagements ont été observés sur des bétons hydrauliques après l'application de 180 cycles gel-dégel (Figure 1. 19) [74], et sur des matériaux en terre compactée après 4 cycles gel-dégel (Figure 1. 20) [75].

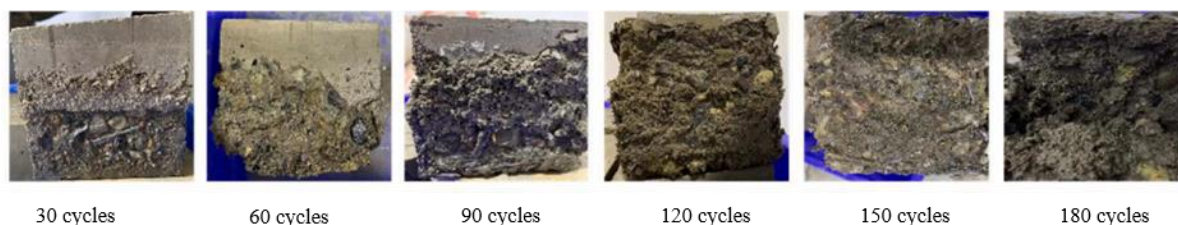


Figure 1. 19 : Surfaces endommagées d'un béton après les cycles de gel-dégel [80]

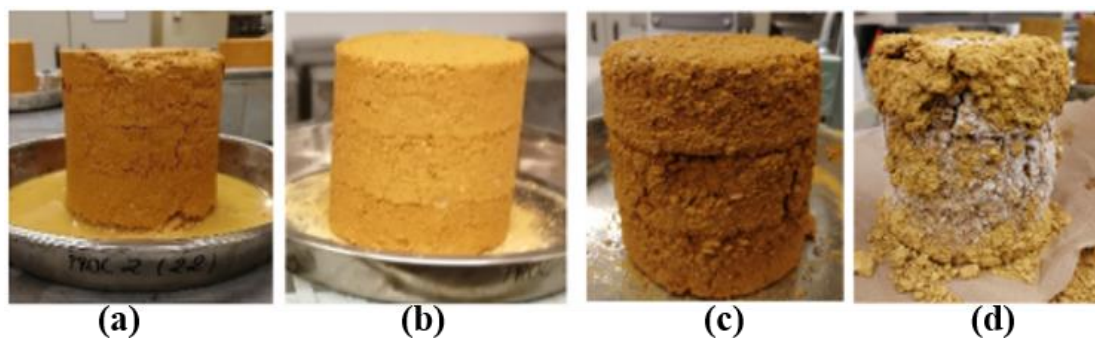


Figure 1. 20 : Evolution des endommagements des matériaux à base de terre battue après (a) 1 cycle, (b) 2 cycles, (c) 3 cycles et (d) 4 cycles [81]

Cependant, il y a peu d'études qui ont été réalisées sur l'effet des cycles gel-dégel sur les matériaux biosourcés. Par ailleurs, (Walker et al., 2014) [34] ont effectué des travaux de recherche sur l'effet du liant sur la durabilité d'un matériau biosourcé à base de chanvre, vis-à-vis du gel-dégel. Le protocole proposé suit la norme NF-EN ISO.15304/2010 [74] pour le béton cellulaire autoclavé. Les bétons de chanvre à liants chaux-pouzzolane sont plus sensibles à l'action gel-dégel que ceux à liants chaux-ciment. Cette résistance est probablement dû à leur faible absorption d'eau à cause de la présence des pores de plus petites tailles remplis d'hydrates, ce qui entraîne moins d'eau disponible pour provoquer des dommages causés par ces cycles gel-dégel.

Ces résultats ont été également démontrés dans les travaux de (Marceau et al., 2016) [82] qui ont mentionné que les bétons de chanvre résistent bien aux phénomènes de gel-dégel. Cela a été également démontré dans les travaux menés par (Belayachi et al., 2016) [47] sur des matériaux biosourcés à base de paille de blé et de plâtre, qui montrent leur résistance au cycle gel-dégel (Figure 1. 21). Cette résistance peut être due à l'effet du liant utilisé sur la porosité de ces matériaux. En effet, la carbonatation de la chaux peut avoir une influence importante sur la durabilité vis-à-vis du gel-dégel [83]. La carbonatation permet la diffusion de particules de carbonate de calcium CaCO_3 , permettant de fermer les pores ce qui fait diminuer la porosité du

liant. Cela a réduit la quantité d'eau stockée dans les pores ce qui minimise la vulnérabilité à l'action du gel-dégel et fait augmenter la résistance mécanique du biocomposite [84].

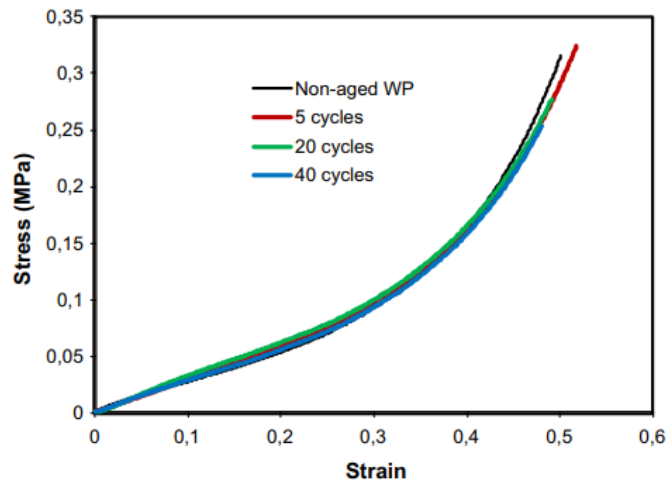


Figure 1. 21 : Comportement mécanique des biocomposites à base de paille de blé et de plâtre après 5, 20 et 40 cycles d'humidification/séchage [47]

(Page, 2017) [52] a mené des études sur des composites cimentaires biofibrés par des fibres de lin, exposés à 300 cycles de gel-dégel. La résistance mécanique des composites biofibrés a augmenté après les 300 cycles (Figure 1. 22). Cependant, les bétons non-biofibrés ont subi une détérioration complète après les 300 cycles (Figure 1. 23), ce qui a résulté en une baisse importante de leur performance mécanique. En effet, les fibres de lin incorporées dans les bétons exposés au gel ont joué le rôle d'entraîneur d'air, en augmentant la porosité de ces composites et offrant ainsi une meilleure résistance au gel.

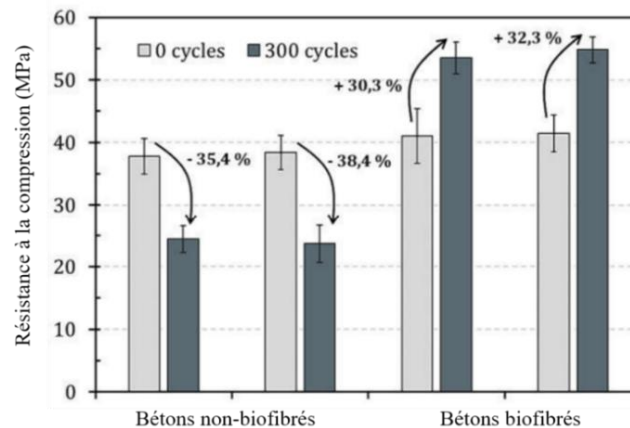


Figure 1. 22 : Résistance en compression des bétons non-biofibrés et biofibrés avant et après les 300 cycles [52]



Figure 1. 23 : Photos des éprouvettes des bétons avant et après les 300 cycles de gel-dégel pour les bétons biofibrés et non-biofibrés [52]

Malgré les diverses études réalisées sur l'effet des cycles gel-dégel sur le comportement des matériaux de construction, les réponses varient en fonction des propriétés physiques, chimiques et microstructurales de ces matériaux. Tout d'abord, on peut citer la porosité du matériau comme étant un important paramètre qui peut influencer le comportement du matériau suite aux cycles de gel-dégel [85]. Les matériaux poreux présentent des pores vides à l'intérieur du matériau. Lorsque l'eau pénètre dans ces pores et se fige en gel par temps froid, elle peut provoquer une expansion des pores et ensuite exercer une pression interne, conduisant à des fissures au niveau du matériau. Cependant, les matériaux moins poreux et donc plus denses sont moins susceptibles d'être endommagés durant ce phénomène. Ensuite, certains matériaux ont une capacité d'absorption d'eau plus élevée que d'autres. Pendant les cycles de gel-dégel, les matériaux qui absorbent plus d'eau sont également plus susceptibles de subir des dommages causés à la fois par l'expansion de la glace à l'intérieur du matériau et le gonflement des granulats [86]. Ils existent également des matériaux comme les pierres naturelles qui renferment certains minéraux (gypse, oxalate, calcite...) pouvant réagir avec l'eau pour former des cristaux expansifs, contribuant également aux dommages du matériau [87].

1.3.1.1.3. Comportement des matériaux vis-à-vis de l'attaque aux sels

Les matériaux de construction peuvent subir des dégradations et des altérations dans les environnements riches en sulfates, phénomène connu sous le nom de processus d'attaque sulfatique. Dans la littérature, les attaques sulfatiques sont classées en deux catégories en fonction de la source des sulfates ([88] [89] [90]) : (1) les attaques sulfatiques internes qui correspondent au cas où les composants du matériau (granulats, liants...) sont riches en sulfates qui par conséquent peuvent se répartir dans le matériau ; et (2) les attaques sulfatiques externes qui correspondent au cas où les sulfates proviennent d'une source extérieure qui rentre en contact avec le matériau.

Des travaux menés par (Blanc, 2017) [88] ont porté sur l'étude de l'effet de l'attaque sulfatique sur les propriétés mécaniques des formulations différentes de mortier à base de ciment de type CEMI et CEMIII et renforcées par des fibres. Ces formulations ont été immergées dans l'eau

ou dans des solutions salines de Na_2SO_4 . La Figure 1. 24 présente la comparaison de la résistance en compression des quatre formulations dont leurs composants sont présentés également sur la Figure 1. 24, à l'âge de 56 semaines après 3 mois de cure, entre l'état initial et les deux états d'immersions (à l'eau et aux sels).

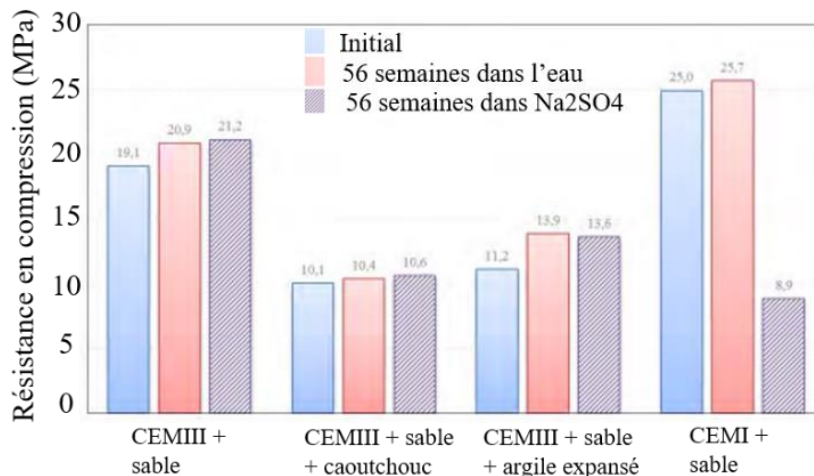


Figure 1. 24 : Evolution de la résistance en compression des mortiers soumis à l'attaque sulfatique [88]

Seule la formulation à base de ciment CEMI a montré une chute de la résistance mécanique suite aux attaques aux sels. Cependant, les autres matériaux n'ont pas montré une perte de résistance mécanique grâce à la présence des fibres qui ont assuré le renfort du mortier et/ou du ciment de type CEMIII contenant essentiellement du laitier de haut-fourneau qui a des propriétés bénéfiques en termes de résistance aux sels [91].

(Belayachi et al., 2020) [92] ont évalué le potentiel des enduits à base d'Ostapur et d'Aluminium, pour la protection des matériaux biosourcés à base de granulats végétaux, à résister aux agressions chimiques par l'attaque aux sels. Pendant les premiers cycles, une augmentation de la masse sèche est observée. Cette augmentation est due au stockage du sel dans les pores. Ensuite, une diminution de cette masse a été observée à cause de la détérioration progressive de l'enduit et enfin, une ruine complète a été constatée vers le 10^{ème} cycle avec l'Ostapur et vers le 22^{ème} cycle avec l'Aluminium.

Souvent, les attaques sulfatiques au laboratoire sont réalisés par des cycles d'immersion du matériau dans des solutions salines. Ces attaques peuvent être à l'origine de dégradation des propriétés du matériau. Cependant, il existe des traitements des matériaux avec des solutions salines dans le but d'améliorer leurs performances comme c'est le cas des matériaux biosourcés développés par (Kareche, 2020) [78]. Ses études ont concerné des investigations sur la durabilité et la dégradation des composites biosourcés à base de bois de palmier dattier. Ces biocomposites ont été traités par l'eau et deux types de solutions salines, chacune étant composée de 5% d'un sel : NaCl ou NaOH , afin d'évaluer leur durabilité dans différents milieux chimiques. Les pourcentages d'augmentation de la résistance à la compression de biocomposites renforcés avec les fibres de palme se situent entre 32 et 53% pour le traitement au NaCl , entre 40 et 80% pour le traitement au NaOH et entre 10 et 15% pour le traitement à l'eau (Figure 1. 25).

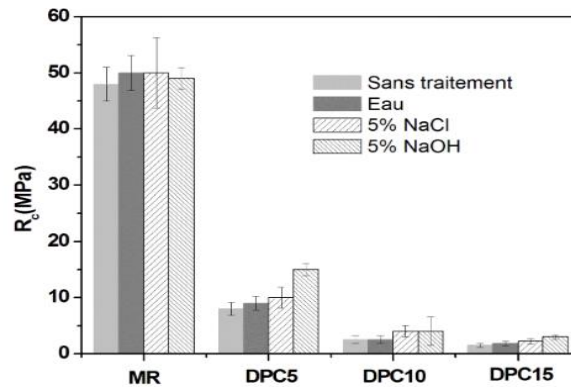


Figure 1. 25 : Résistance à la compression des biocomposites à base de bois avec et sans traitement à des différents teneurs en fibres de palme [78]

1.3.1.2. Vieillesse biologique au laboratoire : biodégradation

La biodégradation est une activité induite par les microorganismes, tels que les bactéries ou les champignons, laquelle peut modifier les propriétés du matériau pendant sa durée d'usage en service. Le résultat du développement des microorganismes peut être directe lorsque la dégradation résulte de la formation des matières biologiques dans la porosité du matériau, aboutissant à une fissuration du matériau. Comme il peut être indirecte lorsque les microorganismes sont à l'origine de la production d'une substance qui va réagir avec le matériau. Cette réaction peut entraîner la dissolution du matériau ou la formation des produits expansifs et /ou non cohésifs [93]. Ce phénomène peut être présent dans différents domaines tels que le corps humain (dents), les installations portuaires, maritimes et fluviales, l'industrie pétrolière, l'industrie aérospatiale [94], et bien évidemment, les matériaux du génie civil (canalisations métalliques et en béton, pierres, briques, bétons, bois...) utilisés pour les bâtiments [93]. Ce phénomène peut engendrer des endommagements de la structure impactant sa stabilité et son aspect. Cela peut induire une mise en péril de l'intégralité globale de la structure, constituant ainsi une problématique majeure pour la sécurité des occupants et des usagers. Outre les conséquences sur la structure elle-même, la biodégradation peut également avoir des effets néfastes sur la santé des individus présents dans l'environnement concerné. Certains microorganismes impliqués dans ce processus peuvent produire des substances nocives ou des allergènes, pouvant être inhalés par les occupants et causer des problèmes respiratoires ou d'autres problèmes de santé [95].

Plusieurs auteurs se sont intéressés à la compréhension des mécanismes de biodégradation et au comportement des matériaux vis-à-vis du développement microbien. Ainsi, (Wiktor, 2008) [96] a souligné que l'étude de la biodégradation d'un matériau est très complexe en raison de la variété des microorganismes retrouvés et des matériaux contaminés. Ces études se réalisent en suivant les étapes présentées par la Figure 1. 26.

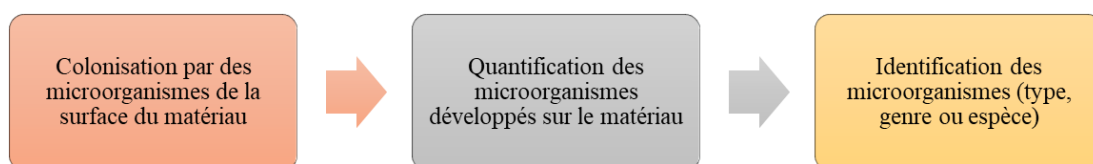


Figure 1. 26 : Etapes d'étude de la biodégradation d'un matériau au laboratoire

(Escadeillas et al., 2007) [97] ont mis en place des bancs d'essais de vieillissement accéléré au laboratoire pour favoriser le développement des microorganismes sur des matériaux cimentaires. Les tests accélérés développés nécessitent de prendre en compte certains points importants : (1) la sélection des espèces des microorganismes à incuber ; (2) la méthode de préparation des mortiers et la technique d'inoculation des microorganismes ; (3) le choix des conditions de test, notamment la température, les apports minéraux du milieu de culture des microorganismes. La Figure 1. 27 illustre le développement des algues à deux périodes d'un test après 45 et 100 jours d'une inoculation sur différents mortiers.

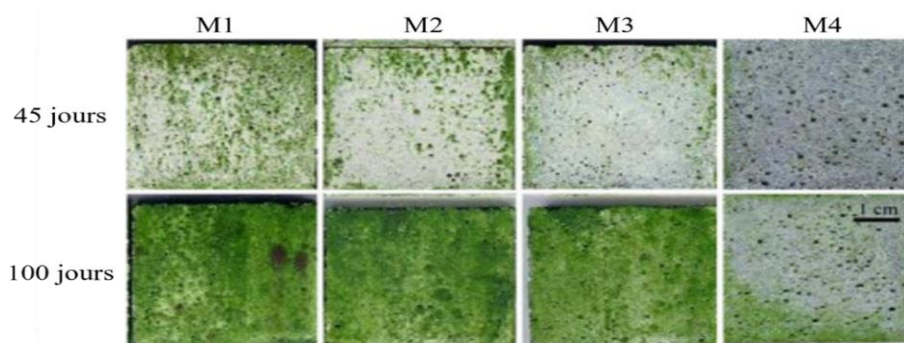


Figure 1. 27 : Photo des mortiers tachés par des microorganismes [98]

Ce développement a été également suivi par une analyse d'image permettant de calculer un pourcentage de surface couverte en algues (Figure 1. 28). Il est à noter que le moment où les algues apparaissent pour la première fois et la cinétique de leur croissance sur la surface dépendent de la composition du mortier. Le mortier présentant le plus grand rapport eau/ciment, a montré le développement le plus rapide des algues (M1 : eau/ciment = 0,7). Toutefois, au bout de 100 jours, les trois autres mortiers M2, M3 et M4 (avec un rapport eau/ciment de 0,6, 0,5 et 0,38 respectivement) sont entièrement colonisés. Le rapport eau/ciment semble jouer un rôle crucial dans la colonisation algale à court terme, mais son impact se révèle être moins prépondérant à long terme.

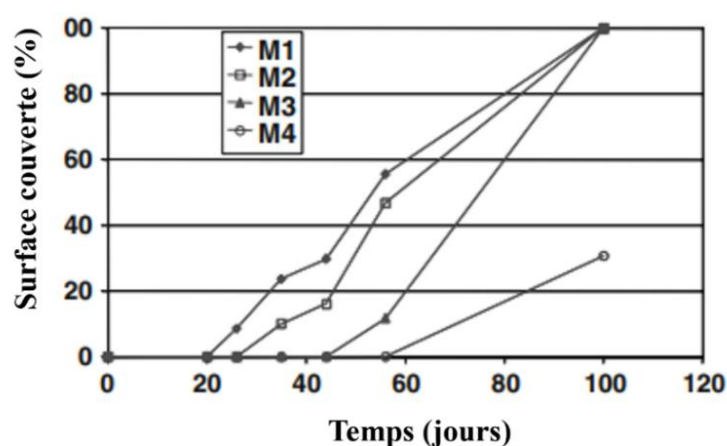


Figure 1. 28 : Evolution de la surface couverte en algues en fonction de temps d'incubation sur les quatre formulations (M1, M2, M3 et M4) [98]

(Shirakawa et al., 2003) [99] ont développé un essai accéléré au laboratoire pour évaluer la bioréceptivité des mortiers à usage intérieur au développement fongique. Plusieurs paramètres ont été testés pour déterminer l'effet de cette souche sur les facteurs influençant la bioréceptivité

fongique comme le type du mortier, le degré de carbonatation, le pH du mortier et l'humidité relative de l'environnement. Les trois mortiers (Figure 1. 29a, b et c) ont montré un développement important des microorganismes a un pH inférieur à 10, tandis que le quatrième (Figure 1. 29d) n'a pas montré aucun développement microbien et cela est probablement due à son pH relativement élevé supérieur à 10.

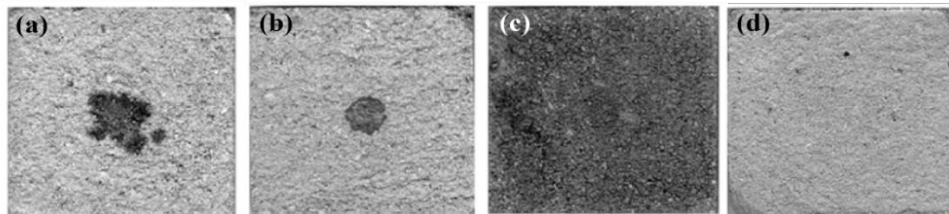


Figure 1. 29 : Colonisation de la souche *C. spaeospermum* sur quatre types de mortier [99]

D'autres travaux comme ceux de (Nielsen et al., 2004) [100] ont porté sur l'étude de l'influence de l'humidité et de la température sur la croissance de huit champignons microscopiques sur vingt et un types différents de matériaux comme le ciment, le gypse, la laine de verre, et les matériaux à base de bois. Les résultats de cette étude ont permis d'identifier pour chaque matériau étudié la limite inférieure de développement de microorganismes correspondant à une température et une humidité, bien définies, c'est-à-dire à partir de la condition à laquelle un premier microorganisme s'est développé et a été détecté. Parmi les matériaux étudiés, le matériau en bois a présenté la plus petite limite avec une humidité de 78% à 20-25°C. La plaque de plâtre et le matériau en céramique nécessitent une humidité de 86 et 90% respectivement pour permettre un développement fongique.

(Rabii, 2016) [35] et (Minerber et al., 2016) [101] ont travaillé sur l'étude du vieillissement microbiologique des composites renforcés par des fibres de lin. Le vieillissement microbiologique a été réalisé à une température de 30°C et une humidité de 96% (± 3) sous trois conditionnements : (1) stérile pour dissocier les changements attribuables à l'activité des microorganismes de ceux résultant des conditions environnementales telles que la température et l'humidité ; (2) naturel afin d'estimer la capacité de développement microbien sur le matériau ; (3)ensemencé pour accélérer la croissance microbienne. Après le conditionnement, un dénombrement de champignons a été effectué sur les biocomposites pour les différentes conditions de vieillissement étudié. Les matériaux (à différents pourcentages de lin) ont montré une tendance à l'augmentation du nombre des microorganismes (Figure 1. 30).

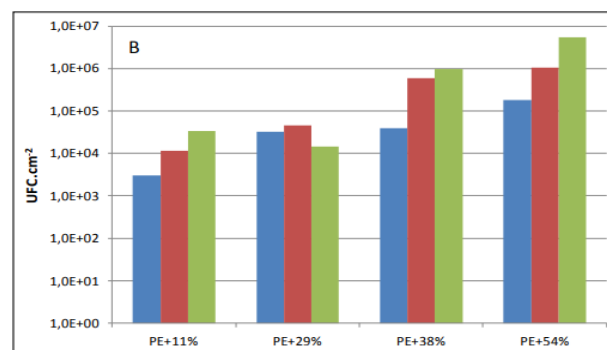


Figure 1. 30 : Dénombrement des moisissures à la surface des matériaux à différents pourcentages de lin après incubation pendant 3 mois à 30°C et 96% hr en conditions stériles (en bleu), naturelles (en rouge) etensemencées (en vert)([35] [87])

(Delannoy, 2018) [17] a travaillé sur la durabilité d'isolants à base de granulats végétaux de chènevotte. Une partie de ces travaux de recherche a été réalisée sur les mécanismes de biodégradation, menée au laboratoire. Ce phénomène a été assuré par la colonisation des matériaux par les microorganismes par deux types d'activités : (1) « une activité physique », liée au développement des microorganismes dans le matériau sous des conditions spécifiques de température et d'humidité ; (2) « une activité chimique », due à la production de divers métabolites, qui agissent par assimilation ou dissimilation. En effet, l'assimilation implique l'absorption et l'utilisation des composants du matériau pour la croissance microbienne, tandis que la dissimilation est le processus de dégradation de certaines substances du matériau pour obtenir de l'énergie et des produits métaboliques.

Les biocomposites à base de chènevotte ont été exposés à un environnement « sévère » pour favoriser le développement microbien. Une température de 30°C et une humidité relative plus grande que 95% ont favorisé le développement des microorganismes après 100 à 120 j d'incubation (Figure 1. 31). En parallèle, un suivi de pH a été fait. Pour un pH autour de 10, aucun développement n'a été observé. Une baisse de la valeur de pH jusqu'à 9, due à la carbonatation naturelle, a permis aux microorganismes de se développer à la surface des biocomposites. Ainsi, le pH semble être un facteur important à prendre en considération afin d'évaluer le risque de développement des microorganismes sur des matériaux biosourcés.



Figure 1. 31 : Développement des microorganismes après conservation des biocomposites à 30°C et 98% hr [17] [102]

L'étude des interactions entre les microorganismes et les matériaux est un enjeu primordial dans divers domaines de recherche. A cet égard, deux approches distinctes se dégagent en fonction des objectifs spécifiques de l'étude. Si l'étude vise à comprendre comment des microorganismes spécifiques interagissent avec un matériau donné, une approche courante consiste en l'incubation de ces microorganismes sur des échantillons du matériau dans des conditions au laboratoire. L'incubation nécessite une maîtrise du choix du milieu de culture approprié au type de microorganismes ciblés et des connaissances sur les conditions expérimentales telles que la température et le temps d'incubation. En revanche, si l'étude vise à évaluer l'effet du développement microbien sur un matériau, sans cibler un type ou une espèce particulière de microorganismes, l'approche se recentre donc sur la conservation des matériaux dans des conditions environnementales d'humidité et de température, favorisant le développement des microorganismes.

Afin d'approfondir la compréhension du mécanisme de biodégradation des matériaux, il est essentiel de connaître les différents types de microorganismes impliqués, ainsi que les facteurs qui favorisent leur développement et les méthodes d'étude et de caractérisation largement décrites dans la littérature. L'étude des microorganismes est une étape cruciale dans la détermination de leur impact sur la durabilité des matériaux. Comprendre leur diversité et leur comportement permet de mieux évaluer les risques de biodégradation et de développer des stratégies de protection appropriées.

1.4. Microorganismes

1.4.1. Généralités sur les microorganismes

Le terme « microorganismes » est utilisé pour désigner l'ensemble des organismes vivants microscopiques, c'est-à-dire invisibles à l'œil nu. Leur taille moyenne varie entre 0,5 et 50 micromètres, allant des bactéries aux moisissures. Les microorganismes peuvent être classés en deux grandes catégories [35] : (1) les procaryotes, des organismes qui ne possèdent pas de noyau, comme les bactéries, et (2) les eucaryotes possédant des noyaux comme les champignons. Ils sont capables d'attaquer et de dégrader les matériaux [96], par des interactions complexes faisant intervenir plusieurs mécanismes microbiens [103]. A titre d'exemples, on peut citer, comme mécanismes, la sécrétion d'enzyme où les microorganismes produisent des protéines capables de décomposer les composants des matériaux. Les microorganismes peuvent également utiliser des voies métaboliques pour transformer les molécules des matériaux en énergies utiles pour leur croissance et leur reproduction. Certains microorganismes sont capables de produire des acides organiques ou inorganiques qui attaquent le matériau et contribuent à sa dégradation. Dans cette partie, nous allons tout d'abord présenter les différents types de microorganismes, puis, décrire leurs conditions de développement naturel et celle menées au laboratoire, détailler ensuite les différentes méthodes d'échantillonnage à partir du matériau, et enfin énumérer les approches expérimentales permettant la quantification et l'identification des microorganismes et celles dites analytiques pour la prédiction de la croissance microbienne.

1.4.2. Types de microorganismes

1.4.2.1. Bactéries

Les bactéries sont des êtres vivants unicellulaires, pourvues d'une paroi rigide. Leurs tailles varient entre 1 et 5 micromètres en général mais, dans certains cas extrêmes, elles peuvent varier entre 0,1 et 500 micromètres [96] [104].

Les bactéries peuvent être autotrophes, c'est-à-dire capables de synthétiser elles-mêmes les matières organiques par l'oxydation de composés minéraux. A l'inverse, elles peuvent être hétérotrophes c'est-à-dire qu'elles utilisent des molécules organiques réduites comme sources de carbone.

Par ailleurs, ils existent des bactéries pathogènes ou d'autres non- pathogènes. Une bactérie peut être utile pour des organismes comme les plantes ; elle se retrouve alors présente dans la

rhizosphère au niveau de leurs racines. Néanmoins, elle peut être responsable de maladies et entraîner des risques pour la santé de l'être humain.

De plus, on distingue habituellement trois formes différentes des bactéries [104] (Figure 1. 32) : (1) de forme sphérique appelées également coques ; (2) de forme de bâtonnets appelées aussi bacilles ; ou encore (3) de forme hélicoïdale appelées spirilles.

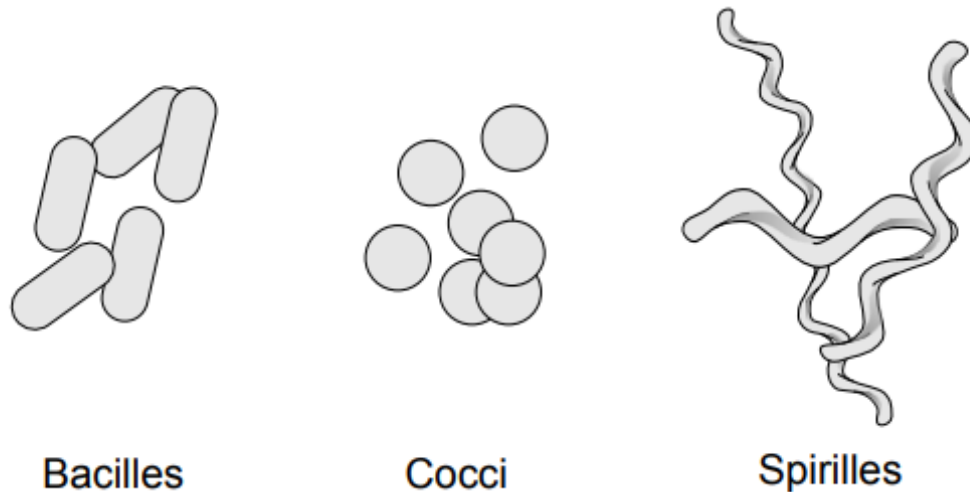


Figure 1. 32 : Représentation schématique des trois formes principales des bactéries [104]

En ce qui concerne leur multiplication, on peut aussi distinguer deux types de bactéries : (1) celles qui sont cultivables, c'est-à-dire qu'elles peuvent être cultivées et donc se multiplier dans des conditions de culture spécifiques en laboratoire. Elles montrent des difficultés à se multiplier dans les conditions naturelles et nécessitent donc un milieu de culture approprié ; et (2) les bactéries viables lorsqu'il s'agit des microorganismes qui sont en état de dormance ou de latence en l'absence des conditions requises et qui ont perdu leur capacité à se multiplier mais présentant tout de même une activité cellulaire.

On peut aussi différencier les bactéries sur la base de leur structure de surface : (1) les bactéries à Gram positif qui se caractérisent par une couche « épaisse » de peptidoglycane (épaisseur 20 à 80 nm) à l'extérieur de la membrane cytoplasmique ; (2) les bactéries à Gram négatif avec une couche plus fine (épaisseur 2 à 7 nm) et qui présentent une seconde couche lipidique.

Les bactéries peuvent être présentes dans différents environnements comme l'air, l'eau, le sol et être associées à différents organismes vivants en surface comme à l'intérieur [104]. (Warscheid et al., 1991) [103] ont montré que la pierre peut être attaquée par les bactéries ce qui entraîne la dégradation de ses propriétés physico-chimiques. Ainsi (Perrichet 1984) [51] a démontré que les bactéries ont entraîné la perte de cohésion au niveau du matériau à cause du phénomène de dissolution du calcaire. Ce phénomène a entraîné l'apparition de fissures à cause de la transformation du ciment.

1.4.2.2. Champignons

Les champignons, aussi appelés fungi ou *Eumycètes*, sont des organismes eucaryotes, c'est-à-dire constitués de cellules renfermant en particulier des mitochondries, et un noyau pourvu d'une enveloppe nucléaire, de chromosomes et d'un nucléole (une photo des champignons de

type *Scopulariopsis brevicaules* est montrée (Figure 1. 33)). Ils peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires. Leur appareil végétatif prend la forme d'une succession des cellules cloisonnées appelées mycélium. Les champignons unicellulaires sont appelés levures [104].



Figure 1. 33 : Exemple des champignons cultivés de type *Scopulariopsis brevicaules* [105]

Selon (Boiron, 1996) [106], les champignons sont regroupés en cinq classes : (1) les **Oomycètes**, des champignons au thalle peu développé (aussi appelé filaments ou hyphes), retrouvés dans les milieux aquatiques. Ils sont des parasites des végétaux ou des animaux ; (2) les **Zygomycètes** comprenant environ 200 espèces, parasites d'insectes et de plantes ; (3) les **Ascomycètes** qui comprennent environ 15 000 espèces, utilisées, en particulier, pour la fabrication des antibiotiques et des médicaments ; ce sont des parasites des végétaux, des animaux et des hommes, (4) les **Basidiomycètes**, dont environ 20 000 espèces existent et ce sont des champignons à fructification naturelle ou aussi artificielle dite carpophore, servant en particulier à transformer les fleurs des arbres fruitiers en fruit mature ; et (5) les **Deutéromycètes** aussi appelés *Adélomycètes*, on en dénombre environ 1 000 espèces. Ils se reproduisent par voie végétative au moyen des spores asexuées ou par simple fragmentation du mycélium [106].

Selon les modes de fonctionnement des champignons, ils peuvent être classés en quatre catégories : (1) les **fungi**, des champignons qui tirent leurs nutriments d'autres organismes comme les plantes, les animaux, sans aucun impact ; (2) les **pathogènes**, des champignons causant des maladies voire la mort des organismes affectés ; (3) les **saprophytes**, des champignons qui dégradent les matières organiques mortes pour se nourrir (bois, fibres végétales, ...) ; (4) les **mycorhiziens** qui sont les champignons retrouvés dans le sol [106].

Les champignons, comme les bactéries, peuvent entraîner la dégradation des matériaux de construction. (Delannoy, 2018) [17] a remarqué la présence d'un biofilm formé de champignons à la surface de l'échantillon visible par des observations microscopiques. Ces champignons pourront avoir un impact sur les propriétés des matériaux en fermant la porosité et diminuant ainsi la perméabilité à l'eau des bétons.

1.4.2.3. Algues et cyanobactéries

Les algues sont des organismes à noyau (eucaryotes), capables de synthétiser par eux-mêmes les matières organiques nécessaires à leur développement (ce sont des autotrophes). Tandis que les cyanobactéries, aussi nommées algues bleues, sont des organismes sans noyau (procaryotes), et autotrophes ([96] [107]). Ces organismes (Figure 1. 34) [108] utilisent, en plus de la matière organique, la photosynthèse comme source d'énergies [109]. Leur développement nécessite aussi de l'humidité, de la chaleur et d'autres nutriments inorganiques [110].

Ces organismes peuvent se développer sur différents types des matériaux. (Urzi et al., 2007) [111] ont montré que ces microorganismes ne participent pas directement à la détérioration des pierres, mais leur effet se traduit par des conséquences esthétiques sur le matériau à cause de leurs filaments formés à sa surface. Cependant, ces organismes peuvent pénétrer dans les pores des matériaux, causant ensuite un gonflement/retrait du matériau, aboutissant à des fissurations qui influence le comportement mécanique du matériau [48]. Cet effet sur les pores, aide le matériau à retenir l'eau et ensuite à l'élévation de son taux d'humidité, ce qui accélère le processus de développement des autres microorganismes [107].

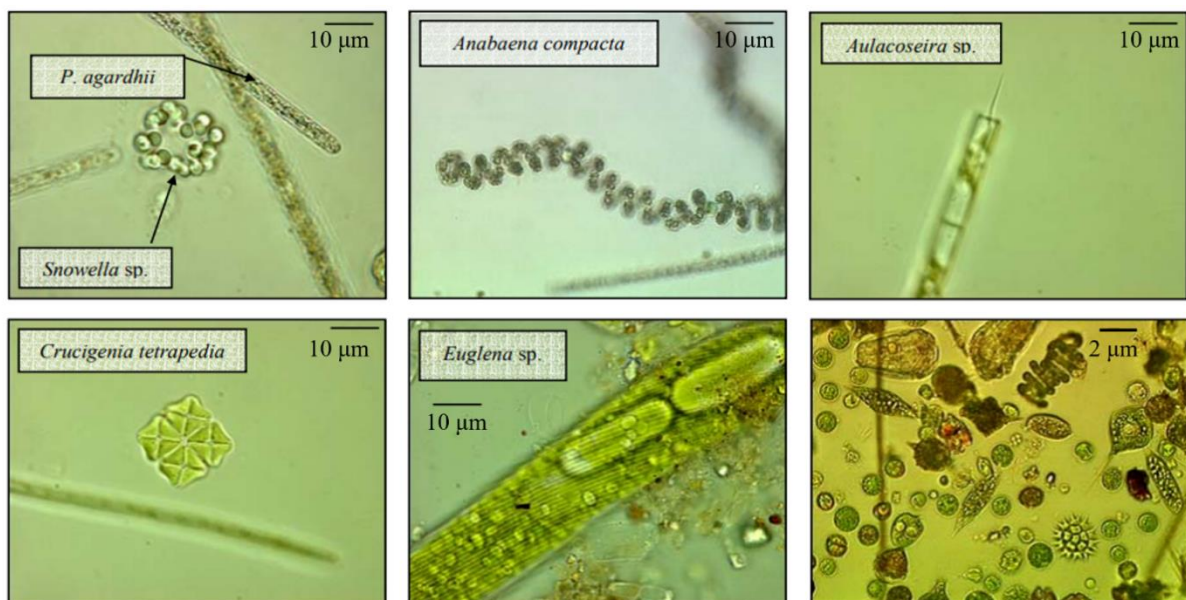


Figure 1. 34 : Exemples des algues et cyanobactéries en microscopie optique [108]

1.4.2.4. Biofilms

Les biofilms sont des assemblages des communautés microbiennes contenues dans une matrice complexe de substances polymériques appelées exopolysaccharide (EPS) adhésives et protectrices [96]. Ces communautés d'organismes peuvent être homogènes (Figure 1. 35 : biofilm bactérien ou fongique), c'est à dire formées d'une seule espèce ou hétérogènes par l'association de plusieurs espèces (bactéries, champignons, algues et cyanobactéries) [112].

Les biofilms peuvent se développer sur des substrats organiques et inorganiques, sur des surfaces différentes, telles les surfaces biologiques (ex. la peau) ou des surfaces inanimées (ex. les surfaces métalliques, les tuyaux ou les implants médicaux) en altérant l'aspect de la surface

et sa couleur. Ces microorganismes forment des filaments empêchant les matières de pénétrer dans leur EPS. Ces organismes se nourrissent des nutriments provenant de la pollution environnementale [113].

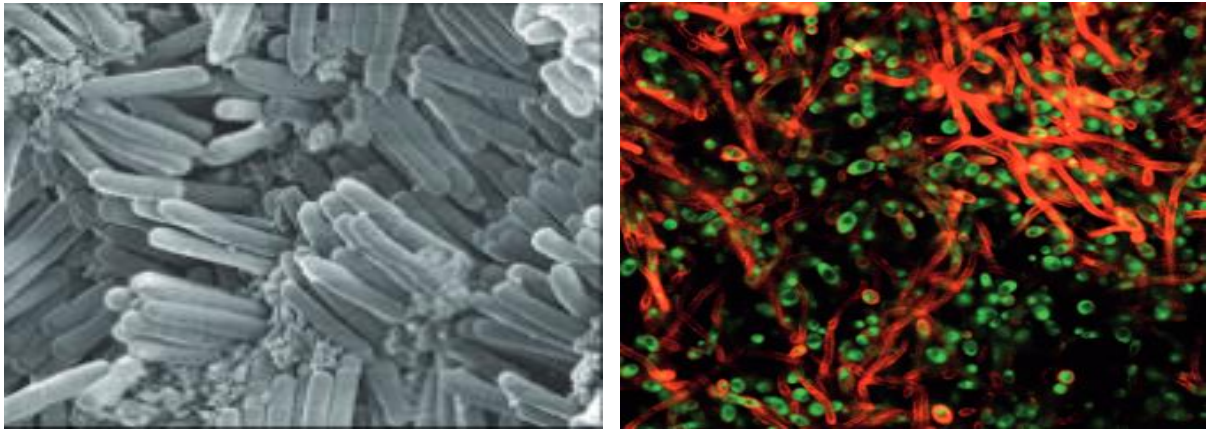


Figure 1. 35 : Photographie de microscopie électronique d'un biofilm bactérien de type *E. coli* (à gauche) et d'un biofilm fongique de type *Candida albicans* (à droite) [112]

1.4.3. Conditions de développement microbien

Le développement des microorganismes sur un matériau nécessite l'interaction entre trois paramètres (Figure 1. 36), aboutissant à la biodégradation du matériau, provoquant des endommagements et finalement à la perte de ses propriétés [93] [94].

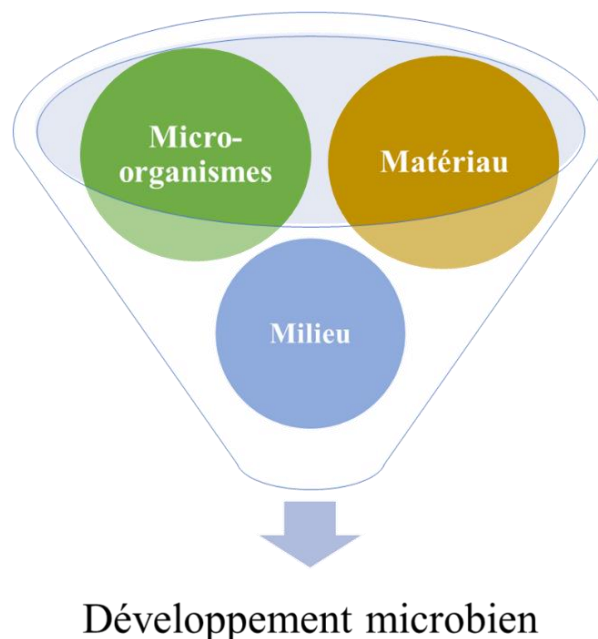


Figure 1. 36 : Interaction de trois paramètres pour un développement microbien

(1) le matériau est l'endroit physique présentant des caractéristiques favorisant le mécanisme de la biodégradation. Ses caractéristiques, telles que la composition chimique, la porosité, la rugosité ont un rôle important dans le développement des microorganismes. Plus le matériau contient des matières chimiques (organique ou inorganique) pouvant être utilisées par les microorganismes et plus le matériau est poreux pour stocker l'humidité et/ou plus la surface est

rugueuse, plus les microorganismes sont capables de former des dépôts et de s'accrocher sur le matériau ; (2) le milieu correspondant à l'environnement capable d'apporter les microorganismes à cause des conditions favorables requises à leur croissance c'est à dire des nutriments, de l'humidité, des conditions de température et de pH favorables ; (3) le microorganisme, un terme général, qui englobe l'ensemble des êtres vivants comme les bactéries, les levures et les champignons. Leur présence dans un milieu favorable sur un matériau, peut avoir une action directe ou indirecte. Une action directe est quand le matériau lui-même est le destructeur du matériau tandis qu'une action indirecte est due aux microorganismes qui produisent des substances qui diffusent et vont réagir avec le matériau pour le dégrader.

Différents autres facteurs permettent aussi de favoriser le développement des microorganismes sur un matériau. Ces facteurs peuvent être intrinsèques au matériau (la bioréceptivité) ainsi que des facteurs extrinsèques environnementaux liés au milieu où le matériau est présent.

1.4.3.1. Facteurs intrinsèques au matériau (bioréceptivité)

1.4.3.1.1. Activité de l'eau (aw)

Les microorganismes ont besoin d'un minimum d'eau disponible dans le matériau pour leur croissance. L'activité de l'eau (aw) est définie par l'eau absorbée par le matériau [35], qui correspond à l'humidité relative d'équilibre (ERH en anglais *Equilibrium Relative Humidity*) [92]. Selon (Scotti, 1953) [114], l'activité de l'eau correspond à 1/10^{ème} de l'humidité relative d'une solution. Le Tableau 1. 4 montre quelques valeurs limites de l'activité de l'eau (aw) de quelques types de microorganismes développés sur des matériaux divers.

Tableau 1. 4 : Limite de l'activité de l'eau (aw) pour la croissance de quelques types de microorganismes

| Références | Groupes des microorganismes | Exemple des microorganismes | Matériaux | aw |
|------------|-----------------------------|---|---|------------|
| [115] | Moisissure | <i>A. niger</i> | Matériaux à base de café | >0,99 |
| | | <i>A. ochraceus</i> | | |
| | | <i>A. carbonarius</i> | | |
| [92] | Moisissure | <i>Penicillium</i> | Biocomposites à base de chènevottes et rafles de maïs | <0,8 |
| | | <i>Trichocomaceae</i> | | |
| | | <i>Aspergillus</i> | | |
| | | <i>Phoma</i> | | 0,8<aw<0.9 |
| [51] | Bactérie | <i>Salmonella, Clostridium, botulinum</i> | Bétons et enduits | >0,91 |
| | Levure | <i>Torulopsis candida</i> | | >0,88 |
| | Moisissure | <i>Aspergillus</i> | | >0,8 |

(Kouadio et al., 2007) [115] ont étudié l'influence de l'interaction de la température et de l'activité de l'eau sur la croissance des trois genres de moisissures sur des matériaux à base de

café. L'activité de l'eau mesurée est maximale (0,99) à 30°C pour *A. niger* et *A. ochraceus*, et à 15°C pour *A. carbonarius*. (Viel, 2018) [92] a fait la distinction entre trois types de colonisateurs : (1) primaire pour une activité de l'eau inférieure à 0,8 ; (2) secondaire pour une activité comprise entre 0,8 et 0,9 ; (3) tertiaire pour une activité supérieure à 0,9. Cela signifie que les moisissures appartenant aux colonisateurs primaires commencent à se développer dès que l'activité de l'eau de l'échantillon est suffisante. Ceux appelés secondaires et tertiaires apparaissent plus tard avec l'augmentation de l'activité de l'eau. (Perrichet, 1984) [51] a mesuré les limites inférieures du développement de quelques genres de bactéries, levures et moisissures présents sur des biocomposites à base de chènevottes et de rafles de maïs. Ces valeurs ne sont pas toujours à l'origine d'un développement de microorganismes mais peuvent être différentes dans le cas où d'autres conditions favorisent le développement. Par exemple, la levure *Saccharomyces* se développe dans des solutions sucrées, dont la valeur de aw est égale 0,6 ce qui est inférieure au seuil de 0,88 montré dans le Tableau 1. 4 [35] [114].

1.4.3.1.2. Eléments nutritifs

Les microorganismes ont besoin de nutriments pour croître et se développer. Ces nutriments peuvent provenir des sources extérieures au matériau utilisées sous forme de composés organiques et des ions minéraux. Ces éléments nutritifs sont nécessaires pour la synthèse des composants cellulaires et le bon fonctionnement métabolique des microorganismes. Les principaux éléments chimiques nécessaires en quantité importante aux microorganismes sont divers comme le carbone, l'azote, le phosphore, le soufre et l'oxygène. Le Tableau 1. 5 détaille le rôle de ces éléments dans le cycle de vie des microorganismes.

Tableau 1. 5 : Liste des nutriments les plus couramment consommés par les microorganismes

| Références | Eléments nutritifs | Rôles pour les microorganismes |
|------------|--------------------|--|
| [116] | Carbone (C) | Constitue la base de la biomasse cellulaire / oxydation du carbone pour la croissance de microorganismes |
| [117] | Azote (N) | Synthèse des protéines et des acides nucléiques |
| [118] | Phosphore (P) | Synthèse de l'ADN, de l'ARN, des phospholipides et des composés énergétiques |
| [119] | Soufre (S) | Synthèse des acides aminés et des vitamines |
| [120] | Oxygène (O) | Respiration cellulaire |

L'activité des différents éléments chimiques est essentielle pour le développement et la multiplication des microorganismes. Il est important de noter que les besoins nutritifs des microorganismes peuvent varier en fonction des espèces. En plus de ces éléments majeurs cités ci-dessus, les microorganismes ont également besoin de quantités moins importantes d'éléments tels que le potassium (K), le calcium (Ca), le magnésium (Mg) et d'autres. Ces

éléments jouent aussi des rôles importants dans divers processus cellulaires (réactions enzymatiques en particulier).

Néanmoins, le matériau lui-même à travers ces constituants, peut être source de ces éléments nutritifs et surtout les matériaux à base de cellulose qui sont les plus sensibles à la contamination que les matériaux inorganiques [121] [122].

De plus, certains types de champignons sont capables de se nourrir d'organismes morts, y compris des cellules mortes provenant des cadavres de microorganismes. Ce processus est connu sous le nom de saprophytisme. Les champignons qui se nourrissent de cette manière sont appelés saprophytes. Il convient de noter que tous les champignons ne sont pas des saprophytes. Certains champignons sont des parasites, c'est-à-dire qu'ils se nourrissent d'organismes vivants [110].

1.4.3.1.3. Propriétés physiques du matériau

La topographie ou la rugosité de la surface d'un matériau est la propriété physique majeure qui peut favoriser l'attachement des composants nutritifs transportés par la poussière résultant de l'activité d'usage du matériau. (Pedersen, 1990) [123] a montré que le nombre de microorganismes développés sur une surface rugueuse d'un acier inoxydable est plus grand d'un facteur 1,5 qu'un acier inoxydable de surface lisse. Cependant, (Vanhaecke et al., 1990) [124] ont montré une influence négative de la rugosité sur l'adhésion microbienne par une diminution des cellules adhérentes à la surface du matériau. Contrairement à quelques études antérieures, certains auteurs ([125], [126]) ont trouvé que la rugosité de la surface n'a pas une influence importante sur l'adhésion des bactéries sur la surface des matériaux. Par conséquent, en raison de la diversité des résultats obtenus, parfois contradictoires, l'impact de la rugosité des surfaces sur l'adhésion et le détachement des microorganismes reste nébuleux.

Une autre propriété des matériaux qui peut jouer sur le développement des microorganismes est sa porosité. La plupart des matériaux de construction sont caractérisés par une porosité élevée. Cette porosité élevée donne un comportement particulier en ce qui concerne l'absorption de l'eau. En effet, en conditions de forte humidité, ces pores constituent des réserves d'eau pour les microorganismes et leur offrent un endroit favorable pour leur croissance.

Néanmoins, l'accès des microorganismes à ces pores dépend essentiellement de la taille des pores. (Bure et al., 2010) [127] ont étudié l'effet de la taille des pores sur la colonisation des hyphes fongiques à la surface des mortiers à base de ciment. La taille des pores dans la zone de transition interfaciale entre la pâte de ciment et les granulats, est de l'ordre de 1 μm , ce qui autorise la pénétration des microorganismes dont la taille varie de 0,1 à 1 μm . La taille des pores accessibles des pâtes de ciments mesurées par (Sébastien, 2008) [128] est de l'ordre de 0,1 μm . Ces pores de plus petites tailles n'ont pas permis la pénétration des microorganismes à l'intérieur du matériau. (Dalod, 2015) [129] a également démontré que la taille des pores joue

un rôle important sur la diversité des microorganismes colonisateurs présentant des tailles variables.

1.4.3.2. Facteurs extrinsèques environnementaux

1.4.3.2.1. Humidité

L'humidité joue un rôle important dans le développement des microorganismes sur un matériau car elle fournit l'eau nécessaire à leur croissance et à leur reproduction. Les microorganismes dépendent de l'eau pour leur processus métabolique. Ainsi, des nutriments, utilisés par les microorganismes, sont transportés par cette eau ce qui, de surcroît, aide à la dissolution et à la diffusion des nutriments dans le matériau. De plus, les enzymes, qui sont essentielles aux réactions chimiques nécessaires à la croissance microbienne, nécessitent un niveau d'humidité adéquat pour qu'elles développent une activité optimale.

Le Tableau 1. 6 regroupe des valeurs d'humidités relatives minimales à partir desquelles les microorganismes commencent à se développer sur des matériaux divers du génie civil.

Tableau 1. 6 : Liste des humidités relatives utilisés pour favoriser la croissance microbienne sur des matériaux du génie civil

| Références | Condition de vieillissement | Type de microorganismes | Matériaux | Humidité relative (%) |
|------------|-----------------------------|--|---|-----------------------|
| [130] | Naturel | Microorganismes | Matériaux cimentaires céramiques, et bétons | 90 à 95 |
| | | | Plâtre | 86 |
| | | | Bois | 70 |
| [131] | Naturel | Microorganismes | Bois | 78 |
| [121] | Naturel | <i>Xérophiles</i> <i>Eurotium</i> <i>Aspergillus</i> | - | 65 à 70 |
| | | Microorganismes | - | 80 à 90 |
| [17] [35] | Accéléré au laboratoire | Microorganismes | Biocomposites à base de chènevottes | 90 |
| [92] | Accéléré au laboratoire | Microorganismes | Biocomposites à base de chènevottes et rafles de maïs | 90 |

Le développement des microorganismes peut être mené sous des conditions de vieillissement naturel suite à la conservation du matériau dans son état d'usage ou bien sous des conditions

accélérées, au laboratoire, favorisant la croissance microbienne pour permettre une étude simple de la biodégradation du matériau afin d'évaluer sa durabilité.

Dans des conditions de vieillissement naturel, les matériaux présentent des exigences spécifiques en termes d'humidité pour permettre le développement des microorganismes. Par exemple, les matériaux cimentaires, tels que le béton et les céramiques, nécessitent une humidité élevée allant de 90 à 95% pour favoriser le développement des microorganismes. En revanche, le plâtre nécessite une humidité légèrement inférieure, d'environ 86%. Quant au bois, il peut être contaminé par des microorganismes avec une humidité de 70% [100] ou 78% [131].

Dans des conditions de vieillissement accéléré, pour assurer le développement accéléré des microorganismes sur des biocomposites à base de granulats végétaux comme la chènevotte ou les rafles de maïs, une humidité de 90% est généralement suffisante [17] [35] [92].

Il est important de noter que la variation du taux d'humidité au sein d'un matériau influence le degré de contamination par les microorganismes, en favorisant à la fois leur concentration et leur diversité [132]. De plus, le taux d'humidité minimal nécessaire pour assurer une croissance microbienne peut varier d'un matériau à un autre en fonction des composants chimiques présents dans le matériau. Il convient également de souligner que le développement des microorganismes dépend non seulement de l'humidité, mais aussi de plusieurs autres paramètres tels que le pH, la température, et d'autres facteurs.

1.4.3.2.2. pH

Le pH, qui mesure l'acidité ou la basicité d'une solution, a une influence significative sur la croissance des microorganismes. Chaque type de microorganismes se développent dans une gamme de tolérance bien définie de pH, qui peut affecter leurs activités enzymatiques. Selon ces gammes, les microorganismes sont classés en trois catégories : (1) les acidophiles ($\text{pH} < 6$), (2) les neutrophiles ($6 < \text{pH} < 8$) et (3) les basophiles ($\text{pH} > 8$) (Figure 1. 37).

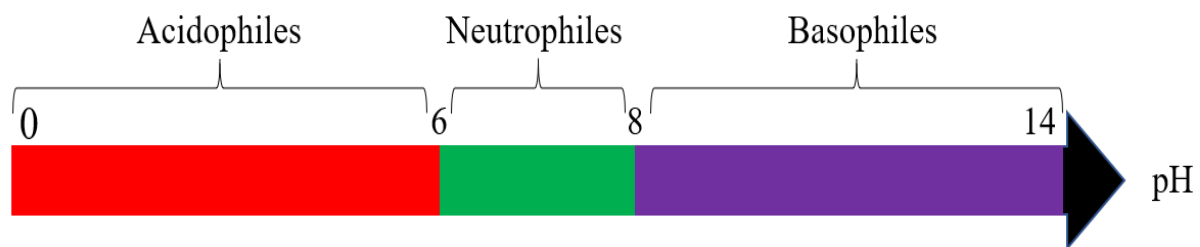


Figure 1. 37 : Classification de microorganismes en fonction du pH du milieu dans lequel ils se développent

Le Tableau 1. 7 présente les gammes de pH nécessaires au développement de quelques microorganismes sur des matériaux de génie civil.

Tableau 1. 7 : Synthèse des gammes de pH de quelques microorganismes développés sur des matériaux de construction

| Références | Type de microorganismes | Matériaux | Gamme de pH |
|------------|----------------------------------|--|-------------|
| [94] | <i>T. nivea</i> | Matériaux cimentaires | [6,7 ; 9] |
| | <i>H. neopolitanus</i> | | [5,4 ; 6,9] |
| | <i>A. thiooxidans</i> | | [2,2 ; 4,8] |
| [133] | <i>Bactérie sulfato-oxydante</i> | Bétons | [1 ; 3,5] |
| [121] | Champignons | - | [5,5 ; 7,5] |
| [35] | Champignons | Composites à base de fibres de lin | [4 ; 6] |
| | <i>Aspergillus niger</i> | | [1,7 ; 2] |

En général, les champignons se développent entre 4,5 et 8 avec un optimum entre 5,5 et 7,5 [121]. (Rabii, 2016) [35] a trouvé que les champignons préfèrent un milieu acide, avec un pH d'environ 4 à 6. Certains peuvent se développer jusqu'à 1,7 et 2 comme *Aspergillus niger* [121]. La plupart des bactéries préfèrent un pH neutre pour se développer. Les matériaux de construction qui ont généralement un pH compris entre 6 et 8, sont plus sensibles à la contamination que les matériaux cimentaires qui sont alcalins avec un pH élevé (c'est-à-dire entre 12 et 13) et qui sont donc beaucoup moins sensibles à la colonisation. Un processus qui peut influencer le pH est la carbonatation qui peut diminuer le pH à 9 en s'approchant du pH favorable pour le développement de certains microorganismes [121] [134].

1.4.3.2.3. Température

La température joue un rôle crucial dans la croissance des microorganismes. Ces derniers ont des plages de température optimales pour leur croissance. La Figure 1. 38 montre les taux de croissance des bactéries en fonction de la température.

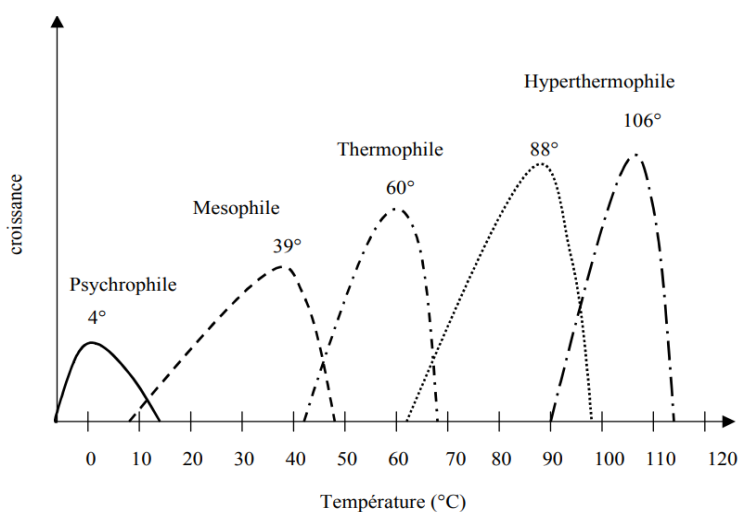


Figure 1. 38 : Schéma de la variation du taux de la croissance bactérienne en fonction de la température pour les principales classes [135]

D'après le graphique présenté Figure 1. 38, quatre catégories de bactéries sont différenciées : (1) les psychrophiles qui sont des bactéries trouvées dans des environnements très froids comme les deux pôles ; (2) les mésophiles qui sont des bactéries trouvées dans des environnements agro-alimentaires, médicaux et environnementaux ; (3) les bactéries thermophiles et (4) les bactéries hyperthermophiles qui sont présentes dans des endroits désertiques caractérisés par leur climat chaud, et dans des sources hydrothermiques. En général, les microorganismes préfèrent des températures moyennes, celles qui sont habituelles pour une ambiance favorable à la vie de l'être humain. Par exemple, la plupart des champignons se développent autour de 20 à 25°C [121]. Tandis que des températures élevées entraînent une destruction des membranes des microorganismes ce qui aboutit à la diminution de l'activité microbienne.

D'autre part, le développement des microorganismes est le résultat des réactions catalysées par des enzymes. Les vitesses de ces réactions varient en fonction de la température. En moyenne, une élévation de 10°C de la température, double la vitesse des réactions du métabolisme de microorganismes [35].

Pour les matériaux du génie civil, diverses investigations ont été mises en place afin d'étudier l'effet du développement microbien sur ces matériaux. Pour des conditions optimales de croissance microbienne, des températures optimales sont fixées. Le Tableau 1. 8 présente des températures optimales pour le développement des microorganismes sur des matériaux du génie civil. D'après ces études, on peut déduire que la température optimale de la croissance des microorganismes sur des matériaux de construction varie généralement entre 20 et 30°C.

Tableau 1. 8 : Liste des températures optimales pour le développement des microorganismes sur des matériaux du génie civil

| Référence | Matériaux | Type des microorganismes | Plage de température de croissance (°C) | Température optimale (°C) |
|-----------|---|--------------------------|---|---------------------------|
| [134] | Matériaux cimentaires | Microorganismes | - | 25 |
| [96] | Matériaux cimentaires | Champignons | - | 24 |
| [100] | Bois | Microorganismes | [20 ; 25] | - |
| [92] | Biocomposites à base de chènevottes et rafles de maïs | <i>Penicillium</i> | [-2 ; 30] | 23 |
| | | <i>Trichocomaceae</i> | [5 ; 37] | 25 |
| | | <i>Aspergillus</i> | [5 ; 55] | 25 |
| | | <i>Phoma</i> | [15 ; 32] | 22 |
| [115] | Matériaux à base de café | <i>A. niger</i> | [15 ; 42] | 30 |
| | | <i>A. ochraceus</i> | [15 ; 30] | 30 |
| | | <i>A. carbonarius</i> | [15 ; 37] | 25 |
| [17] | Biocomposites à base de chènevottes | Microorganismes | - | 30 |

1.5. Approches expérimentales pour l'étude des microorganismes au laboratoire

La première étape de l'étude en laboratoire est d'évaluer la croissance des microorganismes sur le matériau. Selon les études menées, il apparaît que la colonisation de microorganismes peut être sélective en ciblant une souche bactérienne ou fongique bien définie, ou non sélective en assurant le développement des divers types de bactéries ou champignons quelconques. Quel que soit le type de la colonisation, les essais de croissance dépendent de plusieurs paramètres expérimentaux comme l'humidité, la température, le type de matériau, et la durée de l'essai [122]. Naturellement, le développement des microorganismes peut être extrêmement long, et donc leur étude nécessite des longues durées de mise en œuvre pour obtenir des résultats. Pour cela, il existe des normes pour mener les essais de croissance microbienne accélérés en laboratoire [122]. Le Tableau A1. 1 regroupe quelques normes existantes sur des essais de croissance microbienne au laboratoire (Voir annexe A1). Les normes mentionnées dans le Tableau A1. 1, sont établies pour les études des activités bactériennes ou fongiques, appliquées à différents types de matériaux de génie civil, soit en ciblant des microorganismes sélectifs, soit des microorganismes non sélectifs. De plus, les techniques d'inoculation des microorganismes sont aussi variées en fonction des normes appliquées. Enfin, des conditions de température et d'humidités particulières sont appliquées aux matériaux étudiés pendant une durée bien définie, afin de favoriser le développement des microorganismes.

Après le développement des microorganismes sur le matériau étudié, des techniques d'échantillonnage sont utilisées pour assurer des prélèvements propres sans l'intervention d'agents extérieurs provoquant une contamination externe non liée aux conditions initiales de l'essai de développement accéléré des microorganismes.

1.5.1. Méthodes d'échantillonnage des microorganismes

Ils existent de nombreuses méthodes d'échantillonnage des microorganismes développés sur un matériau. Néanmoins, pour les matériaux de construction et en particulier les matériaux biosourcés, il n'existe pas de procédure standardisée pour le prélèvement des microorganismes. Dans cette partie, sont présentées plusieurs méthodes d'échantillonnage, décrites dans la littérature qui peuvent être adaptés aux matériaux biosourcés en prenant en compte leur nature hétérogène, leur absorption d'eau et leur surface.

1.5.1.1. Ecouvillonnage

La méthode d'écouvillonnage, consiste à frotter une surface contaminée avec une tige à brosse cylindrique (écouvillon) équipée de gaz stérile trempé dans une solution physiologique. Les résultats de l'échantillonnage dépendent de plusieurs paramètres [104] [122] : la manipulation par l'opérateur, l'accessibilité à la surface [136] [137] [138], le type de la matière de l'écouvillon (nylon, coton, mousse ...) ou de son état humide ou sec [139] [140] et l'état de la surface qui donne une meilleure performance si elle est lisse et non poreuse [136].

1.5.1.2. En vrac

La méthode d'échantillonnage en vrac [122] ou la méthode de prélèvement de fragments [104], est une méthode destructive qui consiste à réaliser un extrait en récupérant de 3 à 5 g de la surface par grattage ou carottage après isolement de l'échantillon. Cet isolement peut se faire de deux façons : (1) soit en plaçant directement l'extrait sur un milieu de culture ; (2) soit en imbibant l'extrait dans une solution de récupération qui est ensuite étalée sur un milieu de culture [141]. Dans ce cas, les échantillons sont trempés dans une solution physiologique saline ou rincés avec des solvants. Cette méthode est la plus utilisée pour les matériaux de construction [122].

1.5.1.3. Rubans adhésifs

La méthode des rubans adhésifs a été utilisée pour la première fois par Gargani en 1968 [96]. Elle consiste à appliquer le ruban adhésif délicatement sur la surface contaminée à tester, en exerçant une légère pression pour permettre à l'adhésif de capturer les éventuels microorganismes présents. Ensuite, le ruban est retiré de la surface et soigneusement placé dans un contenant approprié pour le traitement au laboratoire. Il est préférable que le ruban soit plat et sec pour optimiser son adhésion à la surface. L'avantage de cette méthode par rapport aux autres est qu'elle est simple à mettre en œuvre, non destructive (utilisée en particulier dans des monuments historiques), peu coûteuse et rapide.

1.5.1.4. Méthode de gélose contact

La méthode de gélose contact [104] ou la méthode d'empreinte [122] consiste à placer directement un milieu de culture contre la surface contaminée pendant un temps suffisamment long pour permettre l'adhérence des microorganismes. Ensuite, les boîtes sont protégées contre la contamination de l'air par un couvercle. Différents facteurs peuvent influencer les résultats du prélèvement comme le temps de contact et la pression appliquée sur la plaque. Afin de contrôler ces paramètres, il faut utiliser des milieux de culture commercialisés en employant des conditions précises pour l'incubation (temps de contact et pression) afin d'assurer la croissance des bactéries et/ou des champignons.

1.5.2. Approches expérimentales pour la quantification des microorganismes au laboratoire

Il existe diverses techniques de quantification utilisées pour estimer la concentration cellulaire au sein d'un matériau dans le domaine de la microbiologie. Ces techniques peuvent être classées en deux catégories : (1) les méthodes directes qui analysent l'échantillon directement ; (2) les méthodes indirectes qui nécessitent une culture préalable de l'échantillon prélevé. Ces techniques permettent de mesurer la quantité des microorganismes présents dans un échantillon en termes d'unités, de nombres ou d'individus totaux.

1.5.2.1. Méthodes directes

1.5.2.1.1. Microscopie électronique à transmission (MET)

La microscopie optique est une méthode applicable uniquement aux microorganismes de grande taille (micromètres) et n'est pas adaptée aux microorganismes plus petits tels que les bactéries. Pour visualiser des microorganismes de moins de 1 μm , la microscopie électronique peut être utilisée. Cette technique implique l'envoi d'un faisceau d'électrons à haute tension, sur la surface de l'échantillon, qui émet ensuite des particules captées par des détecteurs, permettant ainsi la reconstruction d'une image en 3D [134]. A ce propos, les travaux de recherche de (Roux et al., 2005) [142] ont été consacrés à déterminer l'importance du facteur microbiologique dans le vieillissement des mortiers en contact avec des eaux naturelles. L'observation des échantillons de mortiers, après leur immersion pendant trois ans dans la nappe phréatique rhénane, a été réalisée en utilisant le microscope électronique à transmission (MET). Les observations faites ont permis la détection des biofilms fonctionnant comme un dépôt vivant sur le mortier et la visualisation de leur action sur l'évolution de la porosité du mortier pour mettre en évidence sa biodégradation (Figure 1. 39).

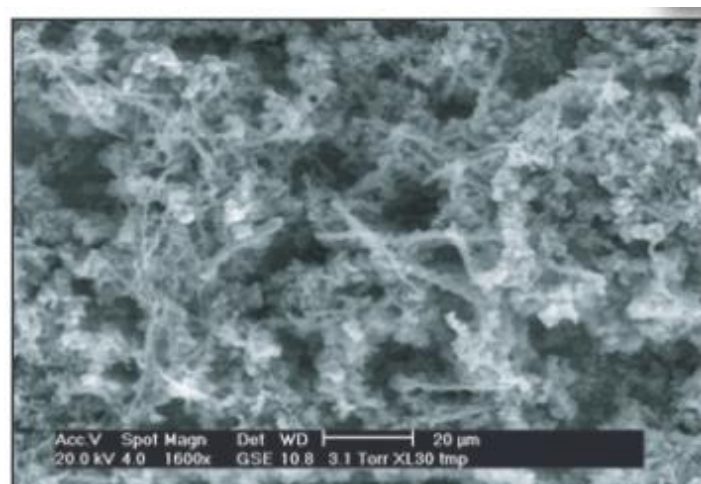


Figure 1. 39 : Image par MET des biofilms développés sur le mortier [142]

1.5.2.1.2. Cytométrie en flux

La cytométrie en flux est une méthode utilisée pour le comptage de particules suspendues dans un liquide, parfaitement dispersées et détectées par le faisceau d'un laser [143]. Les cellules passent devant le faisceau une par une dans un flux de liquide ce qui permet de les compter, d'évaluer leur morphologie et d'identifier certaines propriétés de leur membrane. Il existe deux types de marqueurs pour identifier ces cellules : (1) les cellules sont marquées avec une sonde fluorescente excitée par le laser, ce qui permet d'évaluer certaines caractéristiques cellulaires comme l'ADN, l'ARN, ou des antigènes membranaires ; (2) les cellules sont marquées par des marqueurs excités par des lasers de différentes longueurs d'onde. Cet outil peut également être utilisé pour séparer les cellules, d'une suspension microbienne en fonction des caractéristiques choisies. (Ashoor, 2016) [144] a utilisé la technique de la cytométrie en flux dans l'estimation de la contamination des eaux, pour quantifier les populations fongiques et bactériennes des

échantillons prélevés de la sortie de réseaux de collecte et des lagunes de la décharge d'Etueffont au Territoire de Belfort en France.

1.5.2.1.3. Méthodes indirectes : mise en culture des microorganismes

Les méthodes indirectes nécessitent la mise en culture préalable de l'échantillon sur un milieu de culture gélosé-placé dans une boîte de pétri, afin d'aboutir à la formation de colonies (unités formant colonies : UFC). Les colonies sont comptées soit manuellement, soit à l'aide d'un compteur de colonies. Il s'agit donc d'un nombre d'UFC proportionnel au nombre de microorganismes présents dans l'échantillon, exprimé par mL ou par gramme d'échantillon. Le Tableau 1. 9 regroupe différents milieux permettant la culture des microorganismes provenant de différents matériaux de construction.

Tableau 1. 9 : Liste des milieux de culture couramment utilisés pour la culture des microorganismes sur des matériaux du génie civil

| Références | Type de matériaux | Type de milieux | Type de microorganismes | Sélectif ou non-sélectif |
|------------|------------------------------|--|---|--------------------------|
| [145] | Matériaux cimentaires | « Générales bactéries » : tryptone + extrait de viande | Bactéries | non-sélectif |
| | | Milieu de Starkey | <i>Bactéries sulfato-réductrices (BSR)</i> | sélectif |
| [134] | Pates de ciment CEM I 52.5 R | TSA : Tryptocaséine Soja Agar | Bactéries | non-sélectif |
| | | Tryptone Glucose Bouillon TGB + MYA Agar | <i>Bacillus pumilus</i> | sélectif |
| [96] | Matériaux cimentaires | Jus V8 | <i>Alternats</i> DSM 62006 | sélectif |
| | | Jus V8 + <i>Potatoes Dextrose</i> Agar (PDA) | <i>Alternats</i> DSM 62006 <i>A. niger</i> | sélectif |
| [17] | Béton chanvre | PDA | Champignons | non-sélectif |
| [146] | Matériaux cimentaires | Gélose à extrait de levure GEL | Bactéries | non-sélectif |

Ces méthodes de culture peuvent être utilisées sur différents matériaux et notamment des matériaux du génie civil. Ils existent des milieux sélectifs capables de cultiver des souches bactériennes ou fongicides bien définies, et d'autres non-sélectifs qui permettent la culture d'une grande gamme de bactéries et de champignons.

Bien qu'ils soient largement utilisés pour la culture de microorganismes, les milieux de culture présentent de nombreuses limites [104]. Tout d'abord, la qualité du prélèvement de l'échantillon peut influencer fortement la représentativité du matériau. Ensuite, le temps de culture des microorganismes peut influencer le résultat. En effet, certains microorganismes possèdent des cycles de croissance lents. De plus, un milieu de culture ne permet pas la croissance de tous les types de bactéries ou champignons ; le milieu universel n'existe pas. Enfin les résultats de la culture ne présentent pas qu'un comptage des microorganismes cultivés

à un instant donné ; il se peut qu'il existe d'autres microorganismes dans le matériau, qui ne sont pas cultivables sur le milieu de culture utilisé.

Les différentes techniques de quantification permettent d'obtenir des résultats rapides en quelques minutes, comme elles peuvent aussi distinguer des groupes de microorganismes si ces derniers ont des caractéristiques morphologiques spécifiques faciles à identifier selon leurs formes, dimensions, mobilités, couleurs, ou selon l'utilisation des marqueurs colorés spécifiques à certaines bactéries. Cette identification phénotypique s'appelle identification morphotypique basée sur les caractéristiques macro- et microscopiques des microorganismes.

Malgré les avantages retrouvés par ces approches, ces dernières restent limitées. De nos jours, lorsqu'il s'agit d'avoir accès à la diversité microbienne à partir d'un matériau contaminé, ce sont les approches d'identification, par l'utilisation des techniques de la biologie moléculaire s'appuyant majoritairement sur l'ADN contenu dans les microorganismes, qui sont utilisées.

1.5.3. Approches expérimentales pour l'identification des microorganismes au laboratoire

Il existe une variété de techniques relevant du domaine de la microbiologie permettant d'étudier les flores environnementales microbiennes. Après le prélèvement de l'échantillon contaminé, une étape d'isolement des microorganismes est intéressante parce que cela permet une identification de leurs caractéristiques phénotypiques par une identification des composants chimiques/biochimiques.

1.5.3.1. Analyses phénotypiques par l'identification des composants chimiques/biochimiques

Un moyen permettant d'identifier la flore microbienne présente dans un échantillon est la mesure des composés chimiques provenant de la cellule [104]. Ainsi, il est possible de mesurer les concentrations de certains composés de la membrane fongique (comme celles de l'ergostérol [132]) ou bien les concentrations des composés cellulaires (comme l'adénosine triphosphate (ATP) [147]). Il est également possible de mesurer les composés chimiques produits par la flore microbienne. Cette mesure permet une quantification indirecte à travers l'activité métabolique des microorganismes ce qui est un indicateur de leur présence dans l'échantillon [132]. La méthode API (Analytical Profil Index) (Figure 1. 40) est également un moyen d'identification des microorganismes par les composés chimiques qu'ils produisent, en utilisant des agents colorimétriques permettant de déterminer le genre ou l'espèce selon le profil métabolique [148]. Cette méthode est limitée parce que certains microorganismes possèdent des profils métaboliques très proches. Par ailleurs, le test ELISA « Enzyme-Linked Immunosorbent Assay » permet d'identifier les microorganismes présents par la mise en œuvre d'une réaction entre un antigène du microorganisme recherché et un anticorps choisi associé à un genre ou une espèce spécifique de molécule [149].



Figure 1. 40 : Exemples de résultats de l'identification bactérienne à l'aide d'une galerie API [150]

Néanmoins, ces méthodes présentent des limites ; ainsi, plusieurs espèces ou genres d'organismes peuvent produire les mêmes métabolites, ce qui peut compliquer le processus d'identification par ces méthodes chimiques. Une autre approche faisant appel à la technique MALDI-TOF (« Matrix assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight »), permet aussi l'identification des microorganismes en établissant leur « signature » chimique. Cette technique utilise la spectrométrie de masse, en détectant les molécules composant un matériau en se basant sur leur ratio masse moléculaire (m)/charge (z) [151]. Des profils protéiques sont établis ce qui permet d'identifier les bactéries, levures et champignons présents dans l'échantillon, et cela d'une manière précise et rapide par comparaison avec des banques de données.

1.5.3.2. Approches moléculaires

En extrayant puis en analysant l'ADN présent dans un échantillon, il est possible d'identifier et d'étudier la communauté microbienne présente et cela grâce à des méthodes de biologie moléculaire. Ces approches impliquent une première étape d'extraction de l'ADN des microorganismes présents dans l'échantillon, suivie d'une deuxième étape d'analyse des communautés microbiennes par diverses techniques. Parmi celles-ci, on retrouve l'analyse par empreinte génétique, par hybridation génétique et par séquençage génétique, cette dernière étant la méthode la plus utilisée ces dernières années. Bien que les méthodes de culture et les méthodes phénotypiques ne présentent pas une haute précision tant sur le plan qualitatif que quantitatif, les méthodes de biologie moléculaire offrent plusieurs avantages grâce à leur capacité à accéder à une diversité microbienne. Cependant, ces méthodes peuvent rencontrer certaines limites liées à l'ADN. Si l'extraction de l'ADN n'est pas homogène, les proportions des microorganismes présents dans l'échantillon peuvent être altérées. De plus, les ADN détectés par ces méthodes prennent en compte à la fois les microorganismes vivants et morts.

1.5.3.2.1. Extraction de l'ADN

Avant d'entreprendre toute méthode d'analyse faisant appel aux techniques de la biologie moléculaire, l'extraction de l'ADN est une étape essentielle. Il existe deux types d'extraction : (1) extraction directe à partir de l'échantillon prélevé ; (2) extraction indirecte après séparation des cellules de la matrice. L'étape qui suit l'extraction est la purification de l'ADN dont le but est d'éliminer les « traces non-ADN », les contaminants et de préserver les acides nucléiques. Il est très important d'optimiser ces deux phases afin d'obtenir une représentation la plus fidèle

possible de la communauté microbienne. Une fois que l'ADN est extrait, une étape de duplication des ADN peut être envisagée si la quantité d'ADN récupérée est faible et donc non-exploitable. La PCR (« *Polymerase Chain Reaction* ou Réaction en Chaîne par Polymérase ») est une méthode couramment utilisée pour cette duplication [152]. La PCR repose sur une réaction enzymatique qui permet une amplification en multiples copies de séquences spécifiques d'ADN afin d'en obtenir une quantité suffisante.

1.5.3.2.2. Méthode d'analyse par empreinte génétique

Une méthode utilisée pour caractériser la communauté microbienne est l'analyse par empreinte génétique. Cette méthode repose sur la détection de changements génétiques d'un gène témoin au sein d'une communauté ciblée telles que des mutations. Pour cette méthode, le gène ciblé est amplifié par PCR, puis détecté en utilisant deux types de gènes marqueurs : (1) des marqueurs spécifiques correspondant à des processus métaboliques ; (2) des marqueurs universels comme les gènes ribosomiques 16S spécifiques aux bactéries et 18S spécifiques aux eucaryotes. Les résultats obtenus se présentent sous la forme de profils de bandes d'ADN. Selon (Nocker et al., 2007) [153], différentes méthodes d'empreinte génétique peuvent être utilisées, notamment l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE) (Figure 1. 41), le polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP), le polymorphisme de conformation des simples brins (SSCP) et l'analyse automatisée de l'espace intergénique de l'ADN ribosomal (ARISA).

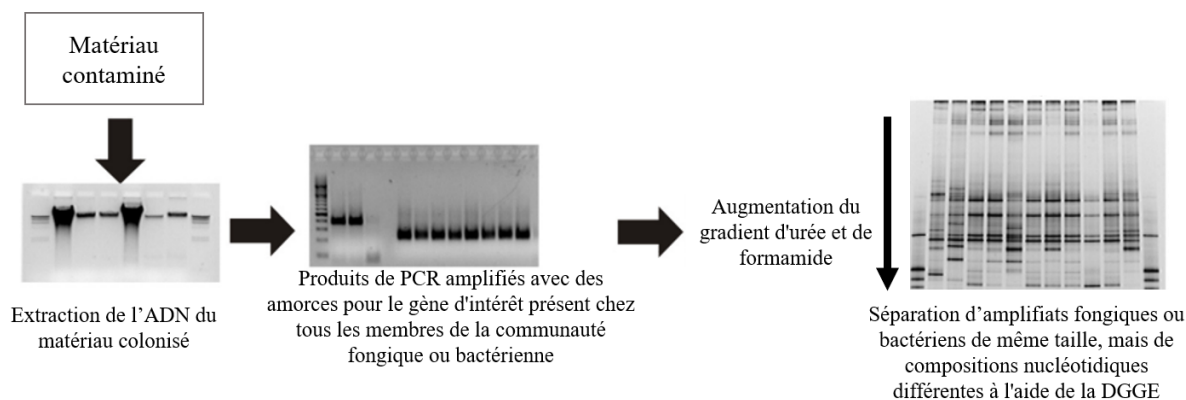


Figure 1. 41 : Méthode d'empreinte génétique par DGGE (adaptée de [154])

Cependant, cette méthode présente plusieurs limites. Bien que les résultats se présentent sous forme de bandes plutôt que des régions spécifiques d'ADN, elle ne permet pas une identification complète des organismes présents dans la communauté. De plus, elle ne détecte pas les ADN qui n'ont pas été suffisamment amplifiés, ce qui conduit à une perturbation des profils de bandes obtenus. C'est pourquoi les méthodes d'analyse par hybridation génétique sont également intéressantes à considérer.

1.5.3.2.3. Méthodes d'analyse par hybridation génétique

Les méthodes d'analyse par hybridation génétique sont diverses. La méthode faisant appel à des puces à ADN permet de caractériser les microorganismes en utilisant les bases de données de la région ITS [155] ou de la région ribosomale 16S [156], pour les eucaryotes et les bactéries

respectivement. L'inconvénient de cette méthode est sa limitation aux données de séquences déjà identifiées et disponibles.

Une autre méthode est la PCR quantitative (qPCR), qui permet d'obtenir des données quantitatives sur les organismes présents dans l'échantillon, en utilisant des amorces spécifiques.

Cependant, la qPCR possède des limites car elle ne permet pas d'identifier tous les organismes présents dans l'échantillon à cause de la limitation des marqueurs phylogénétiques utilisés. C'est pourquoi les approches d'analyse par séquençage génétique sont d'un grand intérêt, car elles sont capables de dépasser ces limites. En utilisant le séquençage génétique, il est possible d'obtenir des informations détaillées sur la composition de la communauté microbienne, sans dépendre uniquement des séquences déjà connues.

1.5.3.2.4. Méthode d'analyse par séquençage génétique

La méthode d'analyse par séquençage génétique est considérée comme la méthode la plus précise par rapport aux deux autres méthodes détaillées précédemment (Figure 1. 42). Deux méthodes de séquençages peuvent être distinguées quand il s'agit de caractériser les microorganismes : (1) la métagénomique [157], une méthode qui consiste à séquencer après amplification, de petits fragments de la totalité de l'ADN extrait ; (2) le métabarcoding [158], une méthode qui correspond au séquençage d'un marqueur phylogénétique, permettant de connaître les genres et les espèces présent dans l'échantillon.

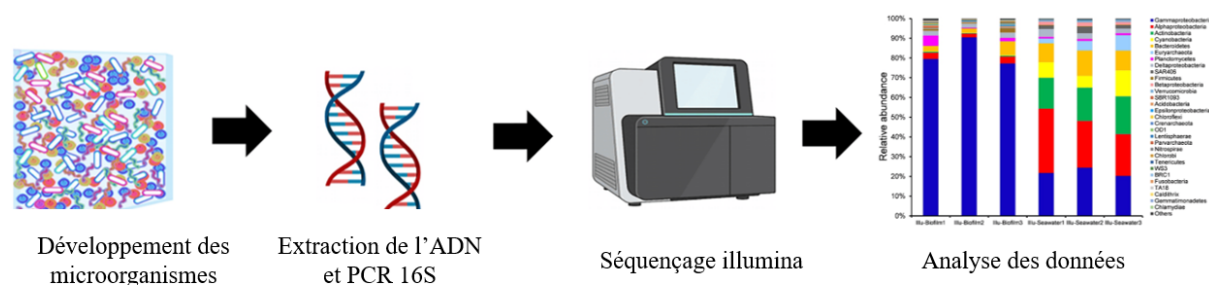


Figure 1. 42 : Procédure de détermination de la diversité microbienne présente sur un biofilm bactérien (adaptée de (Wang et al., 2022 [159])

1.5.3.2.4.1. Techniques de séquençage

Les techniques de séquençage permettent l'identification d'un grand nombre de séquences nucléiques. Différentes techniques de séquençage sont connues. La première technique utilisée est le séquençage selon Sanger, capable de lire des séquences amplifiées d'échantillons contenant uniquement une seule séquence [160]. Ensuite, les séquençages dits de nouvelle génération (NGS « next generation sequencing »), également appelée séquençage haut débit, permet de lire des séquences pour des échantillons à plusieurs séquences [161]. Enfin, ces techniques sont toujours en développement jusqu'à nos jours comme le séquençage Pyroséquençage 454 [162], le séquençage Illumina [163] et le séquençage IonTorrent [164].

1.5.3.2.4.2. Sélection des marqueurs génétiques 16S et 18S

Dans la technique de métabarcoding, les acides nucléiques sont les marqueurs génétiques les plus efficaces pour l'identification des microorganismes. Le choix de ces marqueurs revêt une importance cruciale. Un marqueur doit être universel c'est-à-dire représentant de tous les microorganismes étudiés. Il doit également être robuste, en utilisant des amorces universelles qui peuvent se lier à différentes séquences d'ADN. De plus, il doit présenter une grande variabilité au sein des genres et espèces [165]. Pour les bactéries, c'est l'ARNr 16S qui est ciblée car il renferme différentes régions couramment utilisées comme marqueur génétique dans de nombreuses méthodes moléculaires d'identification. Ces régions présentent des variations qui permettent de distinguer différentes espèces bactériennes. Pour le cas des champignons, les régions ITS1 et ITS2 sont souvent utilisées comme marqueurs génétiques. Ces régions présentent une grande variabilité au sein des espèces de champignons, ce qui les rendent appropriées pour l'identification des champignons dans de telles analyses.

1.5.3.2.4.3. Analyse des données de séquençage

Après le séquençage, différents outils bio-informatiques spécifiques sont utilisés pour le traitement et l'analyse des données récoltées ; ce sont en particulier les outils QIIME [166], MOTHUR [167] et OBITOOLS [168].

Une série d'étapes est nécessaire afin d'obtenir la table taxonomique globale de l'ensemble des microorganismes étudiés [104]:

- (1) Démultiplexage des séquences : les séquences obtenues doivent être attribuées à leurs échantillons d'origine afin de pouvoir les associer aux données appropriées.
- (2) Assemblage des séquences : si les séquences ont été obtenues sous forme de lectures courtes, elles doivent être assemblées pour reconstituer les séquences complètes.
- (3) Regroupement des séquences : les séquences similaires sont regroupées en "clustering" pour former des groupes appelés OTUs « Operational Taxonomic Units », qui représentent des unités taxonomiques opérationnelles.
- (4) Attribution taxonomique : les séquences regroupées en OTUs sont ensuite assignées à des classifications taxonomiques spécifiques, généralement en utilisant des bases de données de référence contenant des informations taxonomiques.
- (5) Construction de la table des OTUs : une fois que les séquences ont été assignées à une classification taxonomique, une table est créée pour répertorier les différents OTUs présents dans chaque échantillon, ainsi que leur abondance relative.

Ces étapes permettent de transformer les données brutes issues du séquençage en une représentation exploitable de la composition taxonomique des microorganismes étudiés, à travers la construction d'une table taxonomique complète des OTUs.

1.6. Approches analytiques pour la prédiction de la croissance microbienne sur un matériau

Le développement de microorganismes provoque des dégradations importantes dans les matériaux avec une modification de leurs propriétés mécaniques, physiques et esthétiques. Le coût de leur maintenance et de leur rénovation est très élevé. De plus, l'étude de ce développement reste long et couteux. Pour cela, la prédiction de la croissance des microorganismes, à l'aide de modèles analytiques, joue un rôle important pour réduire les coûts et protéger la santé des occupants. Différents modèles ont été créés, développés et proposés pour prédire la croissance des microorganismes sur les matériaux de construction en tenant compte de leurs propriétés, ainsi que des conditions de température et d'humidité.

L'usage des modèles analytiques se limite à la prédiction de la croissance microbienne dans des conditions de développement bien définies. Ces modèles ne permettent pas la prédiction de la dégradation des propriétés de ces matériaux. Cependant, il existe de nombreuses modélisations empiriques qui permettent de présenter le phénomène de biodétérioration des matériaux. (Grandclerc, 2017) [94] a présenté différents modèles avec leurs essais correspondants, pour décrire le processus de biodégradation des matériaux cimentaires utilisés dans les réseaux d'assainissement. Parmi ces modèles, on peut citer le modèle empirique de Wells et Melchers [169] et le modèle semi-empirique de Pomeroy [170]. Ces modèles permettent de calculer un taux de corrosion d'un matériau cimentaire exposé aux conditions sévères. Ces conditions sont produites à partir de plusieurs essais qui seront associés à des modèles empiriques : (1) la diminution de pH au niveau de matériau pour permettre le développement des microorganismes sulfo-oxydants ; (2) les oxydations abiotique et biotique permettant la transformation de l'H₂S en espèces soufrées servant de nutriments pour ces microorganismes ; (3) la production de l'acide sulfurique par les microorganismes ; (4) l'attaque chimique des matériaux cimentaires par différents acides organiques. Ces modèles sont proposés à partir des résultats des essais expérimentaux qui nécessitent des travaux et études approfondies et longues. Ci-dessous sont présentés quelques modèles de prédiction de la littérature :

1.6.1. Le modèle « Rapport de température »

Le modèle « Rapport de température » est un modèle analytique développé dans le but d'évaluer le risque des microorganismes en se basant sur la température selon (Hens et al., 1990) [171]. Leur étude s'est intéressée à différents cas d'études sur des maisons individuelles dans différents pays comme l'Allemagne, l'Italie, la Belgique, le Royaume-Uni et le Pays-Bas. Des mesures des températures sont effectuées à l'intérieur et à l'extérieur de la maison, ce qui ont permis aux auteurs d'établir la formule du rapport des températures, donnée par l'équation (1. 1). Une limite maximale du rapport de température de 0,7 a été proposée selon (Hens et al., 1990) [171]. Elle correspond à un risque de microorganismes de 5%. Un rapport inférieur à 0,7 constitue un risque inacceptable des microorganismes.

$$\tau = \frac{\theta_{s,\min} - \theta_e}{\theta_i - \theta_e} \quad (1. 1)$$

Avec θ_s, \min (°C) la température minimale de la surface intérieure, θ_i et θ_e respectivement, les températures intérieures et extérieures (°C).

Compte tenu que l'humidité qui est le facteur essentiel pour la croissance microbienne, ce modèle semble non représentatif pour une prédiction réaliste du phénomène de développement microbien. Pour cela, (Hens, 2008) [172] ont amélioré ce modèle en ajoutant l'effet de l'humidité sur la prédiction du développement microbien.

1.6.2. Le modèle de Hens

Le modèle de Hens est un modèle développé par (Hens, 2008) [172], pour la prédiction du développement des moisissures dans des bâtiments dans un climat modéré. La croissance des microorganismes a été étudiée de manière approfondie, donnant lieu à des isoplèthes spécifiques pour différents types de moisissures, en établissant des corrélations entre le taux de croissance et l'humidité. Parmi toutes les moisissures investiguées, c'est *Aspergillus versicolor* qui a montré l'isoplèthe le plus bas représentant le taux de croissance le plus lent, avec une apparition visible de moisissures après une période significative. Cet isoplèthe est donné par l'équation (1. 2).

$$HR_{\text{critique}} = 0,033 * \theta^2 - 1,5 * \theta + 96 \quad (1. 2)$$

Avec HR_{critique} est l'humidité relative critique et θ (°C) la température.

Pour de courtes périodes, une fonction logarithme, utilisée pour calculer l'humidité relative critique, est donnée par l'équation (1. 3).

$$HR_{\text{critique}} = \min [1 \text{ et } 0,8 * (1,25 - 0,075 * \ln(t))] \quad (1. 3)$$

Avec t le temps en jours

Ce modèle offre la possibilité de calculer l'humidité critique pour une température donnée en utilisant les équations (1. 2) et (1. 3). L'humidité critique représente le seuil minimal en dessous duquel un matériau commence à développer des microorganismes. Une fois cette humidité critique identifiée, des mesures de prévention et de contrôle appropriées peuvent être mises en place pour préserver l'intégrité et la durabilité du matériau.

1.6.3. Le modèle « Temps d'humidité »

Le modèle « Temps d'humidité » développé par (Adan et al., 1994) [173] est utilisé pour évaluer le risque des microorganismes en tenant compte de l'humidité relative (Hr) comme facteur principal influençant la croissance microbienne. Dans cette étude, la croissance de *P. chrysogenum* a été surveillée sur du gypse brut et du gypse recouvert d'une peinture acrylique. Les expériences ont été réalisées à une température constante, mais dans des conditions d'humidité transitoire, c'est-à-dire avec des périodes alternées d'humidité élevée ($RH_{\text{max}}=97\%$) et d'humidité relative moyenne ($RH_{\text{max}}=58\%$) [173]. La formule proposée pour représenter ce modèle est donnée par l'équation (1. 4) :

$$TOW = \frac{\text{période humide (Hr}>80\%)}{\text{période du cycle (humide+sèche)}} \quad (1. 4)$$

Avec TOW : le temps d'humidité (en anglais *Time Of Wetness*)

Cette expression permet de calculer le temps d'humidité par un rapport de deux périodes : la première correspond à la période humide pendant laquelle le matériau est exposé à une humidité supérieure à 80% et la deuxième est la période du cycle humide et sèche.

(Adan et al., 1994) [173] ont remarqué que même les faibles humidités ont un effet sur le développement des microorganismes. Ils démontrent qu'un TOW supérieur à 0,5 entraîne un développement microbien au niveau du matériau. Des essais sur un seul type de microorganismes ont été réalisés, à savoir le « *Penicillium chrysogenum* », négligeant ainsi les diverses autres espèces microbiennes pouvant se retrouver sur ce type de matériau.

1.6.4. Le modèle de Johansson

Le modèle de Johansson est un modèle analytique développé par (Johansson et al., 2010) [174] pour évaluer la croissance des microorganismes, en se basant sur des mesures réalisées sur des façades en bois couvertes d'enduit à base de chaux et de polystyrène. (Johansson et al., 2010) [174] ont développé trois indices de croissance microbienne notés I_1 , I_2 et I_3 .

Le premier indice I_1 exprime la fraction de temps pendant laquelle l'humidité relative Hr est égale ou supérieure à un seuil d'humidité relative $Hr(\tau)$. L'indice I_1 est donné par l'équation (1. 5).

$$I_1 = \frac{\int_{\tau=t_0}^{t_1} f(\tau) d\tau}{t_1 - t_0} \quad (1. 5)$$

Avec $f = 1 \rightarrow Hr(\tau) \geq Hr_t$

$0 \rightarrow Hr(\tau) < Hr$

et $Hr(\tau) = 80\%$.

A noter que le premier indice I_1 ne tient pas compte de l'influence de la température. Il n'est pas représentatif de l'investigation des constructions extérieures. Pour cela, la température est implémentée dans le deuxième indice I_2 donné par l'équation (1. 6).

$$I_2 = \frac{\int_{\tau=t_0}^{t_1} fT(\tau) * fHr(\tau) d\tau}{t_1 - t_0} \quad (1. 6)$$

Avec fHr et fT les fonctions données par la Figure 1. 43a et b. Ces deux fonctions sont déduites des courbes des isoplèthes présentées par la Figure 1. 43c. Ces isoplèthes, similaires à ceux montrés par des travaux antérieures ([175], [176] et [177]), constituent un ensemble de systèmes dédiés à quelques types de microorganismes, illustrés par des courbes de croissance spécifiques. Ils s'appuient sur des données biologiques mesurées en laboratoire et décrivent les conditions essentielles à la croissance de ces microorganismes.

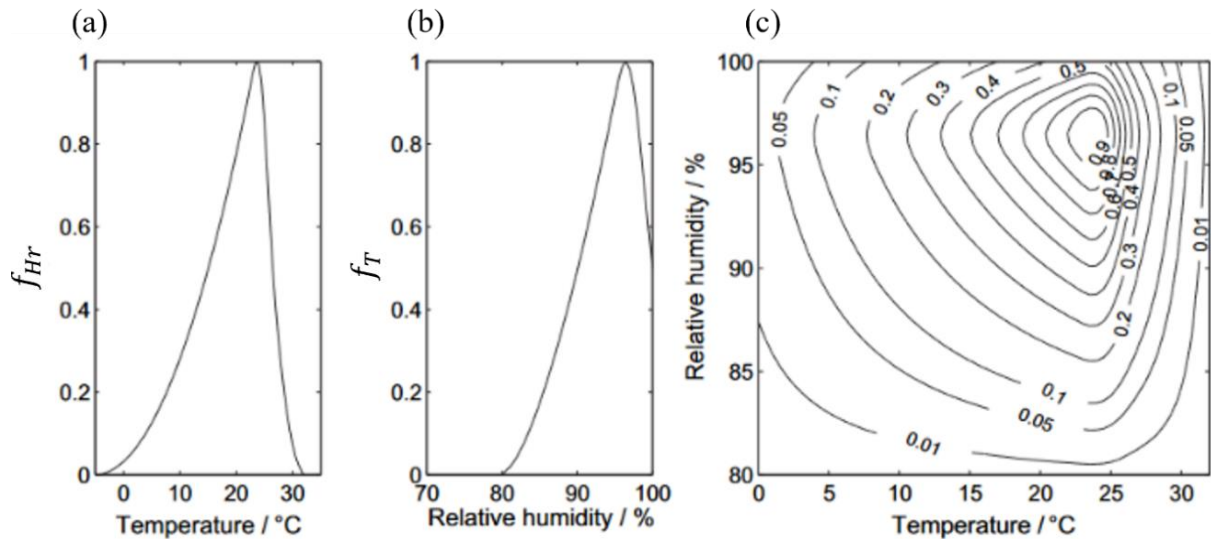


Figure 1. 43 : (a) f_{Hr} et (b) f_T deux fonctions utilisées dans l'équation (1. 7) et (c) isoplèthes de l'humidité en fonction de la température [174]

Pour prendre en considération un délai de temps pour assister à la première croissance de microorganismes sur le matériau, une fonction de récupération f_r a été ajoutée au deuxième indice I_2 pour donner le troisième indice I_3 exprimé par l'équation (1. 7). Cette fonction f_r permet de limiter l'augmentation de l'indice lorsque le microorganisme est en dehors de ses limites de croissance.

$$I_3 = \frac{\int_{\tau=t_0}^{t_1} f_r(\tau) * f_T(\tau) * f_{HR}(\tau) d\tau}{t_1 - t_0} \quad (1. 7)$$

$f_r = 0 \rightarrow f_T * f_{HR} = 0$ durant le dernier t_i
 $1 \rightarrow$ dans les autres cas

Les valeurs des indices du modèle de Johansson permettent une description quantitative de la quantité des microorganismes couvrant la surface d'un matériau. Le Tableau 1. 10 décrit les niveaux des indices de Johansson.

Tableau 1. 10 : Description des niveaux des indices de Johansson

| Indices de Johansson | Pourcentage de surface couverte en microorganismes (p) | Description de la croissance microbienne |
|----------------------|--|---|
| 0 | 0% | Pas de croissance |
| 1 | 0% < p < 5% | Croissance initiale, une ou quelques hyphes et pas de conidiophores (hyphes fongiques ramifiés qui produisent des conidies) |
| 2 | 5% < p < 10% | Une croissance claire mais sporadique ; souvent, des conidiophores commencent à se développer |
| 3 | 10% < p < 70% | Une croissance dense et irrégulière avec de nombreux conidiophores bien développés |
| 4 | 70% < p < 100% | Une croissance importante sur presque toute la surface |

1.6.5. Le modèle biohygrothermal

Le modèle biohygrothermal est basé sur le modèle de « systèmes des isoplèthes », pour prédire la croissance microbienne sur un matériau. Ces isoplèthes, développés par (Ayerst, 1969) [175], sont un ensemble des systèmes déterminés pour quelques types de microorganismes, représentés par des courbes de croissance des microorganismes. Ces systèmes ont été développés pour évaluer la germination des spores ainsi que la vitesse de croissance des mycéliums. Ils sont basés sur des données biologiques mesurées dans des conditions de laboratoire et représentent les prérequis de croissance pour tous les champignons de chaque catégorie des matériaux. Les lignes de limite inférieure résultantes pour une possible activité fongique sont appelées isoplèthes la plus basse pour les champignons (LIM). Afin de différencier les champignons selon le risque pour la santé qu'elles peuvent causer, les classes de risque sanitaire seront définies comme suit :

A. Les champignons ou leurs produits métaboliques sont hautement pathogènes ; ils ne doivent pas être autorisés à se produire dans les habitations occupées.

B. Les champignons sont des agents pathogènes lorsqu'ils sont exposés pendant une longue période, et peuvent causer des réactions allergiques.

C. Les champignons ne présentent pas de danger pour la santé ; cependant, la formation de moisissures peut causer des dommages économiques.

(Sedlbauer, 2002) [178] a ajouté une expansion à ces isoplèthes, en subdivisant en classes les types de matériaux utilisés dans le domaine des bâtiments. Quatre catégories différentes, issues d'examen expérimentaux, sont définies, pour prendre en compte l'influence du substrat du bâtiment, et présentés dans le Tableau 1. 11.

Tableau 1. 11 : Catégories des matériaux pour les systèmes des Isoplèthes [178]

| Catégories | Désignation des catégories | Descriptions |
|---------------------------|----------------------------|--|
| Substrat de catégorie 0 | Cat0 | Un milieu de culture optimal |
| Substrat de catégorie I | CatI | Matériaux de construction biologiquement recyclables comme le papier peint, le carton de plâtre, les matériaux de construction à base de matières premières biodégradables, le matériau pour les joints élastiques permanents. |
| Substrat de catégorie II | CatII | Matériaux de construction recyclables biologiquement nuisibles tels que les enduits, les matériaux de construction minéraux, certains bois ainsi que les matériaux d'isolation non visés au CatI. |
| Substrat de catégorie III | CatIII | Matériaux de construction qui ne sont ni dégradables ni contenant des éléments nutritifs. |

Des systèmes isoplèthes individuels, établis uniquement pour les trois catégories Cat0, CatI et CatII, sont représentés par les deux Figure 1. 44 et Figure 1. 45. Pour la catégorie III de substrat, aucun système isoplèthes n'est donné car il sera supposé que la formation de moisissures ne soit pas possible sans salissure. En cas de salissure considérable, la catégorie I de substrat doit toujours être présumée pour ces matériaux.

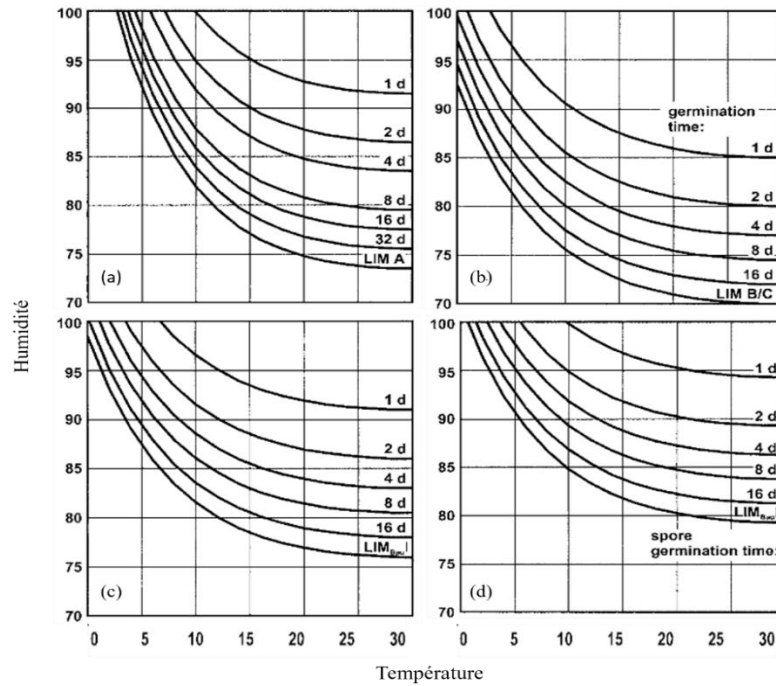


Figure 1. 44 : Systèmes Isoplèthes généralisés pour la germination des spores : (a) Cat0 A, (b) cat0 B/C, (c) catI et (d) catII [156]

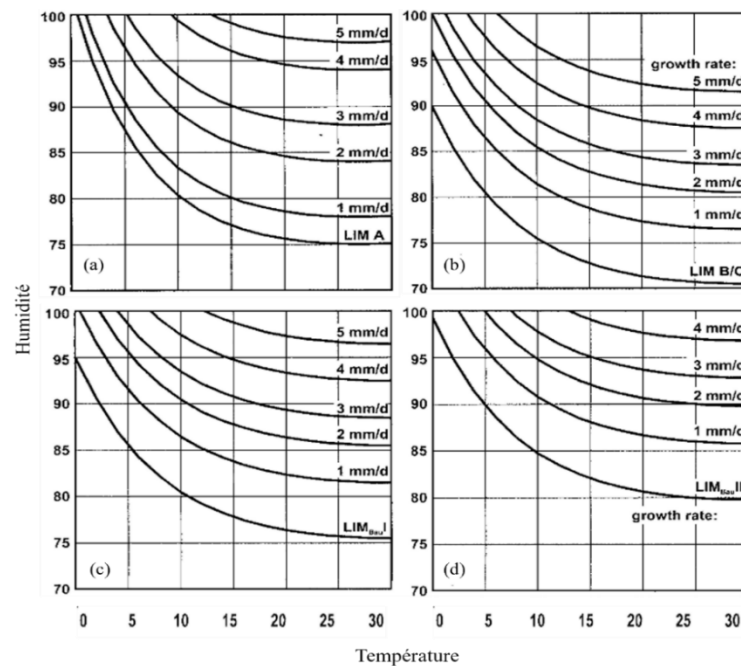


Figure 1. 45 : Systèmes Isoplèthes généralisés pour la croissance mycélienne : (a) Cat0 A, (b) cat0 B/C, (c) catI et (d) catII [156]

1.6.6. Le modèle VTT

Le modèle VTT, un modèle analytique basé sur des essais expérimentaux, a été mis au point par A. Hukka et H. A. Viitanen [179]. Il a été nommé VTT en référence au nom du laboratoire dans lequel ses inventeurs ont travaillé : « VTT Technical Research Centre of Finland ». Ce modèle a été développé pour prédire la croissance des microorganismes sur des matériaux en bois, en se référant à des modèles précédents appliqués sur l'aubier de pin et d'épicéa. Ce modèle utilise des équations différentielles pour décrire la croissance des microorganismes, dans différentes conditions, en considérant le temps d'exposition, la température, l'humidité relative et les périodes sèches. Il présente toutefois un inconvénient : la température négative et les types de moisissures ne sont pas pris en compte dans les calculs. Il contient de nombreux paramètres et valeurs numériques, déduits d'expériences réalisées sur du bois de pin et d'épicéa. En utilisant les résultats des expériences réalisées par A. Hukka et H. A. Viitanen [179] sur ces matériaux, la quantification de la croissance des moisissures est représentée par l'indice de microorganisme appelé I_m (Tableau 1. 12). Il varie de 0 à 6 et a été utilisé comme critère de conception.

Tableau 1. 12 : Tableau décrivant les niveaux de l'indice des microorganismes[180]

| I_m | Croissance |
|-------|---|
| 0 | Pas de croissance |
| 1 | Petites quantités de microorganismes à la surface |
| 2 | < 10% de surface couverte de microorganismes |
| 3 | 10%-30% de surface couverte de microorganismes |
| 4 | 30%-70% de surface couverte de microorganismes |
| 5 | > 70% de surface couverte de microorganismes |
| 6 | Presque 100% de surface couverte de microorganismes |

Dans ce modèle, l'humidité relative critique est calculée. Elle a été définie comme l'humidité la plus élevée pour la croissance des microorganismes si le matériau y est exposé pendant une période suffisamment longue. Elle est donnée par l'équation (1. 1) :

$$RH_{crit} = -0,00267 \Theta^3 + 0,16 \Theta^2 - 3,13 \Theta + 100 \quad \text{si } \Theta < 20^\circ\text{C} \quad (1. 8)$$

$$RH_{min} = 80\% \quad \text{si } \Theta \geq 20^\circ\text{C}$$

La variation de l'indice de microorganismes est calculée à l'aide d'une équation différentielle. Elle est donnée par l'équation (1. 9) :

$$\frac{dI_m}{dt} = \frac{K_1 K_2}{7 * t_{M=1}} \quad (1. 9)$$

K_1 définit le taux de croissance dans des conditions favorables. Il est donné par l'équation (1. 10):

$$K_1 = 1 \quad \text{si } I_m < 1$$

$$\frac{2}{\frac{t_{M=3}}{t_{M=1}} - 1} \quad \text{si } I_m > 1 \quad (1. 10)$$

Avec $t_{M=1}$ (semaines) et $t_{M=3}$ (semaines) respectivement le temps nécessaire pour atteindre $I_m = 1$ (début de la croissance) et $I = 3$ (première apparition visuelle de la croissance de microorganismes après le stade initial). Pour le bois, ces temps de réponse, dans le cas d'une température et d'une humidité constantes, sont exprimés par les équations (1. 11) et (1. 12).

$$t_{M=1} = e^{(-0,68*\ln(\theta)-13,9*\ln(\theta)+0,14*W-0,33*SQ+66,02)} \quad (1. 11)$$

$$t_{M=3} = e^{(-0,74*\ln(\theta)-12,72*\ln(\theta)+0,06*w+61,5)} \quad (1. 12)$$

Avec W le type de bois (0 pour le pin, 1 pour l'épicéa) et SQ la qualité de surface (0 pour le bois scié, 1 pour le bois original séché au four)

Pour prendre en considération l'intensité de la croissance lorsque I_m se rapproche de la valeur maximale dans la plage de $4 < I_m < 6$, le facteur K_2 est inclus et il est donné par l'équation (1. 13) :

$$K_2 = \max (1 - e^{(2,3*(I_m - I_{mmax}), 0)} \quad (1. 13)$$

Avec I_{mmax} l'indice de microorganismes maximum donné par l'équation (1. 14):

$$I_{mmax} = \max (1 + 7 * \frac{RH_{crit} - RH}{RH_{crit} - 100} - 2 * (\frac{RH_{crit} - RH}{RH_{crit} - 100})^2, 0) \quad (1. 14)$$

Un retard dans la croissance des microorganismes causé par des conditions défavorables entraîne une diminution de l'indice de microorganismes ; ce retard est donné par l'équation (1. 15).

$$\begin{aligned} & -0,00133 \text{ Si } t-t_1 \leq 6h \\ \frac{dI_m}{dt} = & 0 \text{ Si } 6h \leq t-t_1 \leq 24h \\ & -0,000667 \text{ Si } t-t_1 > 24h \end{aligned} \quad (1. 15)$$

Avec $t-t_1$ (heures) le temps d'exposition aux conditions défavorables

Le principal inconvénient de ce modèle est sa limite d'utilisation aux seuls matériaux en bois (épicéa et pin). Cependant, il a été amélioré pour qu'il soit capable d'être appliqué à de nombreux types de matériaux. Or, pour cette étude, les matériaux sont différents du bois en termes de composition et de comportement. Par conséquent, quelques modifications ont été apportées à ce modèle pour le rendre applicable à tous les types de matériaux : Rh_{min} est égal à 85% au lieu de 80%, SQ (1 pour le bois, 0 pour les autres matériaux). Pour obtenir ces adaptations, de grandes séries d'expériences en laboratoire et de suivi de la croissance de microorganismes ont été réalisées par (Hukka et al., 1999) [179] sur les matériaux suivants : planche d'épicéa, béton, isolation thermique en polyuréthane et laine de verre. Cependant, comme il est impossible d'étudier tous les matériaux de construction, quatre classes (C1 à C4) de sensibilité aux microorganismes ont été créées : très sensible, sensible, moyennement résistant, et résistant (Tableau 1. 13).

Tableau 1. 13 : Les catégories de matériaux du modèle VTT [180]

| Degré de sensibilité | Désignation | Groupe des matériaux |
|---------------------------|-------------|--|
| 1 (Très sensible) | C1 | Matériaux non-traités |
| 2 (Sensible) | C2 | Produits recouverts de papier, panneaux à base de bois |
| 3 (Moyennement résistant) | C3 | Matériaux cimentaires ou plastiques, fibres minérales, |
| 4 (Résistant) | C4 | Produits en verre et en métal, matériaux avec des traitements de protection efficaces. |

Le facteur K_1 est déterminé sur la base du temps nécessaire pour un changement de l'indice de moisissure de $I_m = 1$ à $I_m = 3$. L'aubier de pin est utilisé comme référence. Il est donné par l'équation (1. 16).

$$K_1 = \begin{cases} \frac{t_{I_m=1,pine}}{t_{I_m=1}} & \text{Si } I_m < 1 \\ \frac{2*(t_{I_m=3,pine}-t_{I_m=1,pine})}{t_{I_m=3}-t_{I_m=1}} & \text{Si } I_m > 1 \end{cases} \quad (1. 16)$$

I_{mmax} l'indice maximal de microorganismes, qui à son tour influence K_2 , est donné par l'équation (1. 17) :

$$I_{mmax} = A + B * \frac{RH_{crit}-RH}{RH_{crit}-100} - C * \left(\frac{RH_{crit}-RH}{RH_{crit}-100}\right)^2 \quad (1. 17)$$

Les différentes valeurs des paramètres sont indiquées dans le Tableau 1. 14 pour chaque classe de matériaux.

Tableau 1. 14 : Tableau représentant les caractéristiques de chaque classe de matériau [49]

| Classe du matériau | Coefficient du matériau | K11 | K12 | A | B | C | Humidité relative minimale (%) |
|--------------------|-------------------------|-------|-------|-----|---|-----|--------------------------------|
| 1 (très sensible) | 1 | 1 | 2 | 1 | 7 | 2 | 80 |
| 2 (Sensible) | 0,5 | 0,578 | 0,386 | 0,3 | 6 | 1 | 80 |
| 3 (Moyen) | 0,25 | 0,072 | 0,097 | 0 | 5 | 1,5 | 85 |
| 4 (Résistant) | 0,1 | 0,033 | 0,014 | 0 | 3 | 1 | 85 |

Pour adapter ce modèle à d'autres matériaux, un coefficient appelé C_{mat} a été ajouté à la variation de l'indice de microorganismes. Il a été déterminé à partir d'expériences en laboratoire et il est exprimé par l'équation (1. 18) :

$$\left(\frac{dI_m}{dt}\right)_{mat} = C_{mat} \left(\frac{dI_m}{dt}\right)_{pine} \quad (1. 18)$$

Avec $\left(\frac{dI_m}{dt}\right)_{mat}$ et $\left(\frac{dI_m}{dt}\right)_{pine}$ qui sont respectivement l'intensité de la dégradation des microorganismes pour le matériau et le pin dans le modèle avant les adaptations.

1.6.7. Comparaison des modèles analytiques

Le Tableau 1. 15 présente une comparaison des modèles analytiques de prédiction de la croissance microbienne énoncés ci-dessus, en montrant leurs points forts et faibles, afin d'évaluer la capacité de ces modèles à représenter une croissance réelle et précise des microorganismes.

Tableau 1. 15 : Tableau comparatif des modèles analytiques décrits dans cette étude bibliographique : + prise en compte du paramètre ; - : non-prise en compte du paramètre

| Modèle de prédiction | Température | Température négative | Humidité | Temps | Type de matériau | Type de microorganismes | Estimation de la croissance | Description de la croissance |
|------------------------|-------------|----------------------|----------|-------|------------------|-------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Rapport de température | + | + | - | - | - | - | - | - |
| Hens | + | + | + | + | - | - | - | - |
| Temps d'humidité | - | - | + | + | - | - | - | - |
| Modèle de Johansson | + | + | + | + | - | - | + | + |
| Modèle biohygrothermal | + | - | + | + | + | - | + | + |
| Modèle VTT | + | - | + | + | + | - | + | + |

Le modèle « Rapport de température » se concentre uniquement sur la température, parmi les autres paramètres considérés, pour la prédiction de la croissance microbienne. Le modèle de Hens intègre divers paramètres influençant la croissance microbienne, tels que la température, l'humidité, le temps de l'essai, mais, il ne permet pas d'estimer le taux de croissance microbienne, et ne prend pas en compte le type de matériau. Le modèle « Temps d'humidité » ne tient compte que de l'humidité en ignorant les autres paramètres. Le modèle de Johansson, le modèle biohygrothermal et le modèle VTT sont les plus fiables parmi les modèles présentés. En effet, ces modèles offrent une estimation de la croissance microbienne avec une description quantitative. Parmi ces trois modèles, le modèle biohygrothermal et le modèle VTT présente un point fort présenté par leur capacité à prendre en considération le type de matériau.

Il est important de souligner que la fiabilité d'un modèle par rapport à un autre, s'évalue par sa capacité à prédire la croissance microbienne sur un matériau, en prenant en considération différents paramètres intrinsèques ou extrinsèques au matériau, tout en reflétant une croissance réaliste des microorganismes.

Deux modèles analytiques, sont utilisés dans ce travail de thèse pour une prédiction réaliste de la croissance microbienne : (1) le modèle biohygrothermal développé par (Ayerst, 1969) [175] et (2) le modèle VTT développé par (Hukka et al., 1999) [179]. Ces deux modèles peuvent prendre en compte différents facteurs nécessaires pour le développement des microorganismes tels que l'humidité, la température et le type du matériau. Ainsi, ils sont capables de calculer un indice de croissance de microorganismes permettant de décrire le pourcentage de contamination de la surface du matériau.

1.7. Traitements par des inhibiteurs de développement microbien

En plus des problèmes de dégradation des matériaux et les risques sur l'instabilité des structure, l'impact sanitaire des microorganismes sur l'être humain constitue également une priorité pour les spécialistes de la santé à cause des problèmes qu'ils causent. Cet impact est beaucoup plus marqué en milieu intérieur qu'à l'extérieur vu que les êtres humains passent plus de 80% de leur temps à l'intérieur. De plus, les conditions de la vie urbaine intérieure favorisent le développement des microorganismes (la climatisation, l'humidité, le manque de rayonnements solaires, le manque d'entretien et d'hygiène, les espaces verts proches des habitations) [181].

Cet impact dépend de plusieurs facteurs [182] [181]: (1) la durée de l'exposition des occupants aux microorganismes, (2) la nature et les propriétés de l'agent en cause (son poids, sa forme, sa taille, sa concentration dans l'air ambiant) et (3) les conditions locales favorisant le développement des microorganismes (aération, rayonnement solaire, facteurs physiques tels que l'humidité, la température et la surface du matériau). L'effet négatif des microorganismes sur les occupants résulte d'une contamination microbienne qui peut se faire de trois façons : (1) par inhalation qui est une contamination de l'appareil respiratoire par des bioaérosols à cause de particules fongiques et/ou de composés organiques volatils (COV) qui constituent une source de l'odeur des microorganismes développés. (Gauzere, 2012) [95] a défini un air pollué comme étant caractérisé par une quantité élevée de COV qui sont des polluants fréquents de l'air intérieur, avec des impacts avérés sur la santé humaine ; (2) par contact physique qui correspond à une contamination cutanée lors du contact direct avec le microorganisme ou la surface contaminée et/ou par déposition sur la peau des particules portées par l'air et contenant des microorganismes ; (3) par ingestion des nutriments contaminés par les microorganismes. Quel que soit le mode de contamination, certains microorganismes ont des effets négatifs avérés sur le système respiratoire de l'être humain d'où la nécessité de prévoir des moyens de traitements pour lutter contre ce développement.

Dans ce contexte, dans cette partie d'étude bibliographique, nous nous attacherons à présenter quelques types de traitements pour lutter contre les microorganismes, déjà décrits dans la littérature. Le but de ces traitements est d'inhiber le développement microbien lors de la fabrication du matériau et de diminuer leurs effets après contamination du matériau pendant son usage. Parmi les différents traitements déjà étudiés, on peut en distinguer deux grandes

catégories : les traitements préventifs et les traitements curatifs. Il faut savoir que le post-traitement en masse préventif pendant la phase de fabrication du matériau est plus important que son traitement curatif et cela pour plusieurs raisons [183] : le traitement préventif se fait par remplacement massique, à très faible dosage, d'un autre constituant du matériau lors de sa fabrication, tandis que le traitement curatif se fait par des produits chimiques apportés en quantité importante et dont l'impact environnemental peut être négatif [184]. De plus, le traitement préventif joue un rôle destructif sur les microorganismes tandis qu'après le traitement curatif, le développement microbien peut se reproduire ultérieurement [185]. Enfin, l'utilisation du traitement préventif est beaucoup moins chère que le traitement curatif qui, en plus du prix des produits des traitements, engendre des dommages coûteux au niveau du matériau ce qui nécessite de nouveau sa réparation [186]. Une étude bibliographique sur les traitements curatifs est présentée dans l'annexe A2. Dans ce qui suit, nous présentons quelques traitements préventifs par des additifs en masse, qui sont en lien avec le choix de nos travaux de thèse.

Les nanoparticules de métal constituent l'un des additifs en masse les plus couramment utilisés comme inhibiteur du développement des microorganismes. Leur essor grâce à leur propriété antimicrobienne a été un facteur clé pour contrôler ou inhiber la croissance des microorganismes et prévenir les maladies d'origine alimentaire et les infections nosocomiales [187]. L'incorporation des nanoparticules métalliques dans une matrice polymère est une excellente stratégie pour contrôler la croissance microbienne. En effet, les propriétés antimicrobiennes dépendent du métal, de la taille, de la structure et de la grande surface spécifique des particules nanométriques [187].

Dans la littérature, plusieurs nanoparticules ont été utilisées pour inhiber la croissance microbienne. (Tamayo et al., 2016) [187] et (Talantikit, 2014) [188] ont testé différents nanoparticules que nous allons présenter ci-dessous.

1.7.1. Microparticules de cuivre

Le cuivre est utilisé depuis longtemps comme stérilisant, en particulier chez les Égyptiens. Dans les années 1880, il a été mélangé avec de la chaux et de l'eau et utilisé comme antifongiques. Ces ions de cuivre peuvent être toxiques pour les microorganismes.

Les microparticules de cuivre se présentent sous la forme d'une poudre orange. Leur diamètre moyen est de 21,3 μm avec une gamme variant entre 6,2 μm et 39,7 μm [188] (Figure 1. 46).

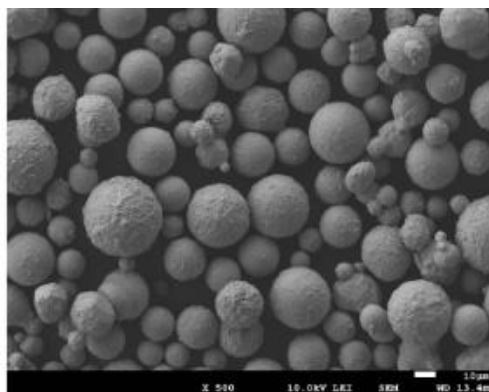


Figure 1. 46 : Morphologie des microparticules de cuivre [188]

(Talantikit, 2014) [188] a testé ces microparticules afin de déterminer leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI) vis-à-vis de différentes souches bactériennes. Il a trouvé que la CMI pour *S. aureus* est de 3 mg/mL tandis que pour *E. coli*, elle est de 6 mg/mL. Ces microparticules ont un effet toxique plus important sur *E. coli* que sur *S. aureus* mais à des concentrations plus élevées. Après 3h de mise en contact avec les microparticules et à la concentration de 3 mg/mL, le nombre de colonies de *S. aureus* a diminué de moitié. Pour *E. coli*, après 2h, l'inhibition était de plus de 35 fois et après 3h de plus de 10000 fois, pour une concentration de 6 mg/mL en microparticules.

1.7.2. Nanoparticules de cuivre

La forme des nanoparticules de cuivre est cubique avec une taille moyenne de 36,5 ($\pm 16,6$ nm) dans une gamme variant entre 20 nm et 50 nm [187]. Ainsi, les nanoparticules de cuivre agissent comme un réservoir pour la libération contrôlée des ions de cuivre. (Tamayo et al., 2016) [187] ont trouvé que les nanoparticules de cuivre ont un effet sur des bactéries à Gram négatif (*E. coli* par exemple), plus que sur les bactéries à Gram positif (comme *Bacillus*). La différence entre ces deux catégories est que les bactéries à Gram négatif ont une paroi cellulaire rigide qui limite l'entrée de molécules de grande taille et/ou hydrophobes pour atteindre le cytoplasme. Les bactéries sont entourées d'une fine couche de peptidoglycane (7–8 nm) constituée de chaînes glycaniques comprenant des résidus de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique alternés qui sont réticulés par une courte chaîne de peptide. Alors que les bactéries à Gram négatif ont une seule couche de peptidoglycane, les bactéries à Gram positif ont plusieurs couches de peptidoglycane. Cependant, l'activité a montré une réponse opposée antibactérienne des nanoparticules de cuivre incorporées dans l'hydroxypropylméthyl cellulose [187]. L'évaluation antibactérienne contre *Streptococcus a.*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *Salmonella* et *P. aeruginosa*, ont démontré que les nanoparticules de cuivre présentent une activité antibactérienne élevée contre les bactéries à Gram positif mais pas contre les bactéries à Gram négatif [187].

(Talantikit, 2014) [188] a réalisé des essais avec différentes concentrations de nanoparticules de cuivre (Cu) et d'oxyde de cuivre (CuO) (3 ; 1,5 ; 0,75 ; 0,325 et 0,175 mg/mL) (Figure 1. 47).

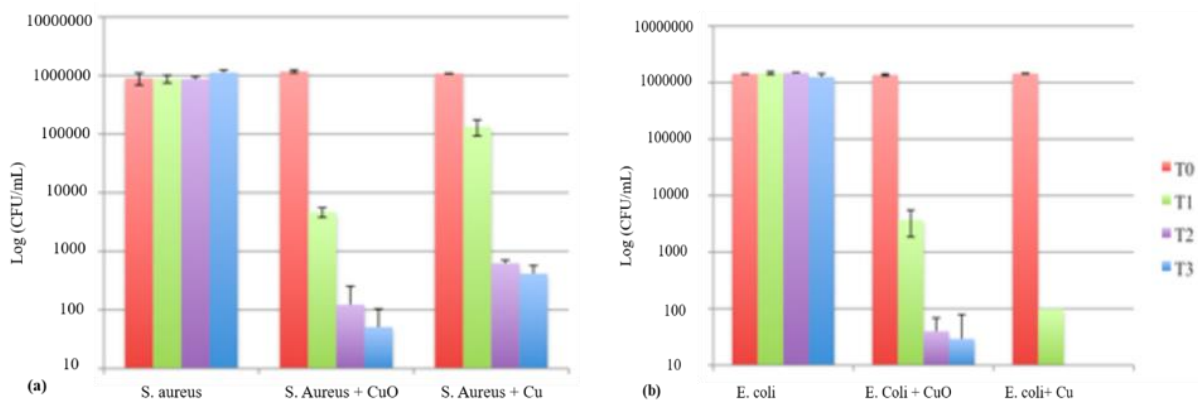


Figure 1. 47 : Histogrammes montrant le nombre de colonies formées par millilitre en fonction de la concentration en Cu et CuO (0,325 mg/mL) au temps T0, T1 (1h), T2 (2h) et T3 (3h) d'incubation de la souche (a) *S. Aureus* et (b) *E. coli*. [188]

La CMI des nanoparticules de cuivre sur la souche de *S. aureus* est de 0,325 mg/mL et pour *E. coli* de 0,750 mg/mL. Après des études d'optimisation de choix de la concentration la plus efficace, (Talantikit, 2014) [188] a fixé la concentration 0,325 mg/mL pour les deux souches après 2 ou 3 heures de contact. Pour les biofilms, il est nécessaire d'augmenter la concentration des nanoparticules pour les détruire (à environ 4,7 mg/mL). D'autre part, pour l'oxyde de cuivre, la destruction par des nanoparticules nécessite une très grande CMI de l'ordre de 150 mg/mL.

(Vlad et al., 2012) [189] ont testé quelques additifs par imprégnation des matériaux de bois de pin blanc (*Pinus strobus*) utilisés pour la fabrication des fenêtres et d'épinette blanche (*Picea glauca*) utilisés pour la fabrication de lambris extérieurs. Les additifs testés sont des nanoparticules de cuivre, de zinc, de titane et d'argent. L'utilisation des nanoparticules de cuivre a montré une efficacité importante vis-à-vis des moisissures. Tandis que le zinc, le titane et l'argent n'ont pas montré une efficacité en tant que biocide dans les tests de résistance aux moisissures.

1.7.3. Nanoparticules d'oxyde de fer

Les nanoparticules d'oxyde de fer sont composées de Fe_3O_4 de dimensions de 9,7 ($\pm 1,8$) nm, présentant un fort magnétisme (de l'ordre de 27 emu/g), d'où leur appellation par superparamagnétique. Dans une étude menée par (Talantikit, 2014) [188], diverses concentrations d'oxyde de fer ont été évaluées sur différentes souches bactériennes, notamment *S. aureus* et *E. coli*. Les résultats de l'étude ont montré que la concentration minimale inhibitrice (CMI) des nanoparticules de fer est de 5 mg/mL après un contact de 24h pour les *S. aureus*. En effet, la souche bactérienne *S. aureus* a été cultivée en présence de trois concentrations différentes de nanoparticules d'oxyde de fer pendant 4, 12 et 24 heures d'incubation. Des tests microbiologiques ont été effectués et les résultats ont fourni la preuve que les nanoparticules d'oxyde de fer ont inhibé la croissance de *S. aureus* à la concentration 3 mg/mL à tous les moments. En revanche, les nanoparticules n'ont presque aucun effet sur les souches d'*E. coli*, marquant une différence notable de réaction entre les deux types de bactéries face à ces nanoparticules.

Bilan

Ce chapitre porte sur l'avancée de l'état des connaissances autour des grands axes en lien avec les travaux de la thèse. Sur la base de ces connaissances, les principales conclusions de chapitre sont présentées ci-dessous :

- De multiples paramètres tels que l'humidité relative, la densité du biocomposite, le type, la proportion des constituants (granulats végétaux et liants), la température et l'attaque au sels, peuvent influencer les propriétés des matériaux biosourcés, englobant les aspects mécaniques, thermiques et hydriques
- Le développement microbien peut altérer les propriétés mécaniques, thermiques et hydriques des matériaux en raison de l'activité métabolique et des interactions entre les microorganismes et le matériau.

- Différents types de microorganismes sont présents, ainsi que leurs conditions de développement sont diverses telles que l'activité de l'eau qui varie en fonction du type de matériaux et de microorganismes, le pH approprié à chaque type de microorganismes, l'humidité forte et les nutriments consommés par les microorganismes pour leur métabolisme, leur respiration et leur croissance.
- L'étude de microorganismes au laboratoire peut être réalisée par des approches expérimentales pour la quantification des microorganismes développés sur un matériau par des méthodes directes (MET et cytométrie en flux) et pour leur identification par des méthodes phénotypiques qui passent par identification des composants chimiques/biochimiques ainsi que par des approches moléculaires qui sont les plus fréquemment utilisées.
- Les modèles analytiques, utilisés pour la prédiction de la croissance microbienne sur un matériau, sont distincts par leur fiabilité en termes de prise en compte de plusieurs paramètres influençant la croissance microbienne tels que la température, l'humidité, et le type de matériau. Ces modèles sont notamment avantageux par leur capacité à quantifier avec précision cette croissance avec une description quantitative.
- Différents types de traitement préventifs pour lutter contre les microorganismes, déjà utilisés dans la littérature ont montré leur efficacité antimicrobienne à des dosages faibles.

Chapitre 2 : Matériaux, méthodes expérimentales et analytiques

2.1. Introduction

L'objectif de ce chapitre est de présenter les matériaux étudiés, les protocoles et la méthodologie expérimentale de caractérisation proposée pour l'étude et la compréhension de l'impact des microorganismes sur le comportement des matériaux biosourcés. Dans un premier temps, l'ensemble des matières premières, granulats végétaux, liant minéral, ainsi que les biocomposites et les additifs antimicrobiens sont présentés avec le protocole de fabrication et de préparation. Une première caractérisation des granulats est mise en place afin d'examiner leur comportement à leur état initial avant le vieillissement accéléré dont le processus a été aussi expliqué et détaillé. Ensuite, une caractérisation microbiologique par un dénombrement des microorganismes et une identification des bactéries cultivées sur les matériaux étudiés est présentée. Une caractérisation des propriétés mécaniques et thermiques est également réalisée pour évaluer l'effet du développement microbien sur l'évolution de ces propriétés. Pour mieux comprendre le comportement de ces matériaux vis-à-vis de ce développement microbien, des analyses microstructurales ont été réalisées en milieu dilué par chromatographies ioniques, des mesures de pH et de conductivité électrique et sur les matériaux par des analyses thermogravimétriques ATG et des observations au Cryo-MEB. Enfin, deux modèles analytiques ont été présentés permettant la prédiction de la croissance microbienne sur les matériaux biocomposites étudiés, en utilisant une analyse d'image des matériaux contaminés.

La Figure 2. 1 présente un diagramme de la méthodologie proposée pour l'étude et permet de résumer les différentes parties de cette investigation :

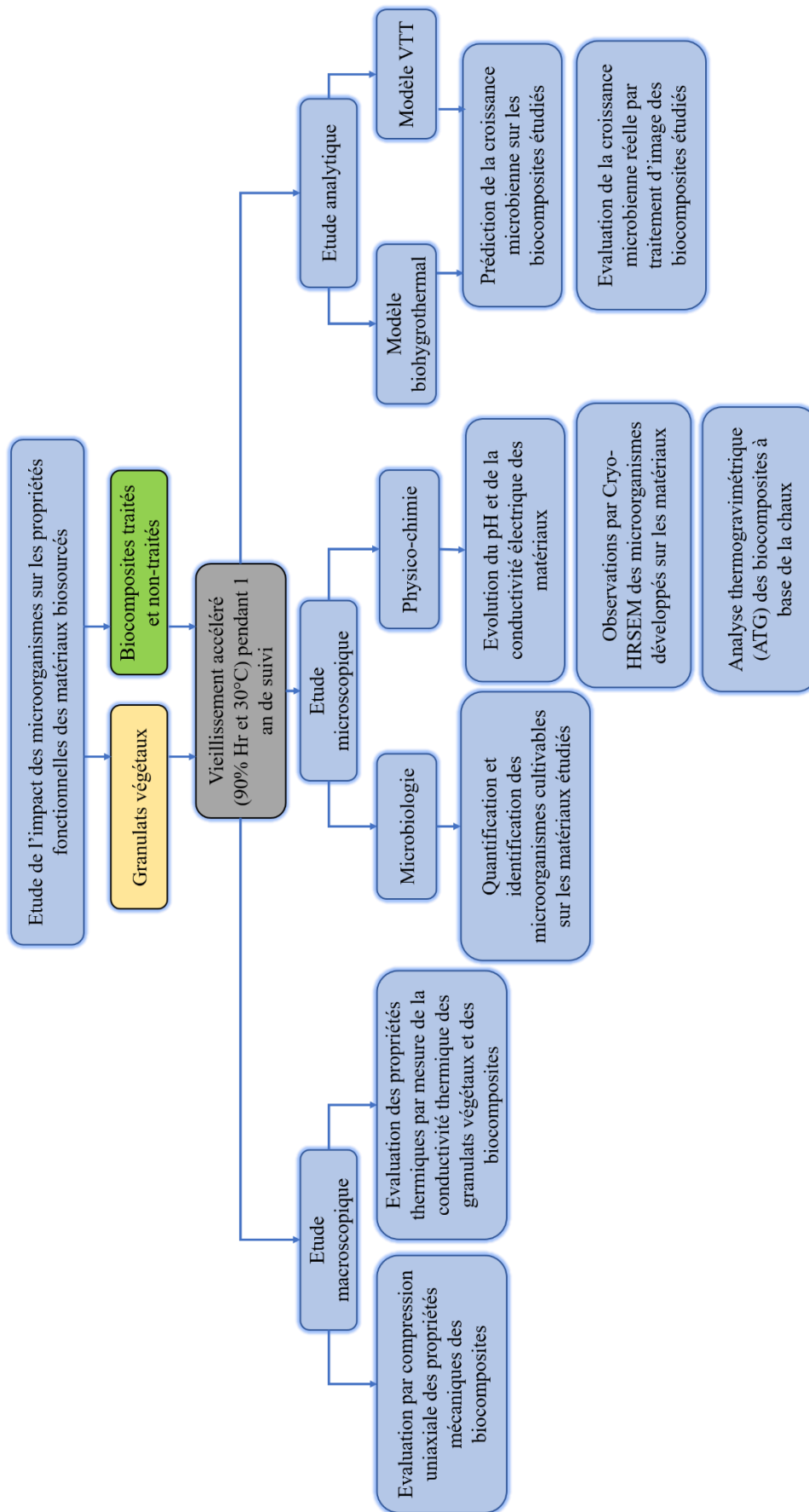


Figure 2. 1 : Diagramme de la méthodologie adoptée dans cette étude

2.2. Matériaux étudiés

Dans le cadre de ce travail qui consiste à étudier l'impact des microorganismes sur des matériaux biosourcés isolants, les matériaux étudiés ont été choisis en se basant sur les travaux précédents de l'équipe [25] [27] [28]. Ces matériaux sont composés de granulats végétaux, d'un liant minéral de chaux Tradical PF70, d'eau et d'additifs selon une méthodologie appropriée de préparation. Compte tenu des objectifs de la thèse consistant à traiter les biocomposites contre le développement microbien, l'adjuvantation antimicrobienne est une étape principale dans ce travail. En effet, les additifs sont des produits ajoutés aux biocomposites pour augmenter leur résistance contre le développement des microorganismes provenant d'une part du matériau lui-même à partir de ses composants riches en nutriment, de sa surface permettant par sa rugosité de capter plus facilement les microorganismes et d'autre part des conditions extérieures liés à son environnement d'usage ou à des conditions accidentelles (dégât des eaux, problèmes d'étanchéité et de mise en œuvre, ...).

2.2.1. Granulats végétaux

Les quatre granulats végétaux utilisés dans ce travail sont : la paille de blé (WS en anglais *wheat straw*), la paille de colza (RS en anglais *rapeseed straw*), l'écorce de tournesol (SB en anglais *sunflower bark*) et la moelle de tournesol (SP en anglais *sunflower pith*). Ils ont été récoltés dans la région Centre-Val de Loire en France, entre 2018 et 2020.

2.2.2. Liant minéral : la chaux

Le liant utilisé pour la formulation des biocomposites est le mélange préformulé Tradical PF70. Ce liant préformulé est conforme aux exigences de la norme NF 459. Il est formé de 75% de chaux aérienne, 15% de chaux hydrauliques et 10% de pouzzolane, de densité apparente 620 (± 20) kg/m³ et d'une granulométrie ne dépassant pas 90 μm .

2.2.3. Additifs antimicrobiens

Après la revue bibliographique, nous avons choisi deux additifs qui ont montré une efficacité quand ils sont mélangés en quantité faible avec d'autres matériaux [188]. Ces additifs ont été testés sur des souches particulières des microorganismes comme dans les travaux de (Talentik, 2014) [188] qui a testé l'efficacité de plusieurs additifs antifongiques. Dans le cadre de ses travaux, la poudre de cuivre a montré une importante efficacité contre *S. aureus* et *E. coli*. Compte tenu que les matériaux biosourcés présentent plusieurs facteurs favorisant le développement microbien comme la rugosité de la surface, l'absorption importante d'eau, les constituants riches en matières organiques, le choix de l'additif sera difficile. Les deux additifs choisis pour cette étude sont les suivants :

- Poudre de cuivre (Cu) : la poudre de cuivre est une forme finement pulvérisée de cuivre, de couleur rougeâtre, avec une masse molaire de 63,54 g/mol et une densité de 8,96 g/cm³. Elle a été fabriquée par la société ROTH. Elle contient plus de 99,7% de cuivre pur et les dimensions de ses particules ne dépassent pas 63 micromètres.

- Sulfate de cuivre (II) (CuSO_4) : également connu sous le nom de vitriol bleu, est un sel de couleur bleue avec une masse molaire de 249,69 g/mol et une densité de 2,286 g/cm³. Il a été également fabriqué par la société ROTH.

2.3. Méthodes expérimentales

Dans le cadre de ce travail, différentes caractérisations sont menées sur les matières premières composées de granulats végétaux en vrac, et du liant minéral et sur les biocomposites, afin d'évaluer l'impact du développement des microorganismes sur le comportement de ces matériaux.

2.3.1. Préparation des granulats

Les quatre granulats étudiés dans ce travail sont la paille de blé (WS), la paille de colza (RS), l'écorce de tournesol (SB) et la moelle de tournesol (SP). La paille de blé a été broyée au laboratoire avec un broyeur à végétaux avec une grille permettant de broyer à une taille entre 1 et 3 cm. La paille de colza, l'écorce de tournesol ont été broyées à l'unité de transformation de ISOCHAMP. La moelle de tournesol a été réceptionnée, broyée et mélangée avec des restes de tiges, et ensuite, elle a été triée manuellement pour enlever les débris de la tige restants.

Ces granulats ont été conservés chez l'agriculteur dans des conditions généralement non contrôlées, qui peuvent influencer sur leur humidité et la quantité d'eau absorbée par ces granulats. Parce que le développement des microorganismes dépend essentiellement de la quantité d'eau présente dans le matériau, les granulats ont donc été séchés jusqu'à la stabilisation de leur masse et stockés sous les conditions accélérées au développement microbien. Ces quatre granulats sont présentés dans la Figure 2. 2.



Figure 2. 2 : Photos des granulats végétaux étudiés : (a) paille de blé (WS), (b) paille de colza (RS), (c) écorce de tournesol (SB), and (d) moelle de tournesol (SP) à leur état initial après broyage

2.3.2. Préparation des biocomposites

2.3.2.1. Biocomposites sans additifs antimicrobiens

Quatre biocomposites ont été sélectionnés pour cette étude à partir de travaux antérieurs de l'équipe [25] [27] [28] : (1) le premier (WL) (Figure 2. 3.a) est basé sur de la chaux (L en anglais *lime*) avec un rapport de masse Eau/Liant $E/L = 1,1$ et de la paille de blé/liant = 0,2 ; (2) le deuxième (WaL) (Figure 2. 3.b) est une version améliorée de WL. Il est également basé sur de la chaux et de la paille de blé mais avec un rapport massique paille de blé/liant = 0,3 au lieu de 0,2. Deux additifs d'origine animale ont été ajoutés : la caséine pour augmenter la résistance mécanique du matériau, et l'hémoglobine pour créer de la porosité dans la matrice afin d'améliorer les performances thermiques ; (3) le troisième (RL) (Figure 2. 3.c) est basé sur de la paille de colza et de la chaux avec un rapport de masse $E/L = 1,1$ et de la paille de colza/liant = 0,3 ; (4) le quatrième (SL) (Figure 2. 3.d) est un mélange de moelle de tournesol et d'écorce avec des pourcentages de masse de 60% et 40% respectivement et en utilisant les mêmes rapport E/L et G/L que le mélange de colza. Ce mélange a été réalisé avec ces pourcentages afin d'avoir la même densité en vrac que la paille de colza.

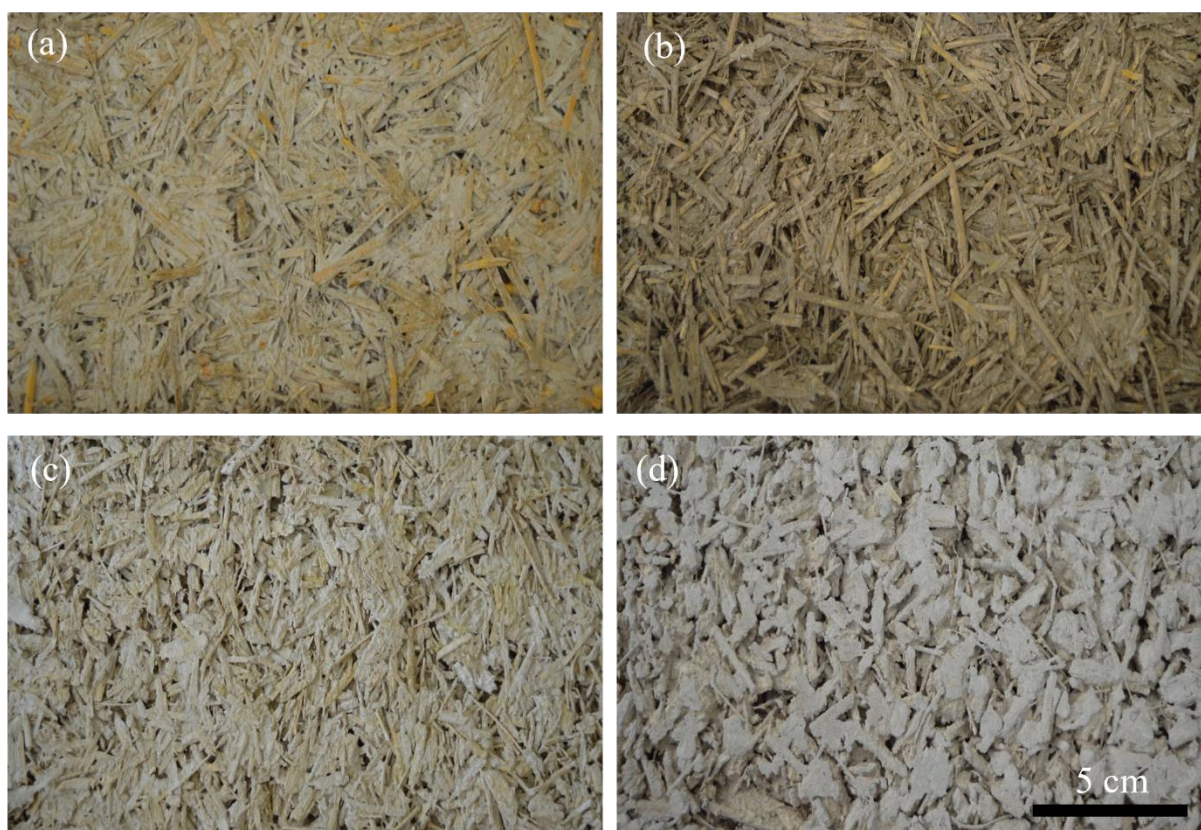


Figure 2. 3 : Les quatre biocomposites de base : (a) paille de blé et chaux (WL), (b) paille de blé, chaux et les deux additifs hémoglobine et caséine (WaL), (c) paille de colza et chaux (RL) et (d) mélange de tournesol et chaux (SL)

2.3.2.2. Biocomposites avec additifs antimicrobiens

Le Tableau 2. 1 montre la désignation des matériaux et les quantités massiques de mélange détaillées pour préparer un mètre cube d'un biocomposite. Pour chaque matériau de base étudié (WL, WaL, RL et SL), deux additifs antimicrobiens ont été ajoutés : la poudre de cuivre Cu et

le sulfate de cuivre (II) CuSO_4 . Pour la poudre, deux concentrations sont utilisées : 3 g/L et 6 g/L, tandis que pour le sulfate de cuivre (II), les deux concentrations testées sont de 4,2 g/L et 11 g/L. Pour chaque concentration, un indice a été choisi pour la notation des mélanges. Les indices sont 1, 2, 3 et 4, qui correspondaient respectivement aux concentrations de 3 g/L et 6 g/L de poudre de cuivre et de 4,2 g/L et 11 g/L de sulfate de cuivre (II). Par exemple, WaL1 correspond au matériau WaL avec la poudre de cuivre à une concentration de 3 g/L.

Tableau 2. 1 : Désignation des composites et proportions détaillées de mélanges (kg/m^3), G : Granulats, E : Eau, L : Liant, H : Hémoglobine, C : Caséine, Cu : Poudre de cuivre et CuSO_4 : Sulfate de cuivre (II)

| Biocomposites | G (kg/m^3) | E (kg/m^3) | L (kg/m^3) | H (kg/m^3) | C (kg/m^3) | Cu (kg/m^3) | CuSO_4 (kg/m^3) |
|----------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|--|
| WL | 65 | 360 | 325 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| WL1 | 65 | 360 | 325 | 0 | 0 | 1,08 | 0 |
| WL2 | 65 | 360 | 325 | 0 | 0 | 2,16 | 0 |
| WL3 | 65 | 360 | 325 | 0 | 0 | 0 | 1,51 |
| WL4 | 65 | 360 | 325 | 0 | 0 | 0 | 3,96 |
| WaL | 82,5 | 287 | 236 | 12,8 | 6,7 | 0 | 0 |
| WaL1 | 82,5 | 287 | 236 | 12,8 | 6,7 | 0,86 | 0 |
| WaL2 | 82,5 | 287 | 236 | 12,8 | 6,7 | 1,72 | 0 |
| WaL3 | 82,5 | 287 | 236 | 12,8 | 6,7 | 0 | 1,20 |
| WaL4 | 82,5 | 287 | 236 | 12,8 | 6,7 | 0 | 3,16 |
| RL ou SL | 97 | 358 | 325 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RL1 ou SL1 | 97 | 358 | 325 | 0 | 0 | 1,07 | 0 |
| RL2 ou SL2 | 97 | 358 | 325 | 0 | 0 | 2,14 | 0 |
| RL3 ou SL3 | 97 | 358 | 325 | 0 | 0 | 0 | 1,50 |
| RL4 ou SL4 | 97 | 358 | 325 | 0 | 0 | 0 | 3,93 |

2.3.2.3. Etapes de fabrication des biocomposites

Dans ce travail, nous avons utilisé les protocoles de mélanges optimisés dans le cadre des travaux précédents. La préparation des biocomposites a été réalisée en suivant les étapes suivantes (Figure 2. 4) [28] : (1) peser les composants ; (2) mélanger à sec la chaux (et les additifs s'ils sont utilisés) pendant 1 minute, puis mélanger avec de l'eau pendant 5 minutes pour obtenir le liant ; pour assurer une utilisation correcte des additifs antimicrobiens dans la production du mélange, une étude préliminaire a été mise en place. La poudre de cuivre a été directement mélangée avec la chaux pour former le liant, tandis que le sulfate de cuivre (II) est un sel qui devait être dissous dans l'eau avant d'ajouter la chaux ; (3) mettre les granulats

végétaux dans le mélangeur avec 20% de la quantité d'eau et mélanger pendant 2 minutes ; (4) ajouter le liant aux granulats, puis mélanger pendant 5 minutes ; (5) mouler les matériaux dans des moules de dimensions 20x10x10 cm pour les tests mécaniques et 20x20x2,5 cm pour les tests thermiques. Le moulage a été effectué par une compression faible en utilisant une presse mécanique à une vitesse lente (0,5 mm/min) pour garantir la même densité des échantillons préparés ; (6) conserver les matériaux à 50% d'humidité pendant 28 jours pour la cure.



Figure 2. 4 : Processus de fabrication : (a) préparation des matériaux, (b1) ajout de la poudre de cuivre à la chaux, (b2) dissolution du sulfate de cuivre (II), (c) ajout de l'hémoglobine et de la caséine (cette étape est uniquement pour WaL), (d) mélange du liant, (e) mélange des composants, et (f) moulage des matériaux (exemple sur RL)

2.3.3. Préparation des liants

Afin de voir l'influence du développement microbien sur le liant seul, permettant de comprendre le mécanisme prépondérant, des mélanges des liants à base de la chaux Tradical PF70 et de l'eau ont été préparés avec des proportions massiques bien déterminées Eau/Liant (E/L). Ces proportions correspondent au rapport E/L déjà utilisées pour préparer les biocomposites qui sont le sujet d'étude. En conséquent, quatre formulations de liant ont été choisies et préparées : la première formulation (LE) correspond au liant du biocomposite WL, formée de la chaux et de l'eau avec un rapport massique E/L = 0,2. La deuxième formulation (LEC) et la troisième formulation (LEH) ont été inspirées du biocomposite WaL. Chacun de deux formulations contient en plus de la chaux et de l'eau, la caséine et l'hémoglobine pour LEC et LEH respectivement. Le rapport E/L utilisé est égale à 0,3. Cette fois-ci, la quantité du

liant correspond à la chaux mélangée avec la caséine et l'hémoglobine dont ces deux composants constituent 2,5% et 5% respectivement de la masse totale du liant [27]. Pour la quatrième formulation (LECH), elle correspond aussi au liant du biocomposite WaL, mais en utilisant les deux additifs ensemble (caséine (2,5%) et hémoglobine (5%)). Elle est également préparée avec un rapport E/L=0,3. Après le malaxage, le liant est moulé dans des moules de dimensions 4*4*16 et ensuite conservé dans une chambre humide pendant 28 jours pour la cure. Le Tableau 2. 2 présente ces quatre formulations avec les proportions détaillées de constituants.

Tableau 2. 2 : Désignation des mélanges des liants et proportions de mélanges détaillées, E : Eau, L : Liant, C : Caséine, H : Hémoglobine

| Désignation | Constituants | E/L | %C | %H |
|-------------|-------------------------------------|-----|-----|----|
| LE | Chaux + eau | 0,2 | 0 | 0 |
| LEC | Chaux + caséine + eau | 0,3 | 2,5 | 0 |
| LEH | Chaux + hémoglobine + eau | 0,3 | 0 | 5 |
| LECH | Chaux + hémoglobine + caséine + eau | 0,3 | 2,5 | 5 |

2.3.4. Vieillessement accéléré du développement microbien

Le développement des microorganismes sur un matériau dépend des conditions favorables à leur croissance, telles que la température et l'humidité. Dans le domaine des bâtiments, une température comprise entre 15 et 45°C est capable de couvrir la plupart des conditions climatiques d'une année. De plus, (Santos, 2017) [190] a mentionné que la température optimale pour de nombreuses espèces de champignons se situe entre 20 et 30°C. Par ailleurs, la croissance fongique commence à environ 80% d'humidité relative selon (Fog Nielsen, 2003) [191]. (Krigsheld et al., 2013) [192] ont montré qu'une humidité relative minimale pour la croissance fongique est de 77%, mais la valeur optimale est de 97%.

Pour cette étude, les conditions adoptées pour une croissance microbienne accélérée sont de 30°C et de 90% (± 3) d'humidité relative.

Comme déjà expliqué avant que les granulats aient été séchés jusqu'à la stabilisation de leur masse, chaque matériau est ensuite placé dans quatre boîtes de dimensions 20x10x12 cm, dont chacun correspond à l'échéance de suivi pendant le vieillissement : 0, 3, 6 et 12 mois. Les boîtes sont conservées dans une grande boîte hermétique, permettant de préserver les conditions optimales de conservation. Les boîtes à leur tour, sont incubées sur des supports placés dans une solution saline spécifique de nitrate de potassium KNO₃ pour assurer une humidité de 94,62% ($\pm 0,66$) selon (Greenspan, 1977) [193]. Enfin, cette boîte est conservée dans une étuve avec ventilation, capable de maintenir la température à 30°C pendant toute la durée de vieillissement (Figure 2. 5).

Le même principe est adopté pour la conservation des échantillons des liants et des biocomposites. Pour les liants, ils ont été suivis à 0, 3 et 6 mois. Des échantillons de dimensions 4x4x16 cm ont été préparés pour chaque échéance, afin de mener les tests microbiologiques et physico-chimiques prévus. D'autre part, pour chaque biocomposite a été préparé un certain nombre d'échantillons, pour permettre la réalisation de différents tests envisagés aux quatre temps de suivi, à savoir 0, 3, 6 et 12 mois : en détail, ce sont : (1) douze échantillons de

dimensions 10x10x20 cm pour l'essai mécanique, (2) quatre échantillons 20x20x5 cm pour l'essai thermique, (3) quatre échantillons 10x10x10 cm pour les analyses biologiques et physico-chimiques.



Figure 2. 5 : Conservation des échantillons sous des conditions accélérés pour le développement microbien

2.3.5. Caractérisation des granulats

2.3.5.1. Granulométrie

La granulométrie des granulats étudiés a été déterminée à l'aide de la méthode d'analyse d'image conformément à la recommandation de la RILEM TC 236-BBM (Réunion Internationale des Laboratoires et Experts des Matériaux, systèmes de construction et ouvrage) [194]. Le but de cette étude est de s'assurer que la taille des granulats utilisés est conforme au cahier de charge déjà utilisé pour la formulation des matériaux biosourcés dans les travaux précédents ([27], [28]). En effet, un échantillon contenant plus de 3000 particules, de 100 g de masse, a été réparti sur un fond noir, puis scanné (Figure 2. 6). Les images scannées ont été traitées à l'aide d'un code Matlab développé dans le cadre de la thèse de Brahim Ismail [27]. Les images ont d'abord été segmentées, puis chaque particule détectée a été ajustée à une ellipse. La longueur et la largeur de chaque particule ont été définies respectivement en fonction des axes majeur et mineur de l'ellipse ajustée.

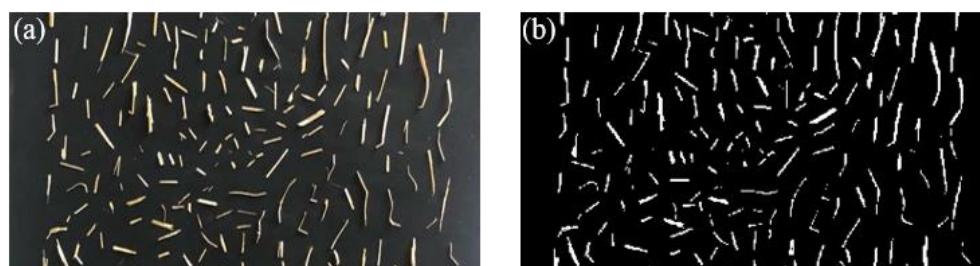


Figure 2. 6 : (a) image des particules et (b) seuillage réalisé par le code Matlab

2.3.5.2. Absorption d'eau

Selon les recommandations de la RILEM TC 236-BBM [194], la mesure de l'absorption d'eau des granulats végétaux est réalisée en utilisant 100 grammes de granulats, séchés au préalable à 60°C jusqu'à la stabilisation de masse. Ils sont ensuite immergés dans l'eau pendant différents temps : 1, 2, 5, 10, 30, 60 et 180 min. Le suivi de masse permet de déterminer la capacité d'absorption d'eau (A_w), donnée par l'équation (2. 1)

$$A_w = \frac{m_h - m_s}{m_s} * 100 \quad (2. 1)$$

Avec : A_w : l'absorption d'eau (%)

m_h : la masse humide des granulats immergés dans l'eau (kg)

m_s : la masse sèche des granulats (kg)

2.3.5.3. Masse volumique apparente

La densité apparente des granulats végétaux a été déterminée également en suivant les recommandations de la RILEM TC 236-BBM [194]. Les granulats ont été placés dans un four à 50°C jusqu'à la stabilisation de la masse, puis versés dans un tube cylindrique de 15 cm de diamètre et 25 cm de hauteur jusqu'à mi-hauteur. Le cylindre a ensuite été bouché et inversé 10 fois. À l'issue de cette étape, le volume final a été marqué, et ce volume a été rempli d'eau et pesé. La densité en vrac a été calculée en utilisant l'équation (2. 2) :

$$\rho = \frac{m}{m_w} * \rho_w \quad (2. 2)$$

Avec : ρ : la densité apparente des granulats (kg/m^3)

m : la masse sèche des granulats (kg)

m_w : la masse de l'eau correspondant au volume de granulats (kg)

ρ_w : la densité de l'eau (1000 kg/m^3)

2.3.6. Caractérisations microbiologiques des matériaux

2.3.6.1. Dénombrement des microorganismes

2.3.6.1.1. Etapes de la technique de dénombrement

Le but de la technique de dénombrement (aussi nommé numération) est de déterminer la concentration en microorganismes cultivables contenus dans une matière. Ces matières peuvent être liquide ou solide. Dans le cas où c'est un solide, une étape d'infusion précède le dénombrement afin d'avoir une solution liquide, nécessaire à la suite des étapes. La technique, schématisée dans la Figure 2. 7, se réalise selon les étapes suivantes :

Étape 1 : il s'agit d'une infusion pendant 10 min de 5 grammes de matière non broyée dans 50 mL d'eau peptonée stérile. Cette eau a été préparée en dissolvant 1 gramme de peptone dans 1

L'eau distillée. A noter que le volume de 50 mL sur 5 grammes de la matière a été adoptée pour tous les matériaux sauf pour la moelle de tournesol (SP) dont un volume de 125 mL d'eau peptonée a été ajouté, à cause de sa forte absorption d'eau. De plus, une étude préliminaire a été mise en place pour préciser l'état de la matière à tester c'est-à-dire si elle doit être broyée ou pas. Sur deux matériaux, la paille de blé et la paille de colza, un broyage des brins de la paille a été fait et la poudre fine obtenue, résidu de ce broyage, a ensuite été infusée dans l'eau peptonée. Pour la matière broyée, le test était négatif, c'est-à-dire que le nombre des microorganismes cultivables avec la poudre n'a pas dépassé les 5% de celui de microorganismes cultivés avec les brins non broyés. Par conséquent, pour les tests de dénombrement, les granulats ont été infusés sans broyage dans l'eau peptonée.

Étape 2 : elle correspond à la dilution au 1/5^{ème} de l'eau filtrée de l'infusion par un tamis de 80 µm. Ces dilutions ont été effectuées pour éviter que les colonies soient en confluence sur le milieu de culture. Ces dilutions ont donc permis de réduire le nombre de microorganismes cultivés afin qu'ils puissent être facilement comptés. Pour une bonne homogénéisation des solutions diluées, une simple agitation, par détournement du tube, est nécessaire.

Étape 3 : il s'agit de la mise en culture de microorganismes en utilisant des milieux appropriés. Pour cette étude, deux types de milieux ont été utilisés, l'un permettant le comptage des bactéries et l'autre le comptage des champignons. Pour le milieu spécialisé pour la culture des bactéries, le Gel d'Extrait de levure (YEG en anglais *Yeast Extract Gel*) a été utilisé, afin de cultiver les bactéries aérobies à la surface du milieu, et les bactéries anaérobies, cultivées à la surface et au cœur du milieu. 1 mL d'eau d'infusion a été déposé au fond de la boîte de Pétri, puis 20 mL de YEG en surfusion (envi. 55°C), ont été ajoutés. Les deux liquides ont été homogénéisés par une rotation simple de la boîte, avant la gélification. Pour le milieu spécifique pour la culture des champignons, l'agar de pomme de terre (PDA en anglais *Potato Dextrose Agar*) a été utilisé pour cultiver uniquement les champignons aérobies. 20 mL de PDA ont été déposés dans une boîte de Pétri jusqu'à la gélification. Ensuite, 100 µL de l'eau d'infusion ont été déposés à la surface du gel. Environ dix billes de verre stériles ont été déposées sur la surface du milieu gélifié pour étaler le volume de l'eau d'infusion. A noter que toutes les dilutions (effectuées dans l'étape 2) des eaux d'infusion ont été étalées. Pour chaque dilution, trois boîtes sont préparées pour pouvoir calculer une moyenne.

Étape 4 : c'est le comptage des colonies microbiennes (bactéries ou champignons) après incubation des boîtes pendant 5 à 6 jours à 25°C. Le nombre des microorganismes comptés correspond à ce qui est contenu dans 5 grammes de la matière, infusée dans 50 mL d'eau peptonée, donc l'unité du nombre de microorganismes est l'unité formant colonie (UFC) par 5 grammes de matière par 50 mL d'eau peptonée. Pour avoir des résultats homogénéisés, ces nombres ont été convertis en unité formant colonie par gramme de matière (UFC/g).

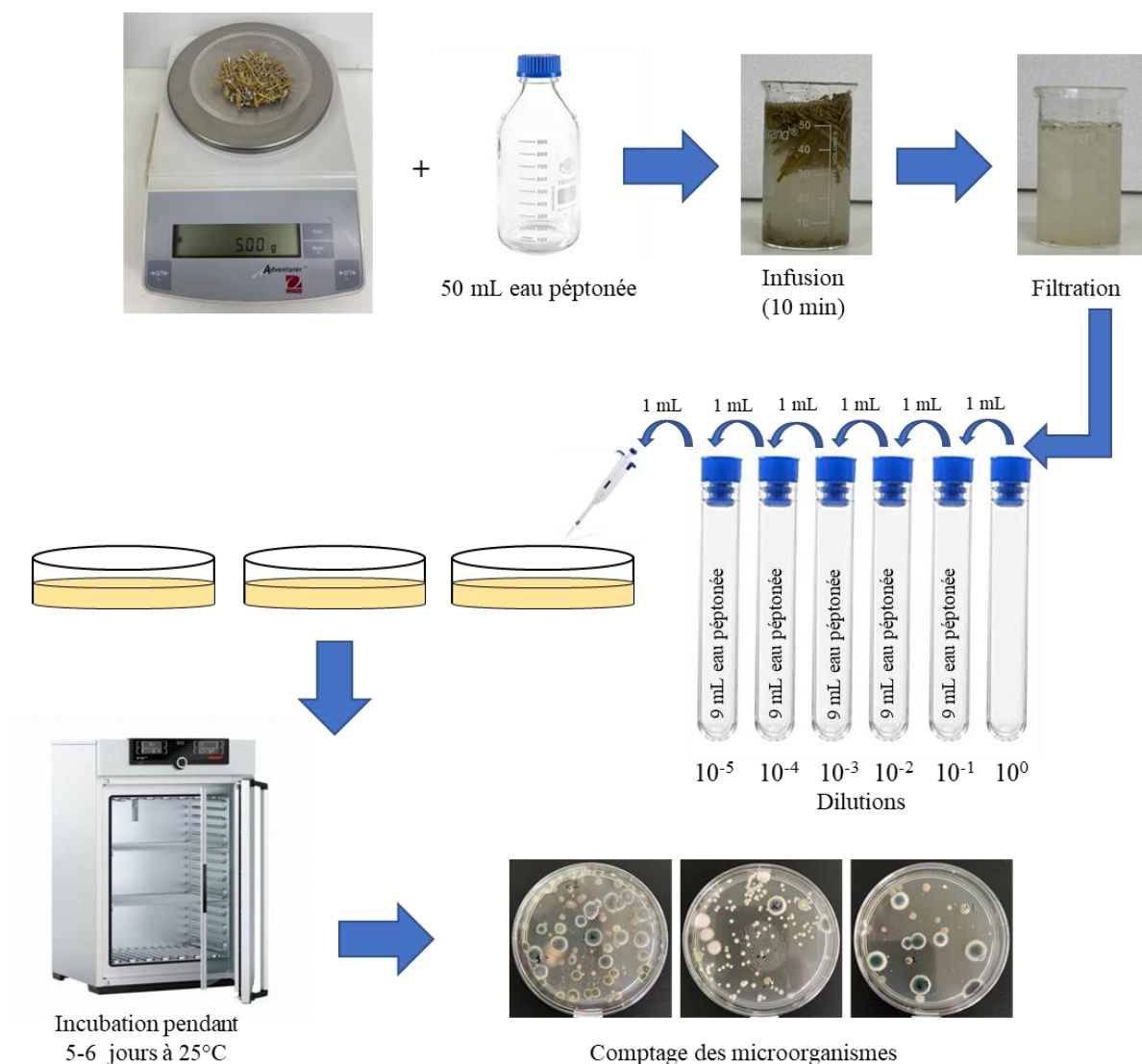


Figure 2. 7 : Résumé des différentes étapes de la technique de dénombrement

2.3.6.1.2. Etude statistique des résultats de dénombrement

Une étude statistique a été réalisée à l'aide du logiciel R [195], afin de comparer les résultats de dénombrement des microorganismes (bactéries et champignons) de deux manières : d'une part, pour chaque matériau, l'effet du temps sur les microorganismes dénombrés, et d'autre part, pour chaque temps, l'effet du type de granulats. Tout d'abord, deux critères ont été vérifiés : la normalité et l'homoscédasticité des données, puis la comparaison a été réalisée avec différentes méthodes d'analyse statistique en fonction de ces deux critères : une Anova puis un test de TukeyHSD si la normalité et l'homoscédasticité étaient respectées, et sinon, un test de Kruskal-Wallis puis un test de Dunn.

2.3.6.2. Identification des microorganismes

Dans l'objectif d'identifier les espèces et les types des microorganismes, soient des bactéries, soient des champignons, cultivés à partir des granulats et les biocomposites à l'aide des milieux de cultures spécifiques, l'identification a été effectuée sur les matériaux à 12 mois d'exposition

au vieillissement accéléré. Le choix de ce temps est basé sur le fait que les matériaux ont été fortement contaminés par les microorganismes à cette échéance, en plus de la diversité observée de ces organismes pendant leur culture. La démarche expérimentale choisie comprend plusieurs étapes résumées sur la Figure 2. 8 et décrites ci-après :

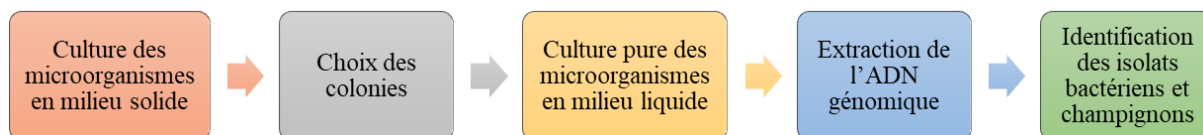


Figure 2. 8 : Etapes de l'identification des microorganismes

(1) Culture des microorganismes en milieu solide : cette phase consiste à appliquer les étapes de la technique de dénombrement déjà détaillées dans la partie 2.3.6.1.1.

(2) Choix des colonies : après la culture des microorganismes sur gélose en boîtes de pétri, une observation attentive des colonies est effectuée. La colonie choisie doit être présente en abondance, de manière à ce qu'elle soit représentative de l'échantillon. En plus, il faut que cette colonie soit isolée dans la boîte pour éviter sa contamination par des organismes voisins.

(3) Culture pure en milieu liquide : les colonies choisies, sont ensuite transférées, à l'aide d'une anse dans des tubes contenant 2 mL des milieux de culture liquide (milieu à extrait de levure pour les bactéries et extrait de pomme de terre pour les champignons). Il est conseillé à ce stade de bien disperser la colonie dans le liquide, pour que la culture réussisse. Ces tubes sont ensuite placés dans un incubateur à une vitesse de 200 rotations/min à une température de 25°C pendant 4 jours.

(4) Extraction de l'ADN génomique à l'aide du kit Nucleospin® microbial DAN (Macherey-Nagel) en suivant les instructions du fabricant.

(5) Identification des isolats bactériennes et champignons. Une identification au niveau moléculaire a été faite pour déterminer le genre des souches isolées. Pour ce faire, la technique PCR (*Polymerase chain reaction*) a été choisie ; pour déterminer le genre des souches bactériennes, le gène codant l'ARN ribosomal 16S a été choisi, avec les amorces 16S-27f (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') et 16S-1492r (5'-ACGGGCGGTGTGTRC-3') [196] et dans le cas des champignons, avec les amorces universelles ITS [197]. La réaction de PCR a été réalisée avec l'enzyme *Q5-High fidelity DNA polymerase* (NEB Q5® Reaction Buffer Pack) ; dans 25 µL de réaction avec 1x Q5 buffer, 0,5 µM amorce forward, 0,5 µM amorce reverse, < 1 µg ADN purifié et de l'eau ultrapure stérilisée par filtration (0,2 µm). L'amplification a été faite à l'aide d'un thermocycleur MJ-Mini Biorad dans les conditions suivantes ; 1 cycle de dénaturation à 98°C durant 1 min, suivi de 35 cycles comprenant chacun, une dénaturation à 98°C pendant 15 s, une hybridation à 56°C pendant 15 s et enfin une amplification à 72°C pendant 1 min, un dernier cycle d'élongation à 72°C pendant 2 min et finalement un cycle de conservation de la réaction à 12°C. Les produits de l'amplification sont séparés par taille par électrophorèse en gel d'agarose à une concentration de 1,5% (en tampon TAE) pour un temps de migration de 45 min environ, à 100V dans un système d'électrophorèse (Mupid®-ONE, Dutscher). Les amplifiats sont visualisés et photographiés à l'aide d'un

transilluminateur (UV-transilluminateur, Fisher Scientific) après la coloration du gel au bromure d'éthidium. Un volume de 15 μL de chaque amplifiat obtenu a été envoyé à un prestataire de séquençage (Eurofins Genomics). Les séquences obtenues, par la méthodologie de séquençage Sanger, sont visualisées et analysées avec l'aide du logiciel Chromas (Version 2.6.6, Technelysium Pty Ltd, South Brisbane, Australie). Les séquences nucléotidiques obtenues sont soumises à une analyse BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*, NCBI-NLM Bethesda, MD 20894, États-Unis) contre la base de données de rRNA/ITS du NCBI. Le genre bactérien qui montre la similitude la plus élevée avec la séquence soumise est considéré comme le genre le plus probable pour la souche isolée.

2.3.6.3. Test de tolérance au sulfate de cuivre des bactéries

Le test de tolérance a pour objectif d'évaluer l'effet direct des additifs antimicrobiens sur une souche bactérienne isolée. La démarche expérimentale du test de tolérance au sulfate de cuivre des bactéries isolées, comprend quatre étapes principales résumées sur la Figure 2. 9 :

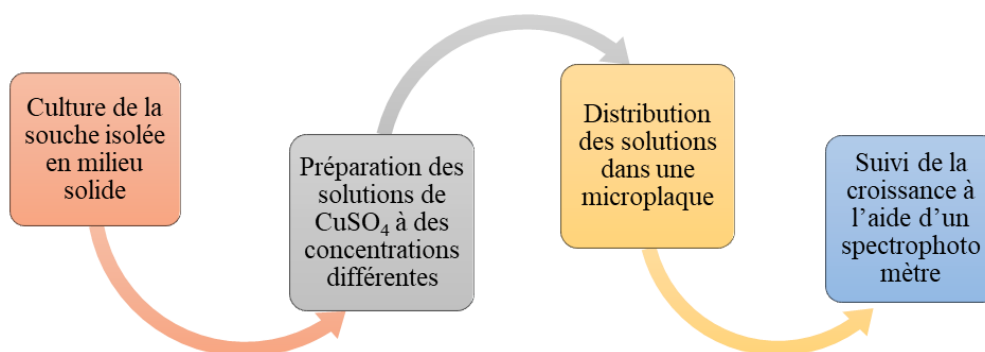


Figure 2. 9 : Etapes du test de mesure de la tolérance au sulfate de cuivre des bactéries

(1) Culture de la souche isolée en milieu liquide : après avoir identifié les différentes souches isolées, l'une d'entre elle est ensuite mise en culture dans un milieu liquide LB (en anglais *lysogeny broth*), spécifiques pour la culture des bactéries. Dans un tube de 15 mL, on introduit du glycérol-stock préparé dans 2 mL du LB. Enfin, les tubes sont placés dans un incubateur à 25°C à une vitesse de rotation de 200 rpm.

(2) Préparation des solutions de CuSO_4 à des concentrations différentes : les concentrations de CuSO_4 testés sont choisies en se basant sur les deux concentrations de CuSO_4 utilisées dans la préparation des biocomposites, à savoir 4,2 et 11 mg/mL et qui sont déjà choisies en se basant sur des résultats de la littérature. Les concentrations testées sont les suivantes : 0, 1,25, 2,5, 5 et 10 mg/mL. Une solution mère de concentration 10 mg/mL a été préparée en premier lieu, en mélangeant 10 mg du sel de CuSO_4 avec 1 mL du LB. Ensuite, une série de dilution avec du LB a été réalisée pour préparer les autres solutions aux concentrations souhaitées.

(3) Distribution des solutions : dans une microplaque stérile composée de 24 puits, 500 μL de chacune des solutions de CuSO_4 à des concentrations différentes, en milieu LB, sont mélangés avec 500 μL de la souche isolée mise en culture en milieu liquide dans le tube de 15 mL préparé dans l'étape 1.

(4) Suivi de la croissance : la mesure de la croissance microbienne est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre lecteur de microplaque (SpectroStar, Omega, BMG LABtech, Champigny-sur-Marne), à la longueur d'onde de 600 nm, pour 5 temps différents (0, 6, 24, 48, 72 et 96 heures) de culture de la souche choisie en présence de la solution de CuSO_4 .

2.3.7. Caractérisations mécanique et thermique des matériaux

2.3.7.1. Compression uniaxiale

Pour mesurer la résistance mécanique des matériaux, des tests de compression uniaxiale (Figure 2. 10) ont été effectués sur des échantillons de biocomposites d'une surface de (10 cm x 10 cm) et une hauteur de 20 cm, en utilisant une presse de compression Instron, avec une vitesse de 0,5 mm/min. Ils ont été réalisés dans le sens de coulage des fibres de granulats et ont été effectués sur les échantillons après un séchage lent durant 5 à 6 jours à 60°C jusqu'à la stabilisation de la masse.

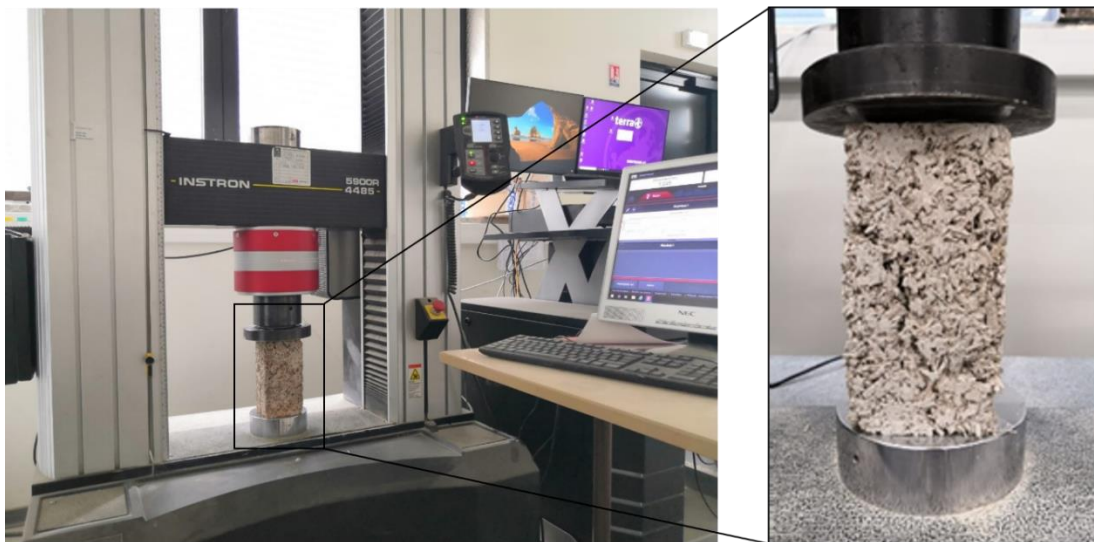


Figure 2. 10 : Compression uniaxiale (exemple sur SL)

2.3.7.2. Mesure de la conductivité thermique

Le test thermique a été effectué afin d'évaluer l'effet de la biodégradation de la structure par les microorganismes sur la capacité du matériau à diffuser la chaleur. La conductivité thermique des granulats a été mesurée par la méthode du fil chaud et celle des biocomposites par la méthode des deux plaques.

2.3.7.2.1. Méthode du fil chaud

La conductivité thermique des granulats a été mesurée à l'aide d'un conductimètre NeoTIM-FP2c basée sur la technique du fil chaud (Figure 2. 11), conformément à la recommandation de la RILEM TC 236-BBM [194]. Les mesures ont consisté à : (1) sécher les granulats à 60°C jusqu'à stabilisation de la masse ; (2) mettre en place les granulats dans un conteneur ; (3) mettre en place le fil chaud entre les deux couches des granulats avec une puissance comprise entre 0,1 et 0,2W pour une durée de mesure entre 60 et 120s et (4) répéter le test 5 fois.

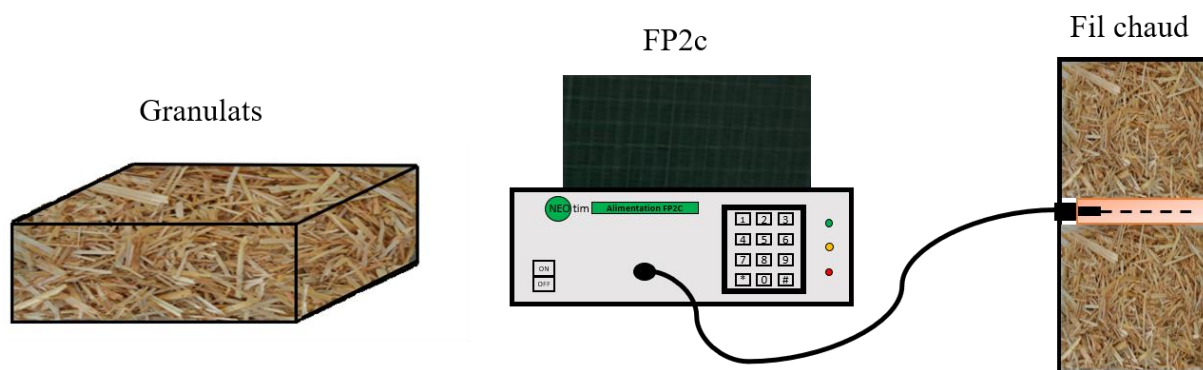


Figure 2. 11 : Dispositifs pour la mesure de la conductivité thermique par la méthode du fil chaud (exemple sur la paille de blé)

2.3.7.2.2. Méthode fluxmétrique

La conductivité thermique des biocomposites a été mesurée à l'aide d'un fluxmètre (HFM 446 Lambda, en anglais *Heat Flow Meter*) (Figure 2. 12), développé par NETZSCH et basé sur la méthode fluxmétrique de deux plaques. L'échantillon, de dimensions 20x20x2,5cm, a été placé entre deux plaques, après son séchage jusqu'à stabilisation de la masse. L'énergie a été transportée, sous forme de chaleur, à travers l'échantillon, sous l'effet d'un gradient de température entre la plaque froide à basse température et la plaque chaude à haute température. Ces deux températures ont été choisies de manière à couvrir la majorité des températures que le matériau peut rencontrer. Pour cette étude, les températures choisies étaient 10°C et 30°C (pour la plaque froide et chaude respectivement), ce qui équivaut à une valeur moyenne de 20°C et à un delta de 10°C.



Figure 2. 12 : Essai thermique : (a) HFM et (b) positionnement de l'échantillon entre les deux plaques

2.3.8. Caractérisations physico-chimiques des matériaux

2.3.8.1. Chromatographie ionique

La technique de chromatographie ionique, réalisée au laboratoire « Cellule R&D d'expertise et de transfert en traçage appliqués à l'hydrogéologie et à l'environnement (CETRAHE) », permet d'analyser qualitativement par séparation des espèces chimiques présentes par une détection conductimétrique et quantitativement par dosage des espèces ioniques présentes dans un

échantillon liquide. Cette technique comprend plusieurs étapes : (1) infusion de 5 grammes de granulats dans 75 ml d'eau distillée dans un bécher sans agitation et à température ambiante ; (2) filtration des eaux infusées à l'aide d'un tamis de 80 micromètres afin d'éliminer les petites particules ; (3) séparation de différents éléments chimiques par une résine échangeuse d'ions. Cette phase comporte des groupes fonctionnels forts ionisés soit positifs soit négatifs afin de retenir les espèces qu'on souhaite ; (4) détection des ions par le conductimètre qui est le détecteur universel le plus courant pour les substances ioniques. Elle permet finalement de mesurer la concentration en espèce chimique ; (5) chromatographies anionique et cationique réalisées par la méthode de détection conductimétrique avec suppresseur.

Des très nombreux anions et cations organiques et inorganiques peuvent être détectés mais, dans cette étude, le choix des ions à détecter et quantifier a été fait en considérant ceux les plus consommés par les microorganismes (tels que décrits dans la littérature) : ce sont les ions chlorure, nitrite, nitrate, sulfate, phosphate, sodium, ammonium, magnésium, potassium et calcium.

2.3.8.2. pH et conductivité électrique

Dans le but d'évaluer l'impact du développement microbien sur le pH et la conductivité électrique des matériaux étudiés, ces deux paramètres ont été mesurés à l'aide d'un pH-mètre, à électrodes doubles, de type HANNA HI 2020-02 (Figure 2. 13). Avant chaque série de mesure, un calibrage de l'appareil est nécessaire pour maintenir le bon fonctionnement de l'instrument et garantir sa fiabilité. La mesure a été effectuée pour l'eau infusée filtrée à partir des matériaux étudiés selon la norme NF X 31-103 [198]. Cinq grammes de chaque matériau ont été infusés dans 50 mL d'eau distillée à température ambiante, pendant une heure sans agitation.

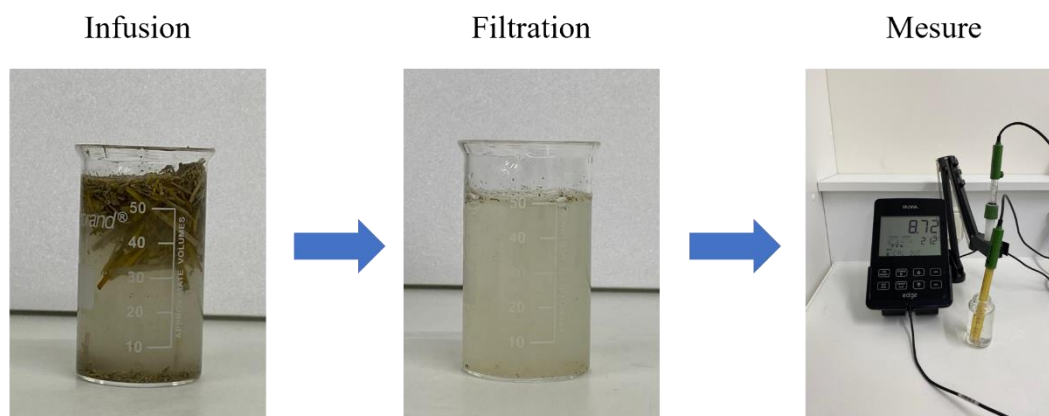


Figure 2. 13 : Etapes de mesure du pH et de la conductivité électrique à l'aide d'un pH-mètre à électrode double

2.3.8.3. Analyse thermogravimétriques ATG

Dans le but d'étudier l'effet des additifs antimicrobiens sur la carbonatation du liant des biocomposites et comprendre le comportement physico-chimique de la microstructure, des analyses thermogravimétriques (ATG) ont été réalisées. Ces analyses permettront de tracer des courbes de perte de masse TG (en anglais *Thermogravimetric curve*) et DTG (en anglais *Derivative Thermogravimetric curve*), pour les matériaux étudiés. Le test a été réalisé sur des

biocomposites après broyage et tamisage à une maille de 80 μm . Les résultats de ce test ont été obtenus à partir des courbes TG-DTG. Selon [27], le processus de carbonatation a été établi en suivant les trois réactions chimiques suivantes :

(R1) évaporation de l'eau (eau libre), pour des températures entre 0°C et 200°C ;

(R2) Déshydroxylation de l'hydroxyde de calcium selon la réaction chimique suivante : $\text{Ca}(\text{OH})_2 \rightarrow \text{CaO} + \text{H}_2\text{O}$ et la décomposition des additifs (hémoglobine et caséine), pour des températures entre 200°C et 500°C ;

(R3) Décarbonatation de la calcite (carbonate de calcium) selon la réaction chimique suivante : $\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaO} + \text{CO}_2$, pour des températures entre 500°C et 850°C.

Le calcul des pourcentages de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ et CaCO_3 a été dérivé des courbes de perte de masse TG et ATG selon les équations (2. 3) et (2. 4) :

$$\% \text{ Ca}(\text{OH})_2 = (\text{Perte de masse entre } 200^\circ\text{C et } 500^\circ\text{C}) * \text{K1} \quad (2. 3)$$

$$\% \text{ CaCO}_3 = (\text{Perte de masse entre } 500^\circ\text{C et } 850^\circ\text{C}) * \text{K2} \quad (2. 4)$$

Où K1 : masse molaire de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ / masse molaire de H_2O , et K2 : masse molaire de CaCO_3 / masse molaire de CO_2 .

Le taux de carbonatation τ a été calculé selon l'équation (2. 5) :

$$\tau = \text{CHcarb} / \text{CHcarb} + \text{CHlime} \quad (2. 5)$$

Où $\text{CHcarb} = \text{CClime} * \text{K3}$ où $\text{CClime} = \% \text{ de } \text{CaCO}_3 - \text{CCRL} * \% \text{ de chaux}$. CCRL est la teneur en calcite de la chaux, et K3 : masse molaire de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ / masse molaire de CaCO_3 .

2.3.8.4. Observation au Cryo-HRSEM

Le Cryo-HRSEM (dans notre cas, un Jeol JSM-IT800 SHL Field Emission SEM équipé d'un dispositif de cryopréparation Quorum PP3010T) est utilisé pour visualiser les transformations micro morphologiques se produisant sur les matériaux étudiés au cours du vieillissement accéléré en ce qui concerne le développement microbien. Pour tous les matériaux sauf la moelle de tournesol, des échantillons de quelques millimètres de long et de large sont prélevés sur le matériau en vrac à l'échéance désirée. Ils sont examinés sur leurs faces internes et externes, ainsi qu'en coupe transversale. Pour la moelle de tournesol, le cœur de la moelle a été échantillonné, ainsi que l'extérieur (transition moelle/cortex) qui sont naturellement détachés, et qui sont examinés sur ses faces internes et externes ; les deux sont également observés en coupe transversale.

Les échantillons sont d'abord "cryofixés" par congélation en plongée dans un bain d'azote à -210°C. Cette congélation ultra-rapide a pour but de transformer l'eau des échantillons en "eau vitreuse", c'est-à-dire sans formation de cristaux de glace qui perturberaient la morphologie des composants solides à l'échelle d'observation du microscope [199]. Ils sont ensuite transférés dans la chambre de cryopréparation Quorum, où des coupes transversales sont réalisées sur la moitié d'entre eux à l'aide d'une lame de rasoir. La partie superficielle (~100 nm d'épaisseur) de

cette eau solide est ensuite sublimée en augmentant la température jusqu'à -70°C pendant 20 à 30 min. La température des échantillons est ensuite ramenée à -140°C , permettant la stabilisation de l'ultrastructure de l'échantillon proche de son état naturel [200]. Après cette étape, les échantillons sont métallisés par pulvérisation cathodique de Pt, puis transférés sans contact avec l'air, dans la chambre du microscope, où les observations ont été effectuées à 1 kV. Cette faible tension préserve les composants qui peuvent être sensibles à l'irradiation par le faisceau d'électrons, comme les microorganismes, et, comme la profondeur de pénétration du faisceau est limitée, cela permet d'observer les parties les plus superficielles des échantillons [200]. Des microanalyses aux rayons X à dispersion d'énergie (EDX) sont réalisées à l'aide d'un EDS Oxford Ultim Max 100.

2.4. Modèles analytiques pour la prédiction analytique de la croissance microbienne

Deux modèles analytiques différents ont été utilisés pour prédire le développement de microorganismes à la surface des matériaux en fonction du temps. Ces deux modèles sont établis en utilisant deux logiciels appelés WUFI BIO et WUFI Mould Index VTT, développé par la société WUFI en 2017 et 2018 respectivement. WUFI BIO est basé sur le modèle biohygrothermique des isoplèthes, développé par (Ayerst, 1969) [201] pour prédire, en utilisant des systèmes d'isoplèthes, le développement de microorganismes sur un matériau. Ces isoplèthes sont créées pour décrire le développement d'une large gamme de microorganismes pour différentes conditions de température et d'humidité. WUFI Mould Index VTT est basé sur le modèle VTT développé par (Hukka et Viitanen, 1999) [179] pour prédire le développement de microorganismes sur les matériaux en bois. Ces deux logiciels, comme les autres modèles de prédiction, nécessitent certaines données d'entrée telles que le type de matériau, la température et l'humidité. Un avantage majeur, qui spécifie ces deux modèles, est leur capacité à calculer un « indice de microorganismes » qui peut décrire le développement de microorganismes. Cet indice est directement lié à un pourcentage de la surface contaminée du matériau.

2.4.1. Indices de microorganismes et pourcentage analytique de contamination

La « sortie » de ces deux logiciels est l'indice des microorganismes (I_{mana}). Cet indice témoigne de l'intensité de la croissance des microorganismes, avec des valeurs comprises entre 0 (absence de croissance) et 6 (presque 100% de la surface recouverte de microorganismes) (Tableau 2. 3)

Tableau 2. 3 : Description des niveaux des indices de microorganismes

| I_{mana} | Croissance |
|-------------------|---|
| 0 | Par de croissance |
| 1 | Petite quantité de microorganismes sur la surface |
| 2 | < 10% de la surface couverte par des microorganismes |
| 3 | 10%-30% de la surface couverte par des microorganismes |
| 4 | 30%-70% de la surface couverte par des microorganismes |
| 5 | > 70% de la surface couverte par des microorganismes |
| 6 | Presque 100% de la surface couverte par des microorganismes |

En se référant au Tableau 2. 3, les pourcentages analytiques (P_{ana}) de la surface contaminée sont déduit de l'indice analytique des microorganismes (I_{mana}). Ce tableau se limite à seulement 7 valeurs de I_{mana} avec leur P_{ana} correspondant. Un ajustement polynômial est appliqué aux sept paires de valeurs, afin d'attribuer à toute valeur d' I_{mana} une valeur correspondante de P_{ana} . Ces paires ont les coordonnées suivantes ($I_{mana}; P_{ana}$) = (0; 0), (1; 1), (2; 10), (3; 30), (4; 70), (5; 99) et (6; 100). L'ajustement polynômial est donné par les équations (2. 6).

$$I_{mana}^1 \text{ si } I_{mana} = [0;1]$$

$$-46 + 92.33 * I_{mana}^1 - 61.83 * I_{mana}^2 + 18.16 * I_{mana}^3 - 1.66 * I_{mana}^4 \text{ si } I_{mana} = [1;5] \quad (2. 6)$$

$$4+1 * I_{mana}^1 \text{ si } I_{mana} = [5;6]$$

L'ajustement et les sept points sont représentés dans la Figure 2. 14.

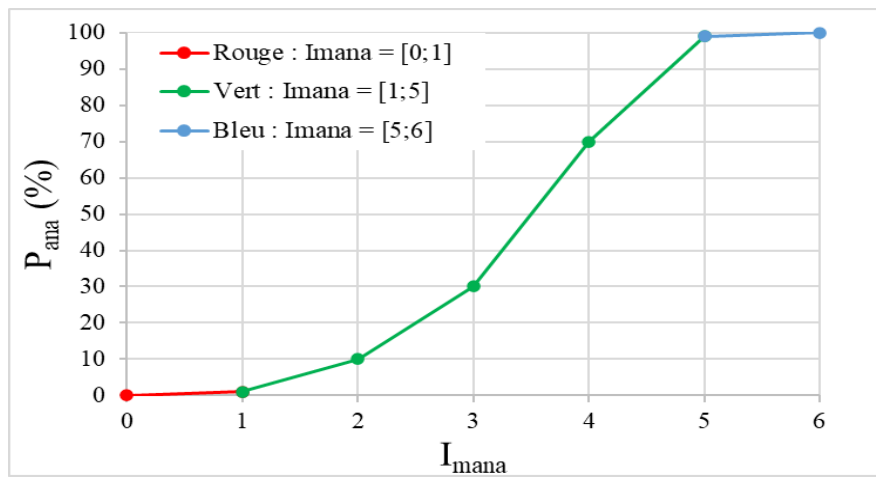


Figure 2. 14 : Ajustement du pourcentage analytique P_{ana} en fonction de l'indice des microorganismes I_{mana}

2.4.2. Traitement d'image

2.4.2.1. Analyse d'image par le logiciel Leica

Dans un premier temps, les photographies des matériaux ont été prises à l'aide d'un appareil photo numérique commercial (Nikon D3200, AF-S NIKKOR 18-55mm 1:3.5-5.6 GII). Pendant chaque session photographique, l'appareil photo est fixé sur un trépied qui est lui-même positionné sur trois points fixés sur une table à fond blanc, où se trouve le biocomposite ou la boîte contenant les granulats. Les paramètres de l'appareil photo tels que l'angle de positionnement, le zoom et le flash désactivé sont également réglés et fixés.

L'analyse des images d'un matériau, prises pendant la phase de développement des microorganismes, permet de calculer un pourcentage expérimental de surface contaminée pour les quatre biocomposites. Pour chaque matériau, des photos de 3 faces différentes ont été prises à chaque temps de suivi de l'étude à 0, 3, 6 et 12 mois. Il s'agit d'un échantillon rectangulaire de dimensions 10x10x20 cm, dont les trois faces prises sont parmi les quatre faces de dimensions 10x20 cm. Ensuite, chaque photo a été traitée par un logiciel d'analyse. Il s'agit d'un logiciel dérivé de "The LEICA Image Overlay Module Application Suite", utilisé pour

améliorer les images avec une large gamme de fonctions de traitement. Parmi ces fonctions, il y a le contraste et la luminosité, utilisés pour ajuster la photo afin d'optimiser la qualité de l'affichage. Cette analyse d'image permet une description quantitative de la croissance microbienne par un calcul du pourcentage de contamination de la surface du matériau.

2.4.2.2. Calcul du pourcentage expérimental de contamination

Le programme Leica peut permettre de calculer d'une part, la surface contaminée par les microorganismes, appelée S_c , et d'autre part, la surface totale de la face traitée, appelée S_t . La Figure 2. 15 montre un exemple de traitement d'image de WaL à 180 jours d'exposition aux conditions accélérées.

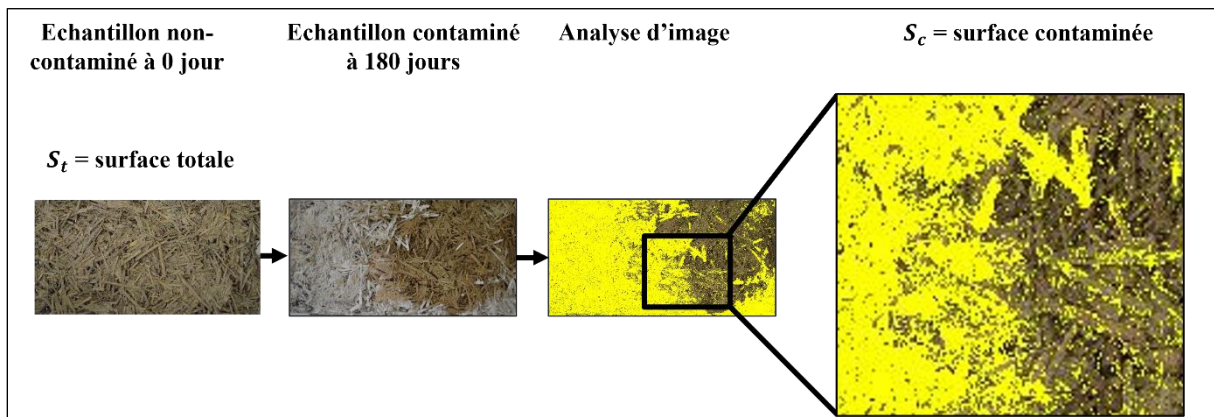


Figure 2. 15: Analyse d'image de WaL à 180 jours de vieillissement pour le développement microbien.

Le calcul du pourcentage expérimental de contamination du matériau est donné par l'équation (2. 7) :

$$P_{exp} = \frac{S_c}{S_t} * 100 \quad (2. 7)$$

Bilan

Ce chapitre a présenté les différents matériaux étudiés ainsi que les différentes méthodes expérimentales et protocoles de préparation des échantillons avant chaque test ainsi que la modélisation analytique mise en place dans le cadre de cette thèse. Le but de cette campagne expérimentale est d'étudier l'effet du développement microbien sur les matériaux biosourcés afin d'évaluer son impact sur leur comportement mécanique et thermique. Cette campagne comporte des études microbiologiques par des essais de dénombrement de microorganismes présents dans les matériaux, cultivables par l'utilisation de milieux de culture spécifiques pour les bactéries et les champignons. En parallèle, les observations par Cryo-HRSEM permettant de visualiser les microorganismes présents dans le matériau, à une échelle microscopique. Ces observations présentent un point avantageux par rapport aux essais de dénombrement. En effet, elles permettent de visualiser des microorganismes présents dans le matériau, mais qui sont possiblement non cultivables par les milieux de culture. Cette campagne a aussi pour but d'étudier d'une part la physico-chimie des matériaux par des mesures de pH et de la conductivité électrique et d'autre part la microstructure des matériaux vis-à-vis du

Chapitre 2 : Matériaux, méthodes expérimentales et analytiques

développement des microorganismes, par des analyses ioniques et par l'ATG. De plus, une prédiction analytique est détaillée, pour prédire la croissance microbienne sur les biocomposites exposés à des conditions contrôlées d'humidité et de température.

Les différents résultats associés à cette campagne expérimentale font l'objet des chapitres 3, 4 et 5 suivants.

Chapitre 3 : Comportement des matières premières vis-à-vis du développement microbien

3.1. Introduction

Ce chapitre décrit les études menées pour examiner l'impact de la prolifération des microorganismes sur le comportement et les propriétés des matières premières utilisées pour la fabrication des biocomposites. L'objectif est de mieux comprendre l'effet de chaque composant des matériaux biosourcés et leur durabilité vis-à-vis de la biodégradation. Les matières premières étudiées ici sont quatre granulats végétaux provenant de la région Centre Val de Loire et étudiés depuis quelques années au laboratoire pour développer des biocomposites pour le bâtiment [39] [27] [25], (paille de blé, paille de colza, écorce et moelle de tournesol) mélangés avec un liant à base de chaux aérienne le Tradical PF70.

Le chapitre est divisé en deux parties : une partie consacrée aux granulats végétaux et une autre à propos du liant à base de chaux. Dans la première partie, la caractérisation des granulats dès leur réception de de l'unité de transformation ISOCHAMP est réalisée, afin de comprendre leur comportement initial avant leur exposition à des conditions environnementales accélérées pour le développement microbien (90% d'humidité et 30°C). Ces caractérisations nous permettent d'établir la courbe de distribution de la taille des quatre granulats végétaux après le broyage par l'unité de transformation et de mesurer leur masse volumique et leur coefficient d'absorption.

Concernant le suivi du vieillissement accéléré, celui-ci a été accompagné d'une caractérisation à des échéances différentes sur la période d'une année complète d'exposition. En effet, la caractérisation microbiologique des granulats végétaux a été effectuée par un test de dénombrement des microorganismes cultivés en milieu solide, incluant les bactéries et les champignons. Un suivi visuel par photographie, de masse, de mesure géométrique, de pH et de conductivité électrique est réalisé tout au long du vieillissement accéléré également afin d'évaluer l'impact de développement microbien sur les propriétés des granulats. Des observations par Cryo-HRSEM des granulats ont été réalisées en plus pour analyser à l'échelle microscopique le développement des microorganismes après six mois de vieillissement microbien. Enfin, une caractérisation physique est réalisée pour évaluer l'effet du développement microbien sur la densité et la conductivité thermique des quatre granulats étudiés.

La deuxième partie du chapitre concerne le liant à base de chaux Tradical PF70. En effet, comme on a des biocomposites avec un pourcentage important de granulats, et un liant avec des additifs, l'objectif est d'examiner le développement microbien sur le liant seul pour comprendre les mécanismes à l'origine de la dégradation du biocomposite et déterminer quel est le composant prépondérant dans ce processus. Dans le cadre de cette étude, quatre mélanges des liants ont été étudiés. Parmi eux, deux mélanges sont inspirés des biocomposites formés exclusivement à partir de la chaux seule (LE) ou mélangée avec deux additifs d'origine animale, à savoir l'hémoglobine et la caséine (LEHC). Les deux autres mélanges (LEC et LEH), comportant chacun de la chaux en plus d'un de deux additifs animaux, sont étudiés pour évaluer

l'effet distinct de chaque additif. Des essais de dénombrement de bactéries et de champignons sont effectués sur les mélanges de liants exposés à des conditions accélérées propices au développement des microorganismes. Des mesures de la masse volumique, du pH et de la conductivité électrique sont réalisées à différentes échéances (0, 3 et 6 mois) afin de comprendre le comportement des liants vis-à-vis du vieillissement microbien accéléré.

La comparaison des résultats obtenus et l'évolution des différentes propriétés des composants (granulats et liants) sont présentées dans les sections suivantes.

3.2. Granulats végétaux

3.2.1. Caractérisation des granulats à l'état initial (avant le vieillissement accéléré)

3.2.1.1. Granulométrie

La distribution granulométrique des quatre granulats végétaux étudiés (la paille de blé (WS), la paille de colza (RS), l'écorce de tournesol (SB) et la moelle de tournesol (SP)) est présentée dans la Figure 3. 1. Ces courbes sont établies à l'aide de la méthode d'analyse d'image, décrite dans la section 2.3.5.1, conformément à la recommandation de RILEM TC 236-BBM [194].

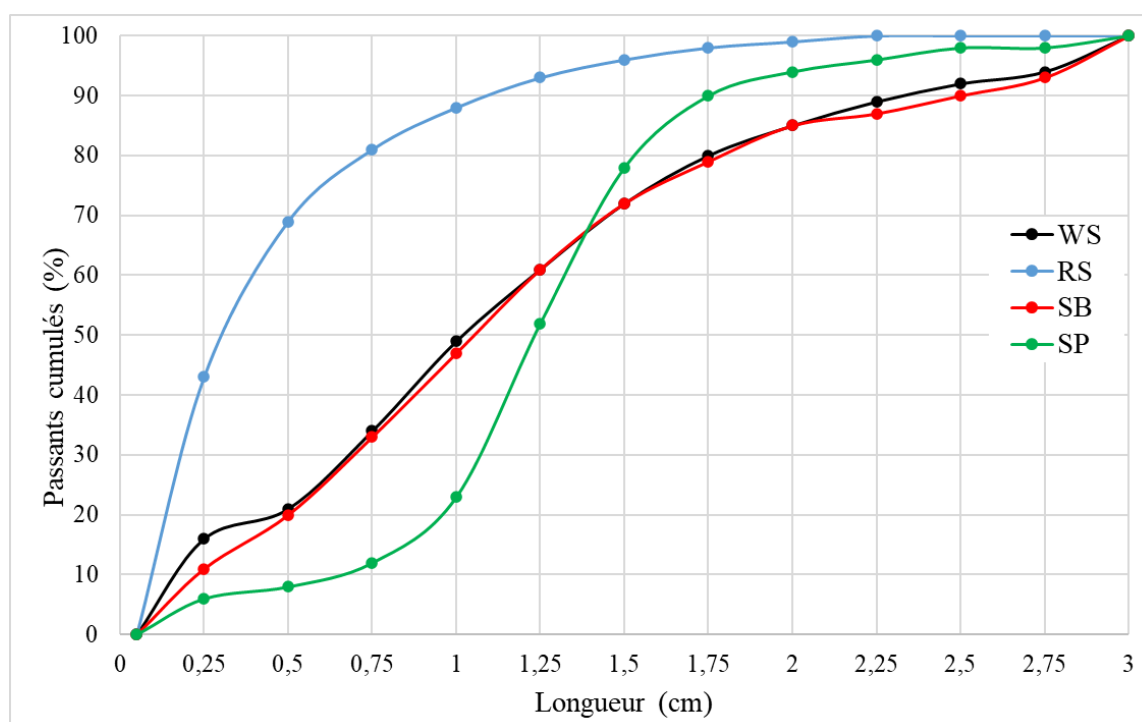


Figure 3. 1 : Courbes granulométriques des quatre granulats végétaux étudiés : paille de blé (WS), paille de colza (RS), écorce de tournesol (SB) et moelle de tournesol (SP)

La paille de blé (WS) et l'écorce de tournesol (SB) ont démontré une granulométrie approximativement similaire. Environ 20% des particules se trouvent dans l'intervalle [0 ; 0,5 cm], 65% dans celui [0,5 ; 2 cm], et 15% dépassent 2 cm. La granulométrie de ces deux granulats est répartie de manière équilibrée sur l'ensemble de la plage de dimensions allant de 0 à 3 cm. Une étude précédente réalisée par (Ismail et al., 2020) [27] a montré que 85% des

particules de paille de blé sont situés entre 2 et 3,4 cm. La différence entre leurs résultats et les résultats de ce travail sont attribuables à la méthode de broyage de la paille utilisée. Pour la moelle de tournesol (SP), la majorité des particules, soit environ 80%, a une taille comprise entre 0,75 et 1,75 cm, ce qui est similaires aux dimensions de la moelle de tournesol, mesurées précédemment par (Magniont et al., 2012) [202], qui étaient situées entre 0,5 et 1,5 cm. (Brouard, 2018) [25] a mesuré les dimensions d'un mélange d'écorce et de moelle de tournesol et a constaté que 55% ($\pm 2,5\%$) des particules sont entre 0,5 et 2,5 cm, tandis que 35% ($\pm 2,5\%$) se situent entre 2,5 et 5 cm. La différence entre ses résultats et les nôtres est due à l'« état » dans lequel la moelle a été caractérisée. (Brouard, 2018) [25] a utilisé les particules de moelle comme granulats pour fabriquer des blocs de biocomposites, après broyage et passage au travers d'une grille de 1 cm, tandis que notre étude a été menée sur la moelle, extraite de la tige de tournesol et broyée à l'unité de transformation en sud Touraine, sans broyage ni tamisage au laboratoire. En ce qui concerne la paille de colza (RS), elle présente la plus petite taille de particules par rapport aux trois autres granulats WS, SB et SP. Environ 45% des particules de RS se situent entre 0 et 0,25 cm, et 50% entre 0,25 et 1,5 cm. Ces résultats de l'analyse de la distribution de la taille des granulats nous a permis de vérifier que le broyage de l'unité de transformation respecte bien le cahier de charges avec des tailles qui ne dépassent pas 2,5 cm.

3.2.1.2. Absorption d'eau et masse volumique

La Figure 3. 2 illustre les courbes de taux d'absorption (Abs en%) des quatre granulats étudiés, mesurés à température ambiante ($20^{\circ}\text{C} \pm 3$), avant leur exposition au vieillissement accéléré favorisant le développement microbien. Le but de cette mesure permet de connaître le comportement de ces granulats vis-à-vis d'eau pour ajuster la formulation des biocomposites. Elle permet également de connaître la quantité d'eau à utiliser pour les mesures en milieu dilué comme dans le cas des infusions des matériaux lors des études microbiologiques (dénombrement des microorganismes) et physico-chimiques (mesures de pH, de la conductivité électrique et des concentrations ioniques par chromatographie ionique).

Les quatre courbes présentent des allures similaires commençant par une phase linéaire correspondant à une absorption rapide (conformément à la loi de diffusion de Fick) grâce à l'action capillaire des structures poreuses. Ensuite, une deuxième phase est observée où les taux se stabilisent, indiquant l'absorption complète de l'eau par le matériau.

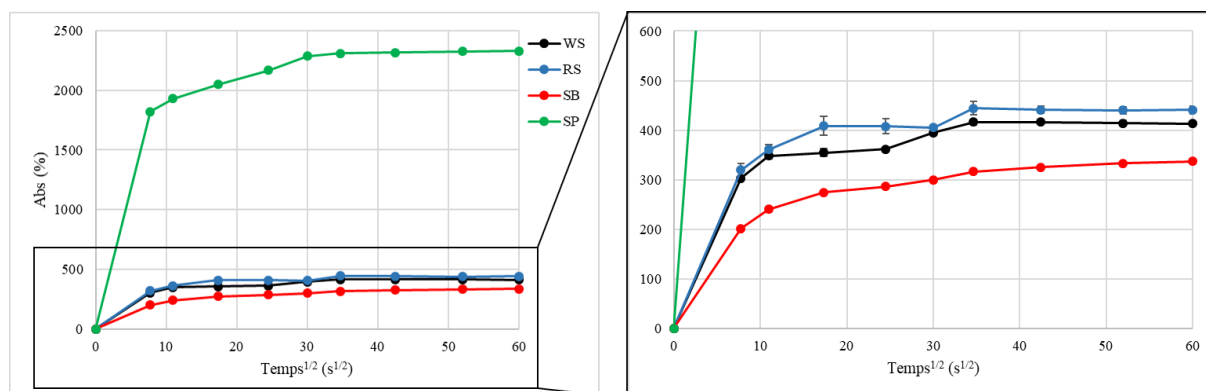


Figure 3. 2 : Taux d'absorption des granulats végétaux (paille de blé (WS), paille de colza (RS), écorce de tournesol (SB) et moelle de tournesol (SP)), avant le vieillissement accéléré

Le Tableau 3. 1 présente une comparaison des résultats des densités et des taux d'absorption pour les différents granulats avec des valeurs issues de la littérature. Les résultats mettent en évidence un comportement similaire entre les deux types de pailles, paille de blé (WS) et paille de colza (RS), avec des taux d'absorption de 415% et 441% respectivement. Pour la paille de blé, les valeurs de taux d'absorption mesurées sont supérieures à celles trouvées dans des anciens travaux et cela peut être due à des erreurs de la méthode de mesure utilisée [202]. En ce qui concerne la paille de colza, la valeur mesurée est dans la gamme des valeurs trouvées d'après la littérature, à savoir [400 ;500]. Bien que le taux d'absorption soit fortement lié à la porosité, une faible porosité contribue à une faible densité. La paille de blé (WS), qui a une densité de 53 kg/m³, présente un taux d'absorption plus faible par rapport à la paille de colza (RS) qui a une densité de 82,5 kg/m³. L'écorce de tournesol (SB) présente le taux d'absorption le plus faible, à 328%, avec la plus grande valeur de densité de 105 kg/m³. En revanche, la moelle de tournesol (SP), caractérisée par une forte porosité et une faible densité de 28,5 kg/m³, présente un taux d'absorption élevée, d'environ 2328%. Les valeurs des taux d'absorption et des densités mesurés pour les granulats étudiés restent dans la gamme des valeurs relevées dans la littérature et les mesures antérieurs malgré le temps de stockage depuis 2018.

Tableau 3. 1 : Caractéristiques de granulats étudiés à leur état initial avant le vieillissement accéléré

| Granulats végétaux | Densité (ρ) (kg/m³) | Densité de la littérature (ρ) (kg/m³) | Taux d'absorption (Abs) (%) | Taux d'absorption de la littérature (Abs) (%) |
|---------------------------|---|---|------------------------------------|--|
| Paille de blé (WS) | 53(±2) | 53,89 [92] | 415 (±1,2) | 319 [203] 320 [92] 325 [204] 330 [29] 372 [46] |
| Paille de colza (RS) | 82,5 (±1) | 64,9 [25] 78 (±1) [205] | 441 (±1,4) | 400 [92] 500 [25] |
| Ecorce de tournesol (SB) | 105 (± 3) | 129,3 [25] 135 (±3) | 328 (±6,95) | 280 [203] 295 [206] 300 [25] 330 [61] |
| Moelle de tournesol (SP) | 28,5 (±0,3) | 15,9 [25] 35 [202] | 2328 (±10.4) | 2093 [203] 2250 [25] |

La mesure de la densité et de l'absorption d'eau à l'état initial avant le vieillissement accéléré, revêt un intérêt majeur pour comprendre le comportement de ces matériaux vis-à-vis de l'eau. En effet, ces granulats seront exposés à une humidité élevée pendant une période prolongée (un an), dans le but de favoriser le développement des microorganismes. Les microorganismes ont besoin d'eau, qui est absorbée par le matériau lui-même, pour leur croissance. Par conséquent, en mesurant la densité et l'absorption d'eau initiales, nous pouvons mieux appréhender la réaction de ces matériaux face à l'eau et leur potentiel d'interaction avec les microorganismes au cours du vieillissement accéléré.

3.2.2. Culture des microorganismes sur les granulats

3.2.2.1. Dénombrement des bactéries

La Figure 3. 3 présente l'évolution du nombre de bactéries cultivées sur les quatre granulats, en fonction du temps de conservation lors du vieillissement accéléré.

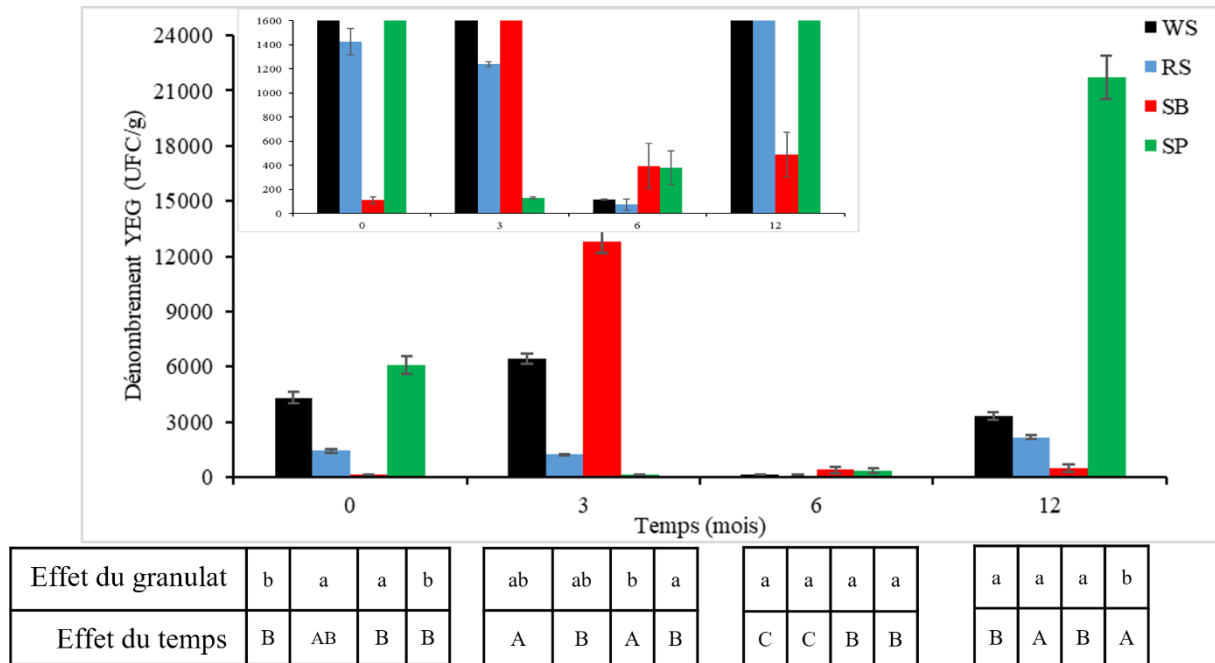


Figure 3. 3 : Évolution du nombre de bactéries (moyenne \pm écart-type ; $n=3$), cultivées sur les granulats étudiés, à 0, 3, 6 et 12 mois. Les études statistiques (in english statistical study (SS)) sont reportées dans les tableaux au-dessous de la figure : les lettres minuscules indiquent la différence entre les granulats à un même temps et les lettres majuscules indiquent l'effet du temps sur chaque granulat.

Dans la Figure 3. 3, on peut constater des évolutions différentes du nombre de bactéries cultivées sur les quatre granulats en fonction du temps de conservation lors du vieillissement accéléré.

Au départ, à 0 mois, on remarque qu'un grand nombre de bactéries s'est déjà développé, sur les granulats WS (4315 UFC/g), RS (1425 UFC/g) et SP (6120 UFC/g), avant même le début du vieillissement microbien, tandis que SB présente une contamination microbienne plus faible (110 UFC/g). Cela s'explique par le fait que ces matériaux ont été déjà contaminés par des bactéries qui ont pu se développer dans les conditions de stockage des granulats, surtout dans une forte humidité. En effectuant une étude statistique (SS), on peut constater que WS et SP ont un comportement similaire (b-b), tout comme RS et SB (a-a). Cela indique donc que WS et SP sont fortement contaminés par des bactéries tandis que RS et SB sont faiblement contaminés.

Au bout de 3 mois, WS présente un développement bactérien moyen, passant de 4315 à 6425 UFC/g (+49%), et SB montre un développement notable, passant de 110 à 12820 UFC/g. RS ne montre pas un développement significatif avec 1240 UFC/g, tandis que SP connaît une diminution très marquée du nombre de bactéries, de 6120 à 130 UFC/g. Selon l'étude statistique (SS), on peut distinguer trois niveaux de développement : faible développement (a), développement moyen (ab) et fort développement (b). Ces résultats indiquent que WS, RS et

SB sont contaminés par des bactéries tandis que SP présente une contamination bactérienne plus faible malgré son absorption importante d'eau.

Après 6 mois, le nombre de bactéries cultivées est presque nul par rapport aux valeurs observées à 3 mois. Selon l'étude statistique (SS), le comportement des quatre granulats est le même (a-a-a), avec une quantité négligeable de bactéries cultivées.

À 12 mois, une deuxième phase de développement de bactéries est observée. Le nombre de bactéries cultivées sur WS, RS et SP a augmenté entre 6 et 12 mois. Pour WS, le nombre de bactéries passe de 115 à 3300 UFC/g et pour RS de 75 à 2176 UFC/g. SP présente une augmentation encore plus importante du nombre de bactéries, passant de 38 à 21733 UFC/g, tandis que SB ne présente pas de bactéries cultivées après un an de vieillissement accéléré. Selon l'étude statistique (SS), on peut distinguer deux gammes de résultats. Dans la première gamme, avec WS, RS et SB, on observe une quantité moyenne de bactéries cultivées (entre 0 et 4000 UFC/g). Dans la seconde gamme, avec SP, on observe une quantité élevée de bactéries cultivées (plus de 20000 UFC/g), par rapport aux trois autres matériaux.

L'étude statistique (SS) a également pris en compte l'effet du temps d'exposition au vieillissement microbien pour chaque granulat. On peut observer les variations du développement microbien pour chaque granulat au cours du vieillissement.

Pour WS, on remarque que le développement microbien a varié pendant le vieillissement, avec le comportement suivant (B A C B). Cependant après un an, le nombre de bactéries est retourné à son état initial observé à 0 mois.

Pour RS, le comportement est presque similaire à 0, 3 et 12 mois, avec la séquence suivante (AB B C A). Cependant, à 6 mois, une variation notable a été observée, avec une diminution du nombre de bactéries cultivées à environ 0 UFC/g.

Pour SB, la variation a été détectée à 3 mois, où le nombre de bactéries cultivées a atteint une valeur maximale de 12820 UFC/g. Le comportement du développement microbien pour SB peut être décrit par la séquence suivante (B A B B).

Pour SP, l'augmentation significative a été observée à 12 mois, avec une valeur maximale de bactéries de 21733 UFC/g. Cette forte valeur par rapport aux autres temps (0, 3 et 6 mois) a été traduite par la distinction du temps 12 mois dans le comportement suivant (B B B A).

Ces résultats montrent que l'effet du temps d'exposition au vieillissement a une influence sur le développement des bactéries pour chaque granulat étudié. Certaines variations sont observées à différents moments du vieillissement, et pour certains granulats, le développement bactérien peut revenir à des niveaux similaires à ceux observés à l'état initial après un an.

3.2.2.2. Dénombrement des champignons

Les résultats du dénombrement des champignons qui se sont développés sur les quatre granulats, en fonction du temps de conservation en vieillissement accéléré, sont présentés dans la Figure 3. 4.

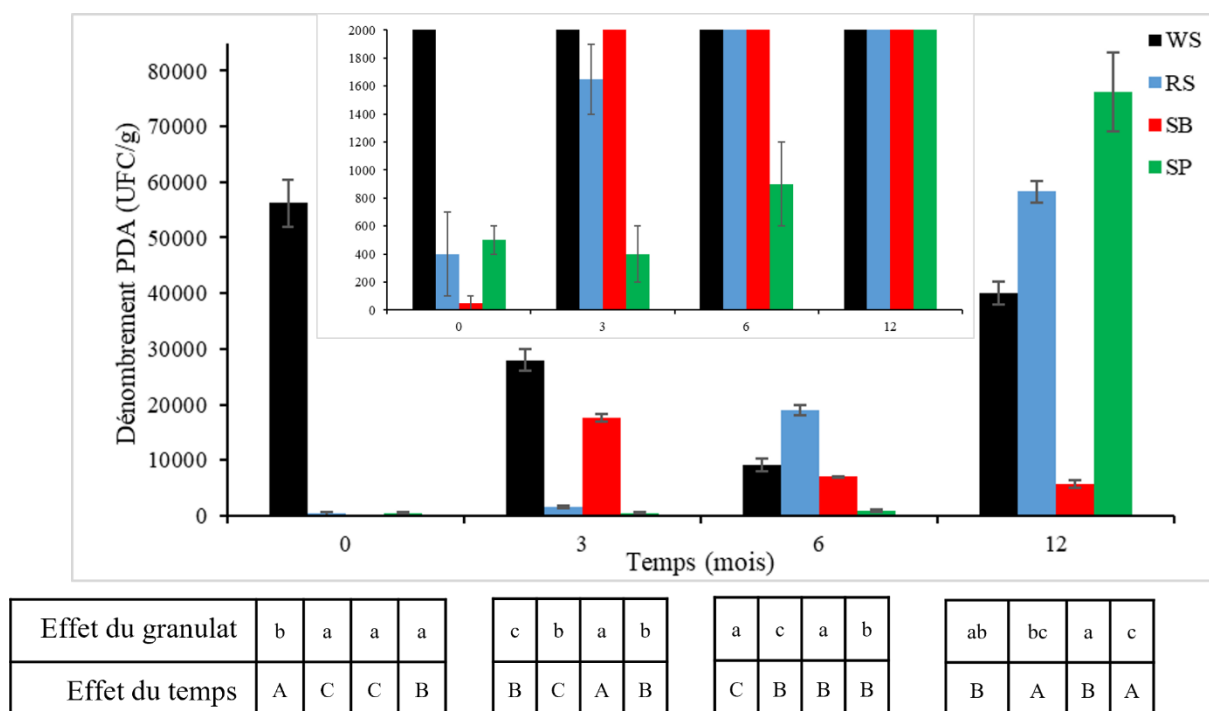


Figure 3. 4 : Évolution du nombre de champignons (moyenne \pm écart-type ; $n=3$), cultivées sur les granulats étudiés, à 0, 3, 6 et 12 mois. Les études statistiques (SS) sont reportées dans les tableaux au-dessous de la figure : les lettres minuscules indiquent la différence entre les granulats à un même temps et les lettres majuscules indiquent l'effet du temps sur chaque granulat.

Au départ, à 0 mois, le nombre de champignons cultivables retrouvés sur WS est de 56200 CFU/g, ce qui indique une contamination préexistante. Aucun développement significatif n'a été observé sur les trois autres matériaux à ce stade. L'étude statistique (SS) confirme cette différence de comportement avec WS se distinguant des trois autres matériaux (b a a a). On peut en conclure que WS est déjà contaminé par des champignons avant son exposition au vieillissement microbien accéléré.

À 3 mois, les granulats RS et SP ne présentent pas de développement notable de champignons, tandis que WS montre une diminution de près de la moitié, passant de 56200 à 28000 CFU/g. SB montre une augmentation de 50 à 17650 CFU/g. Les résultats de l'étude statistique (SS) confirment cette tendance, avec des variations similaires à celles observées (c b a b) où a correspond à une augmentation, b à aucune variation et c à une diminution.

À 6 mois, WS continue à diminuer à 9200 CFU/g, SB diminue de 17650 à 7100 CFU/g tandis que RS montre une forte augmentation, passant de 1650 à 19000 CFU/g. Aucun développement significatif n'a été observé sur SP.

À 12 mois, trois des quatre granulats présentent une augmentation significative : WS est passé de 9200 à 40133 CFU/g, RS de 19000 à 58266 CFU/g et SP de 900 à 76200 CFU/g. SB montre une légère diminution par rapport aux autres granulats, passant de 7100 à 5633 CFU/g.

En termes de comportement au cours du temps, on observe des variations distinctes du nombre de champignons en fonction des matériaux. WS montre une diminution progressive et significative entre 0 et 6 mois, suivie d'une augmentation marquée à 12 mois. RS présente une augmentation progressive tout au long de la période de 0 à 12 mois. SB montre une

augmentation entre 0 et 3 mois, suivie d'une diminution progressive jusqu'à 12 mois. Enfin, SP présente une augmentation très notable à 12 mois.

3.2.2.3. Comparaison des deux types de dénombrement

Lors de la culture de bactéries sur le milieu à base d'extraits de levure (YEG) et pour celle de champignons sur l'extraits de pomme de terre (PDA), pour les différents substrats végétaux, il peut être noté que la proportion (nombre d'UFC/g) de flore fongique est supérieure à celle de la flore bactérienne pour tous les temps de suivi de l'expérience. Par exemple, pour la paille de blé, la proportion de flore fongique est en moyenne 27 fois plus élevée que celle de la flore bactérienne, tandis que pour la paille de colza, elle est 70 fois plus élevée. De même pour l'écorce, la proportion de flore fongique est 8 fois plus élevée, et pour la moelle, elle est deux fois plus élevée, comparativement à celle de la flore bactérienne.

La variation dynamique du nombre de microorganismes en fonction du temps, caractérisée par des augmentations ou des diminutions ou les deux ensembles, pourrait être liée à la capacité de charge maximale des microorganismes dans ces matériaux. La capacité de charge maximale fait référence au nombre maximal de microorganismes qu'un environnement donné peut soutenir [101]. Des études menées par (Rabii, 2016) [35] ont porté sur le développement de champignons sur des biocomposites à base d'une matrice polyéthylène renforcée par plusieurs pourcentages en masse de fibres courtes de lin, vieilliss pendant 3 mois à 96% d'humidité relative et à 30°C de température. Après un mois d'incubations, le nombre de champignons cultivés sur les biocomposites a augmenté avec l'augmentation du pourcentage de fibres de lin incorporées. Après trois mois d'incubation, les concentrations en champignons ont légèrement augmenté. Ces deux mois d'incubation n'ont pas engendré d'évolution dans la concentration en champignons, ce qui pourrait être attribué à la capacité maximale de charge en microorganismes possible sur ces matériaux. Cette capacité de charge détermine l'équilibre dynamique entre la croissance et la diminution des populations microbiennes, ce qui explique les fluctuations observées dans les résultats du dénombrement des microorganismes cultivés sur les granulats examinés dans cette étude.

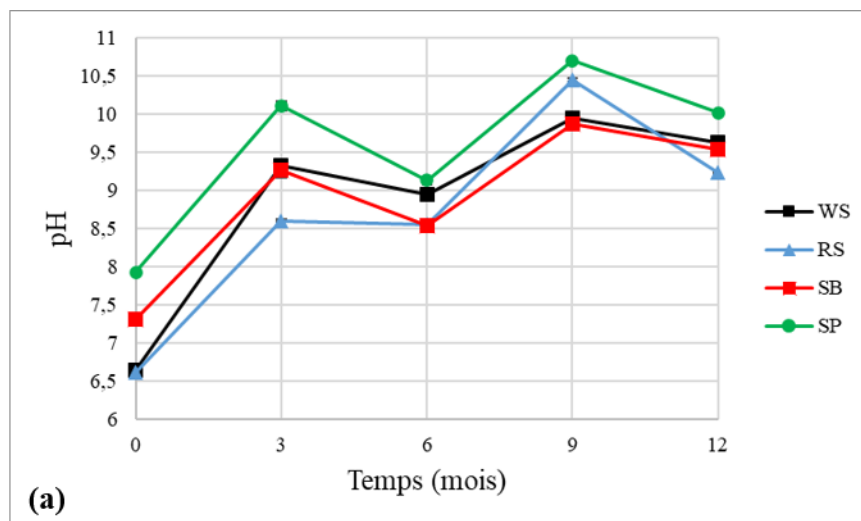
D'autres études menées par (Haroun, 2021) [207] ont été consacrées sur le processus de vieillissement de formulations de polypropylène biodégradable dans un sol. Les échantillons de polypropylène ont été enfouis dans un sol pendant une période de deux mois. Pendant les 20 premiers jours, il n'y pas eu un développement significatif des bactéries car cette phase correspondait à l'adaptation initiale des bactéries au nouveau substrat. Par la suite, la concentration en bactérie a augmenté pour atteindre un maximum après 30 jours. Cependant, cette concentration a ensuite diminué après 40 et 50 jours d'enfouissement. Cette diminution peut être attribué à l'épuisement de la quantité de nutriments présente dans le sol et nécessaire à la croissance de microorganismes.

3.2.2.4. Evolution du pH et de la conductivité électrique pendant le développement microbien

Les variations de densité microbienne peuvent être expliquées par l'influence de divers facteurs, tels que les conditions physico-chimiques des substrats (niveau d'humidité, pH, conductivité

électrique, etc.) ainsi qu'à des fluctuations importantes des facteurs biochimiques (nutritionnels et énergétiques) [208]. Il est important de noter que les granulats ont été soumis à une humidité et une température, constantes tout au long de la période de surveillance. Toutefois, dans les travaux menés par (Delannoy, 2018) [17], les biocomposites à base de chanvre et du ciment ont été soumis à trois types de vieillissement microbien pour un suivi de deux ans. Les résultats de dénombrement des champignons, issus des travaux de (Delannoy, 2018) [17], présentent des variations dues probablement aux variations des conditions d'humidité et de température dans les trois types de vieillissement. Cependant, dans le présent travail, il s'agit d'un vieillissement avec des conditions accélérées stables d'humidité et de température. Par conséquent, les variations observées dans le nombre de microorganismes cultivés sur les granulats étudiés ne peuvent donc pas être associées à l'humidité et à la température du processus de vieillissement.

Les Figure 3. 5a et b présentent l'évolution du pH et de la conductivité électrique (EC) respectivement, des quatre granulats WS, RS, SB et SP, au cours du temps. On observe une variation similaire de pH pour les quatre granulats, tandis que la conductivité électrique présente une tendance différente, qui se manifeste par des variations dynamiques au cours de l'année de surveillance et en fonction du type du granulat. Certains microorganismes sont connus pour être mieux adaptés à un pH neutre (autour de 7), tandis que d'autres préfèrent des environnements plus acides ou alcalins [209]. Les microorganismes ont des tolérances différentes à la salinité, et des niveaux élevés de conductivité électrique peuvent inhiber leur croissance en affectant leur capacité à maintenir un équilibre ionique optimal entre leur environnement interne et externe [210]. (Dellal et al., 1992) [211] ont étudié les activités microbiologiques en conditions salines sur quelques sols salés de la région de Relizane. Ils ont montré qu'une augmentation de la salinité en passant de 6,4 mS/cm à 15,7 mS/cm et ensuite à 22.3 mS/cm a inhibé la croissance des germes nitreux et nitriques après 40 jours d'incubation. Les variations dynamiques de la conductivité électrique des granulats étudiés peuvent avoir un impact significatif sur la prolifération microbienne en altérant leur environnement et leur capacité à se développer et à survivre.



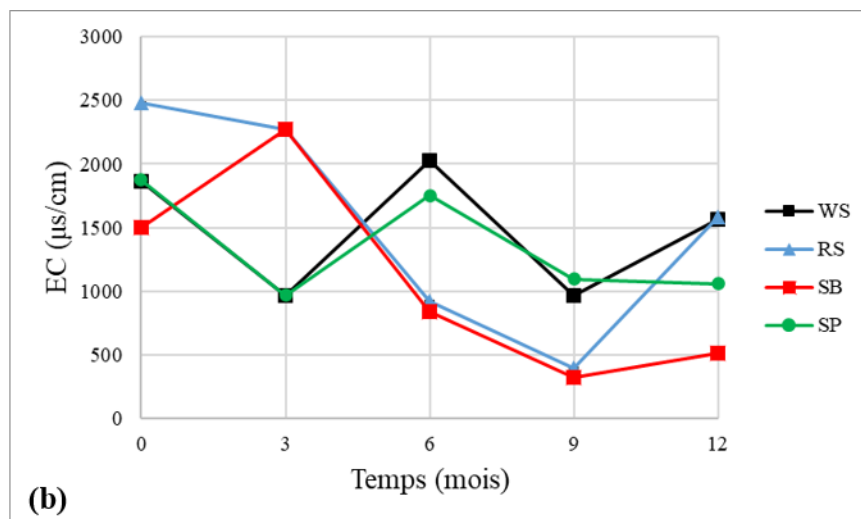


Figure 3. 5 : Evolution (a) du pH (moyenne \pm écart-type ; n=3) et (b) de la conductivité électrique EC (moyenne \pm écart-type ; n=3) de l'eau d'infusion des quatre granulats WS, RS, SB, and SP à 0, 3, 6 et 12 mois de vieillissement accéléré

3.2.3. Observations des microorganismes : visuelle et microscopique par Cryo-HRSEM

La Figure 3. 6 montre l'évolution visuelle du développement des microorganismes sur les quatre granulats étudiés, pendant leur exposition à des conditions accélérées de croissance microbienne, en fonction des différents intervalles de temps (0, 3, 6 et 12 mois).

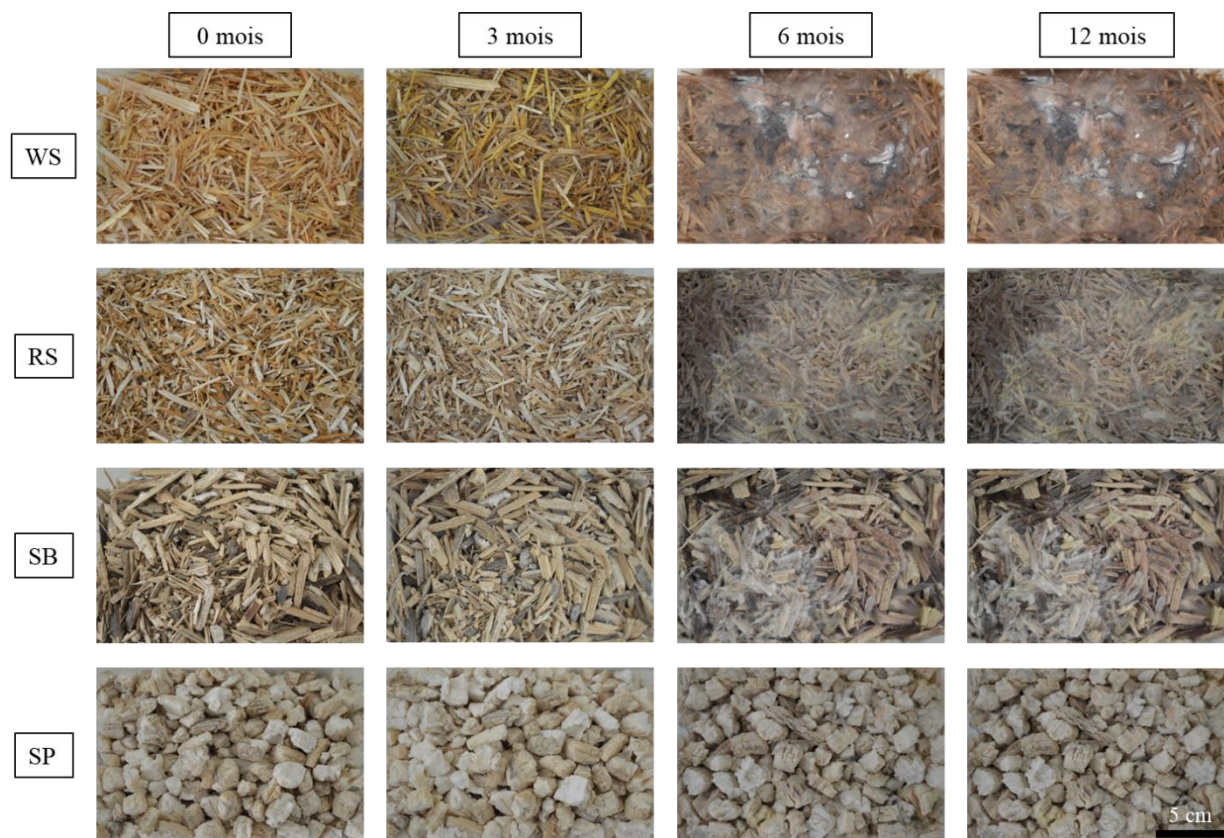


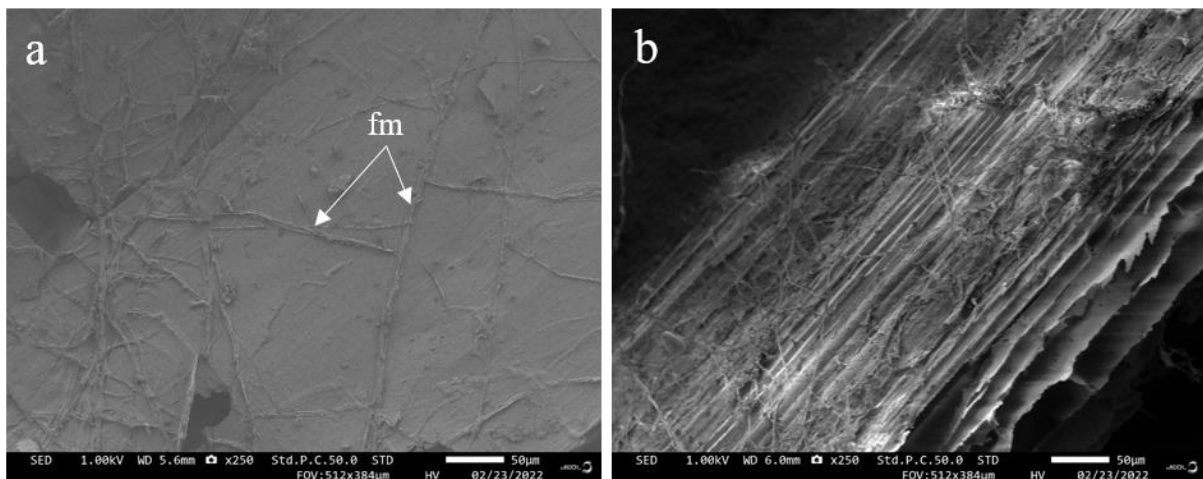
Figure 3. 6 : Suivi du développement des microorganismes sur WS, RS, SB et SP à 0, 3, 6 et 12 mois de vieillissement accéléré

Après 3 mois de vieillissement microbien accéléré, on observe un changement de couleur significatif sur les granulats WS et RS, témoignant très probablement d'un développement des microorganismes. Après 6 mois, une couche de microorganismes recouvre l'ensemble des granulats. Pour le granulat SB, le changement de couleur est moins prononcé par rapport à WS et RS, indiquant probablement un développement plus faible des microorganismes au cours des trois premiers mois. À 6 mois, une fine couche de microorganismes est visible sur les granulats SB. En ce qui concerne la moelle de tournesol, aucun changement notable n'est observé dans l'apparence des granulats entre 0 et 3 mois. Cependant, à partir de 6 mois et jusqu'à 12 mois, les granulats présentent un aspect fané et leur couleur évolue progressivement du beige blanc au beige gris.

Les Figure 3. 7, Figure 3. 8, Figure 3. 9 et Figure 3. 10 présentent les images obtenues par Cryo-HRSEM de la paille de blé (WS), de la paille de colza (RS), de l'écorce de tournesol (SB) et de la moelle de tournesol (SP), respectivement, à 0 et 6 mois de vieillissement microbien accéléré. L'objectif de ces observations est de visualiser le développement des microorganismes et leur influence sur les matériaux à une échelle microscopique afin d'appréhender les mécanismes sous-jacents.

3.2.3.1. Sur la paille de blé (WS)

Avant l'exposition au processus de vieillissement accéléré, des filaments évocateurs d'hyphes fongiques portant des spores sont présents sur les granulats de paille de blé à 0 mois, comme les montrent la Figure 3. 7a, b, c et d. Après 6 mois, une prolifération de microorganismes est observée, en particulier des spores (Figure 3. 7, e et f). Il est intéressant de noter que les proliférations des microorganismes sont plus prononcées sur les faces interne et externe de la paille, tandis que les coupes transversales sont faiblement envahies par les microorganismes.



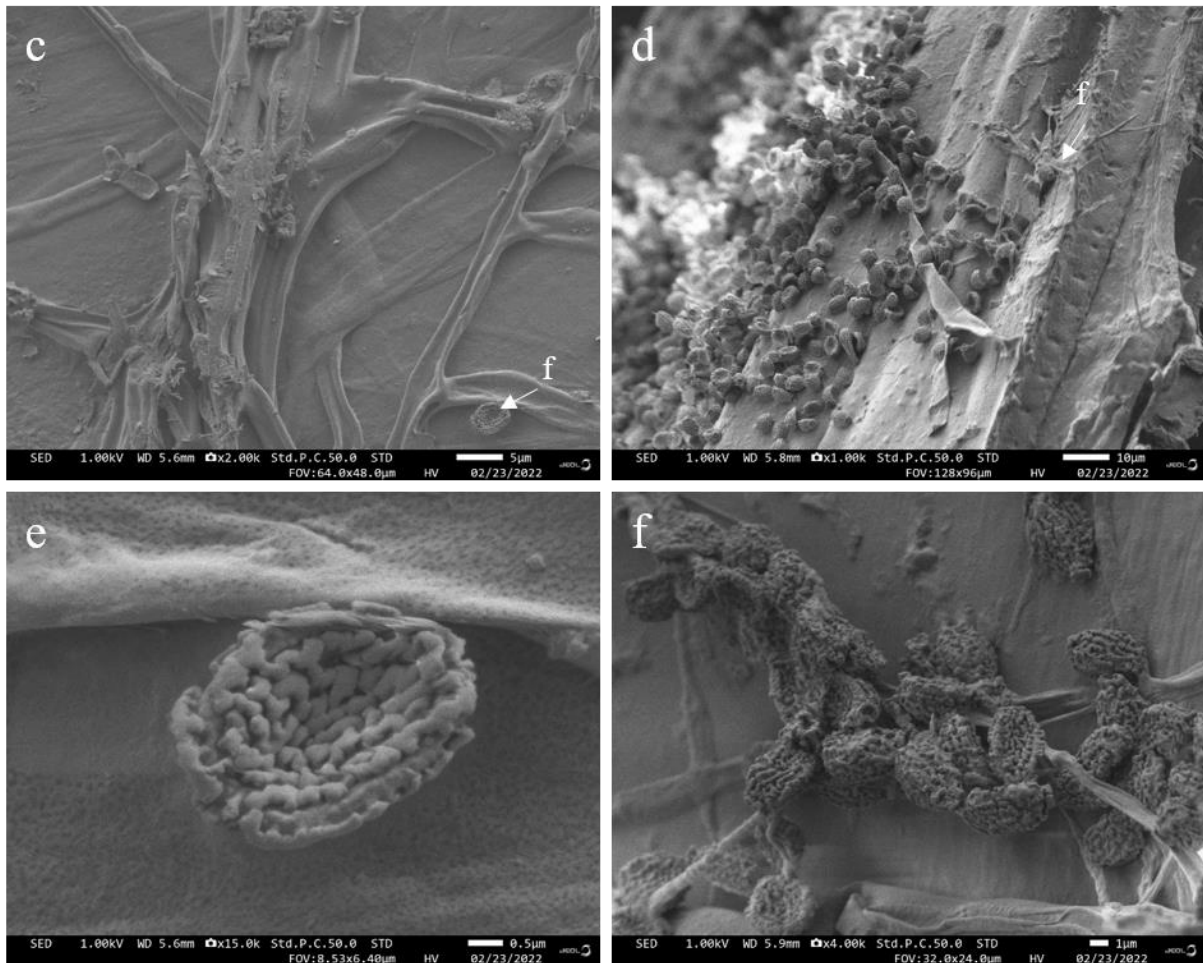


Figure 3. 7 : Images par Cryo-HRSEM de la paille de blé (WS): (a) vue de surface montrant des filaments microbiens (fm) à 0 mois, (b) vue de surface montrant la prolifération de filaments microbiens à 6 mois, (c) agrandissement de la surface à 0 mois, montrant des hyphes fongiques filamenteux et des spores (f), (d) agrandissement de la spore fongique fléchée dans (c), (e) agrandissement de la surface à 6 mois, montrant la prolifération de spores fongiques, (f) agrandissement de hyphes fongiques portant des spores à 6 mois

3.2.3.2. Sur la paille de colza (RS)

Les microorganismes sont présents également sur la paille de colza (RS) avant son exposition au vieillissement microbien, bien que moins abondants que sur la paille de blé WS, comme illustré sur la Figure 3. 8a. Comme dans le cas de WS, les 6 mois d'exposition ont également entraîné une prolifération de microorganismes sur RS (Figure 3. 8b, c et d). Principalement, trois types de microorganismes se sont développés :

(i) Le premier type présente une forme ellipsoïdale, une taille moyenne de 5 µm et une surface lisse, évoquant des colonies de bactéries se développant autour des hyphes fongiques (Figure 3. 8c).

(ii) Le deuxième type présente une forme sphérique, une taille moyenne de 1 µm ou moins, et est fréquemment organisé en colonies reliées par des filaments, qui sont plutôt évocatrices de champignons (Figure 3. 8b, c, d et f).

(iii) Le troisième type apparaît sous la forme de sphères uniques, de 2,5 µm de diamètre moyen, également évocatrices de bactéries (Figure 3. 8c) ;

Les coupes transversales révèlent un plus grand développement de microorganismes à 6 mois par rapport à WS, et certains filaments semblent percer les parois du matériau (Figure 3. 8f), en comparaison avec la coupe transversale à 0 mois présentée dans la Figure 3. 8e.

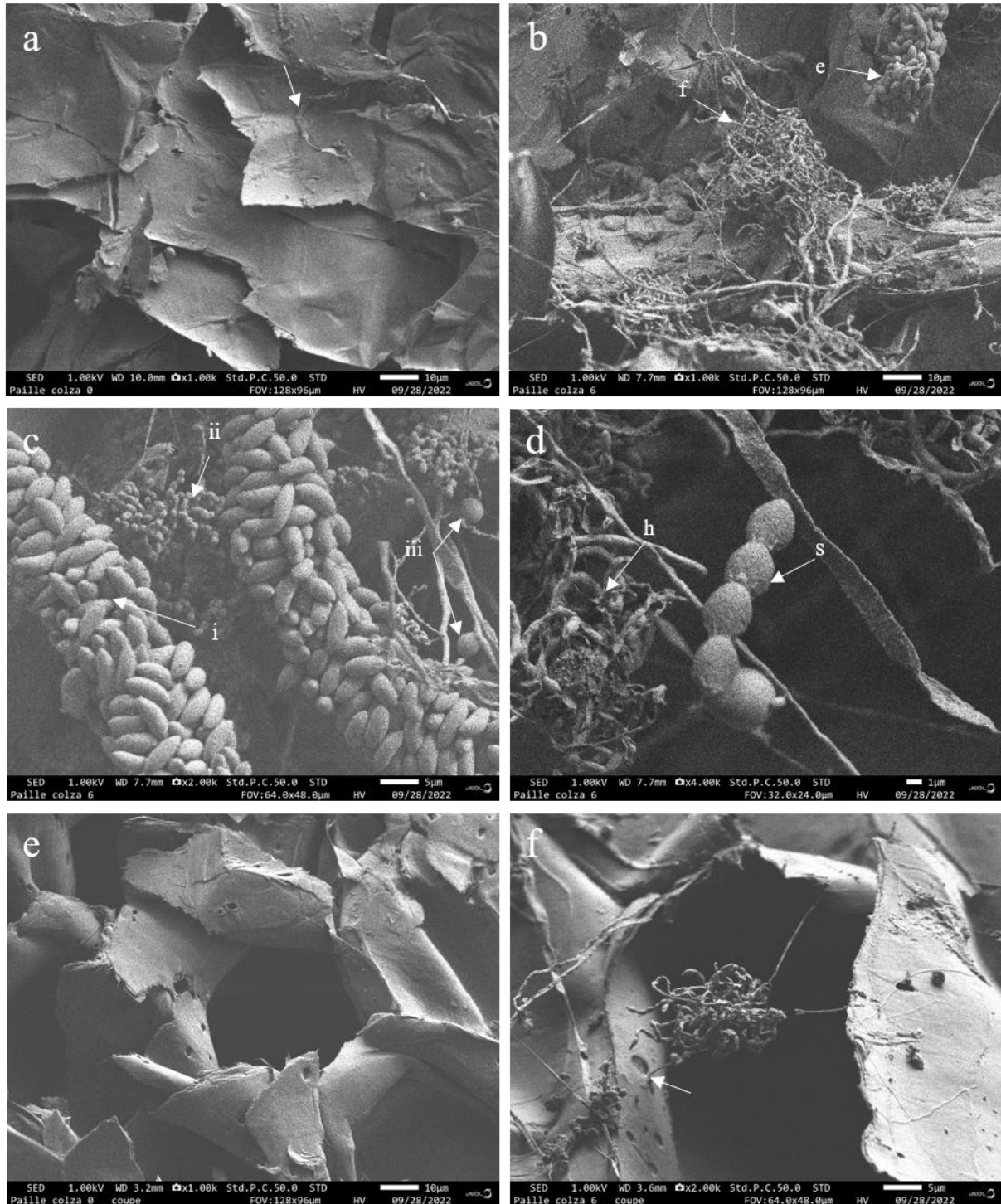


Figure 3. 8 : Images par Cryo-HRSEM de la paille de colza (RS) : (a) vue de la surface à 0 mois montrant la présence de microorganismes (exemple de filament indiqué par une flèche), (b) vue de la surface à 6 mois, montrant la prolifération de microorganismes filamenteux (f) et ellipsoïdaux (e), (c) agrandissement de microorganismes à 6 mois, comprenant (i) des colonies d'organismes ellipsoïdaux, probablement bactériens, organisés autour de filaments fongiques, (ii) des colonies

d'organismes sphériques, et (iii) des sphères individuelles plus grandes, (d) agrandissement de microorganismes présents à 6 mois, comprenant des hyphes fongiques (h) et des chaînes de sphères fongiques (s), (e) coupe transversale à 0 mois, (f) coupe transversale à 6 mois, montrant la présence de microorganismes à l'intérieur d'alvéoles dont les parties filamenteuses semblent percer les parois du matériau (voir flèche)

3.2.3.3. Sur l'écorce de tournesol (SB)

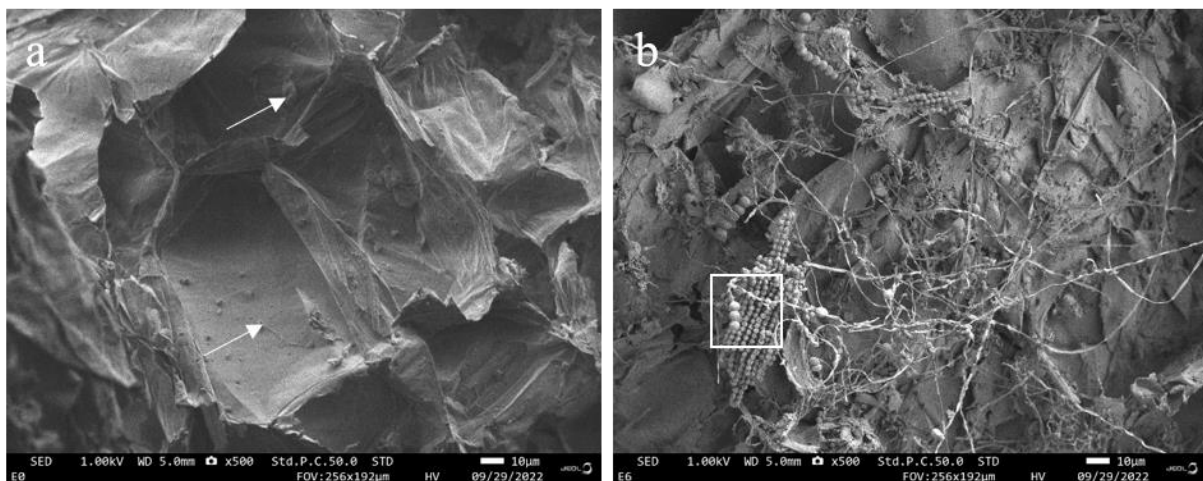
De manière similaire à la paille de colza, le matériau d'écorce de tournesol (SB) présente une contamination microbienne plus faible à 0 mois (Figure 3. 9a). Cependant, après 6 mois de vieillissement microbien, un développement important de microorganismes est observé (Figure 3. 9b, c et d). Plusieurs types de microorganismes sont détectés, parmi lesquels certains montrent une organisation arbusculaire évoquant des *conidies d'ascomycètes* (Figure 3. 9c) selon (Saeed et al., 2019) [209]. D'autres types se sont également développés et ont été classés selon leur forme :

(b) Des sphères d'une taille moyenne de 5 μm , alignées en chaîne, évoquent davantage des bactéries que des champignons (Figure 3. 9d).

(f) Des sphères plus petites, d'une taille moyenne de 2,5 μm et d'une surface épineuse, sont organisées en structures ressemblant à des feuilles (Figure 3. 9b et d). Bien que la surface épineuse de ces dernières puisse évoquer des spores fongiques, aucune image similaire de spores fongiques organisées en feuilles n'a été trouvée dans la littérature.

(h) Des structures filamenteuses évocatrices d'hyphes fongiques

Les coupes transversales révèlent une colonisation microbienne plus importante dans les cavités internes du matériau à 6 mois (Figure 3. 9f) par rapport à la paille de blé WS ou même la paille de colza RS, alors qu'à 0 mois, les microorganismes ne sont pas développés à l'intérieur de la porosité du granulat (Figure 3. 9e).



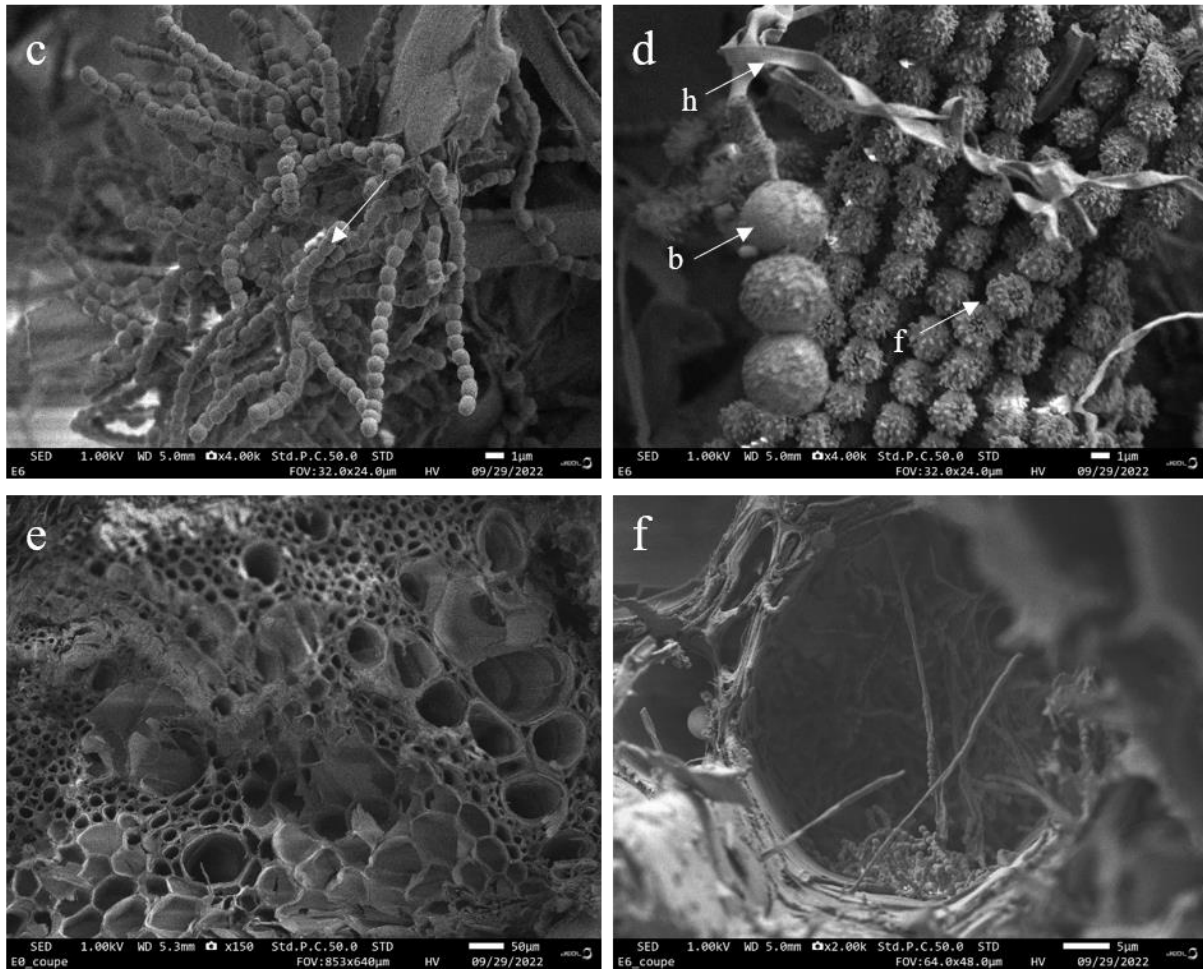


Figure 3. 9 : Images Cryo-HRSEM de l'écorce de tournesol (SB) : (a) vue de la surface à 0 mois, montrant une faible présence de microorganismes (flèches), (b) vue de la surface à 6 mois, montrant la prolifération de microorganismes (filaments et chaînes de sphères); la zone carrée est agrandie dans (d), (c) vue agrandie des microorganismes présents à 6 mois, dont l'organisation arbusculaire est évocatrice de conidies d'ascomycètes, (d) vue agrandie de la zone carrée de (b), montrant des structures filamenteuses évocatrices d'hyphes fongiques (h), de sphères épineuses évocatrices de spores fongiques (f) et de chaînes de sphères évocatrices de bactéries (b), (e) coupe transversale à 0 mois et (f) coupe transversale à 6 mois, montrant des alvéoles envahies par des microorganismes (filaments, structures de type conidies d'ascomycètes).

3.2.3.4. Sur la moelle de tournesol (SP)

La moelle de tournesol (SP) présente une colonisation par des microorganismes significativement plus importante à 0 mois par rapport aux trois autres granulats. Les surfaces exposées, à la fois de la moelle ainsi que de l'extérieur de son cortex, sont recouvertes d'un mucilage organique enveloppant à la fois des filaments microbiens et des spores fongiques (Figure 3. 10a et b). Ce mucilage retient l'eau, ce qui rend la sublimation du processus de préparation de la Cryo-HRSEM, plus difficile que dans le cas des trois autres granulats. D'autres organismes comprennent de courtes chaînes évoquant des hyphes fongiques, en particulier en raison de leur association avec des spores (Figure 3. 10c) et des hyphes ramifiés (Figure 3. 10d). Les coupes transversales révèlent également des microorganismes déjà présents à 0 mois (Figure 3. 10e). Comme dans le cas de la paille et de l'écorce, les 6 mois d'exposition ont

également entraîné une prolifération de microorganismes, y compris de microorganismes filamenteux ainsi que sous forme de spores (Figure 3. 10f).

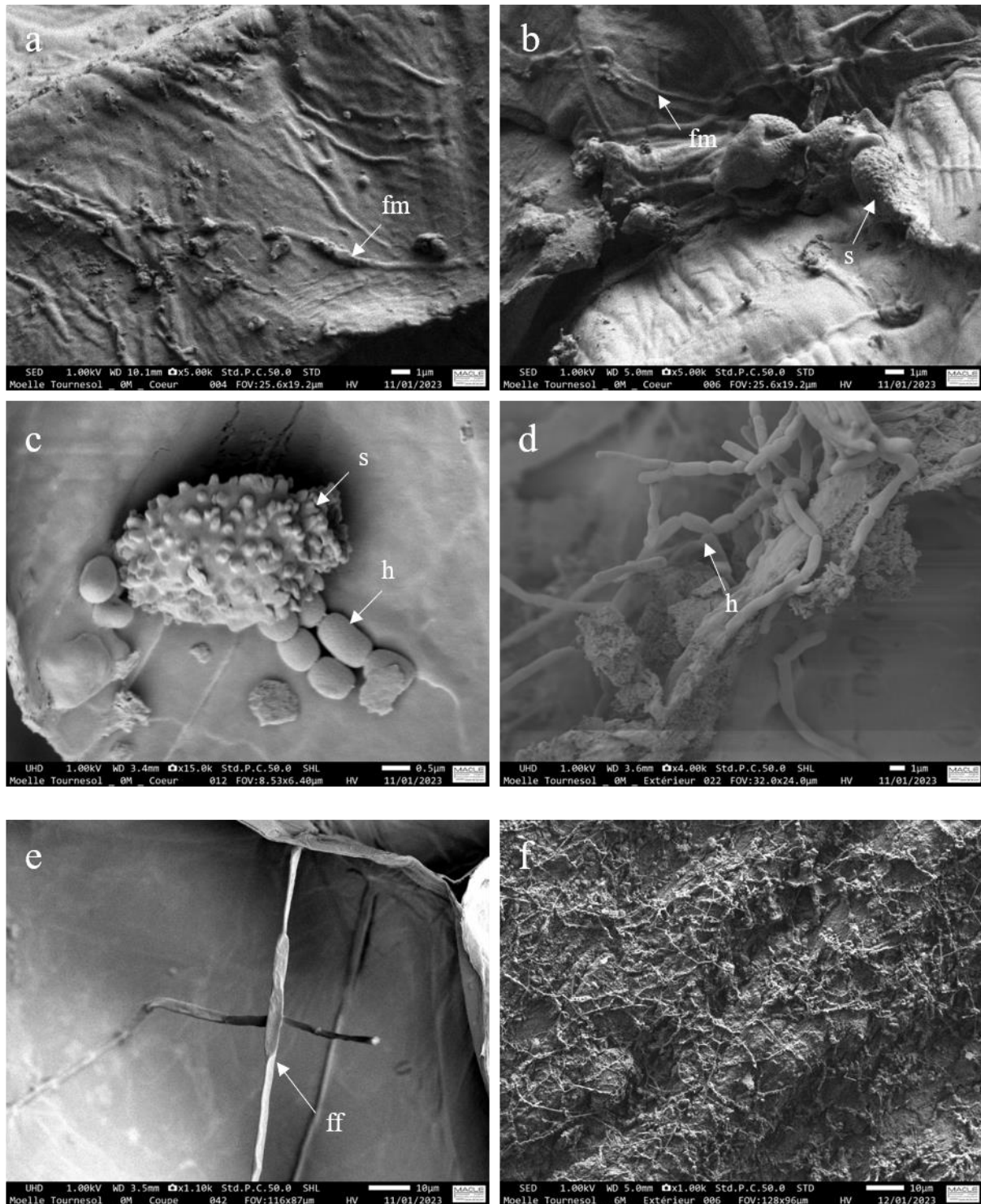


Figure 3. 10 : Images Cryo-HRSEM de la moelle de tournesol (SP) : (a) vue de la moelle à 0 mois, montrant la surface recouverte de mucilage enveloppant notamment des filaments microbiens (fm), (b) vue agrandie de la moelle à 0 mois, montrant des spores fongiques (s) enveloppées de mucilage ainsi que des filaments (f), (c) vue d'un exemple de spore fongique (s) présent à 0 mois sur la moelle de tournesol, avec des hyphes probables en émergence (h); (d) vue de l'extérieur du cortex à 0 mois, montrant des hyphes fongiques bien développés (h, comparer avec c), (e) coupe transversale à 0 mois, montrant la présence de filaments fongiques (ff) dans les alvéoles, et (f) vue de l'extérieur du cortex à 6 mois, montrant la prolifération de microorganismes filamenteux (principalement des champignons).

3.2.4. Comparaison des résultats : dénombrement des microorganismes, observations visuelles et microscopiques par Cryo-HRSEM

Les résultats de l'analyse par Cryo-HRSEM indiquent que les échantillons de paille de blé (WS), de paille de colza (RS), d'écorce de tournesol (SB) et de moelle de tournesol (SP) sont initialement contaminés par des microorganismes avant le vieillissement microbiologique accéléré. Ces microorganismes ont ensuite continué à se multiplier et à se développer pendant les 6 mois de vieillissement accéléré. Le processus accéléré de développement microbien a créé un environnement propice à la croissance et au développement des microorganismes. L'analyse suggère que les populations microbiennes présentes à 6 mois semblent principalement provenir des microorganismes déjà présents avant le début du vieillissement, ce qui indique qu'il n'y a pas eu de contamination externe des échantillons lors des manipulations. De plus, les types de microorganismes observés sur chaque type des matériaux sont différents, ce qui confirme que ces organismes étaient présents sur les échantillons initialement après les conditions de stockage dans l'unité de transformation ou chez l'agriculteur. Les principaux microorganismes identifiés semblent être des champignons (Figure 3. 7) qui se propagent pour certains par dispersion des spores (Figure 3. 7d). Ils sont accompagnés probablement de bactéries sous la forme de colonies de cellules ellipsoïdales organisées autour des hyphes fongiques (Figure 3. 8c), ou de sphères individuelles (Figure 3. 9d), ainsi que de filaments produisant du mucilage (Figure 3. 10a et b).

Les observations en Cryo-HRSEM ont permis de fournir des informations plus détaillées sur la présence des microorganismes à 0 mois et leur développement jusqu'à 6 mois. Il est important de noter que les microorganismes peuvent être invisibles à l'œil nu s'ils ont une taille de l'ordre du micromètre ou s'ils ne sont présents qu'en faible quantité comme c'est le cas pour certains champignons. Par conséquent, bien que l'observation visuelle (Figure 3. 6) ait permis une détection du développement de champignons sur les matériaux après 6 mois de vieillissement microbien, ces mêmes matériaux semblent être non contaminés à 0 mois.

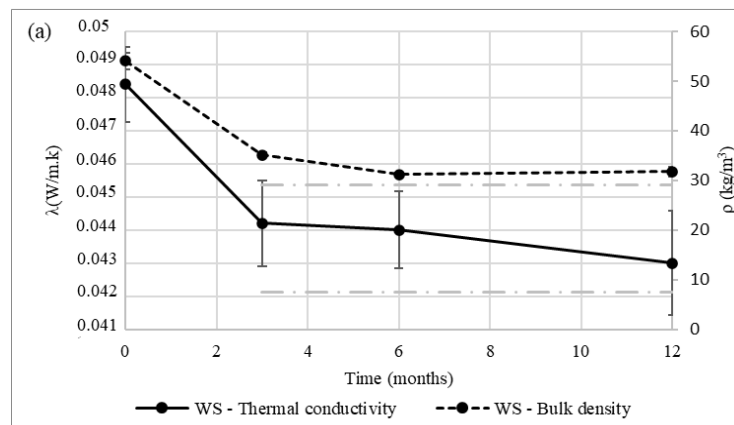
Par ailleurs, les résultats obtenus par le test de comptage peuvent ne pas révéler la même tendance que ceux montrés par l'approche par Cryo-HRSEM. En effet, le test de comptage des microorganismes implique la culture de ceux-ci sur des milieux de culture pour les bactéries ou les champignons ; or ceux-ci diffèrent des microorganismes présents ou développés dans le matériau, tels que montrés par la Cryo-HRSEM et qui représentent les conditions réelles du matériau étudié. Ainsi, bien que le test de comptage ait révélé que SP est le plus contaminé par les bactéries à 0 mois (Figure 3. 3), ce qui est confirmé par la présence de mucilage montrée par l'observation en Cryo-HRSEM (Figure 3. 10a), il est possible que d'autres types de microorganismes présents ou en développement dans le matériau ne soient pas détectés par ce test. De même, le test de comptage a montré que WS permettait le développement des champignons à 0 mois (Figure 3. 4), ce qui est cohérent avec l'observation en Cryo-HRSEM montrant la présence de ces champignons à ce stade (Figure 3. 7a). En revanche, les deux autres matériaux ne montrent pas de culture de champignons à 0 mois (Figure 3. 4), selon le test de comptage, ce qui est également en accord avec l'observation en Cryo-HRSEM (Figure 3. 8a, Figure 3. 9a et Figure 3. 10a).

Les observations réalisées en Cryo-HRSEM offrent une vision plus exhaustive et précise de la présence et de l'évolution des microorganismes sur les granulats. Cette approche permet de mettre en évidence des éléments qui peuvent échapper à l'observation visuelle traditionnelle ou aux méthodes conventionnelles de dénombrement. Ainsi, elle contribue à une meilleure compréhension des interactions entre les microorganismes et les granulats, ainsi qu'à une évaluation plus précise de leur impact sur les matériaux.

3.2.5. Influence du développement microbien sur la conductivité thermique des granulats

La Figure 3. 11 représente l'évolution de la conductivité thermique (ligne continue foncée) et de la densité apparente (ligne pointillée foncée) pour les quatre granulats en fonction de la durée d'exposition au vieillissement microbien accéléré. Ces deux paramètres sont mesurés à différentes échéances du vieillissement microbien (0, 3, 6 et 12 mois) après avoir séché les granulats jusqu'à la stabilisation de leur masse avant chaque essai pour éviter l'effet de la teneur en eau sur les résultats.

Une analyse statistique des données (lignes pointillées de couleur claire) est réalisée sur les résultats de la conductivité thermique afin d'évaluer la tendance des valeurs qui semblent constantes. Cette étude consiste à calculer la valeur moyenne (μ) de la conductivité thermique dans la plage qui semble stable, ainsi que l'écart-type correspondant (std). Si les valeurs mesurées se situent dans l'intervalle [μ -std ; μ +std], alors elles peuvent être considérées comme constantes. Dans le cas contraire, une variation doit être prise en compte. L'analyse effectuée sur la paille de blé WS, la paille de colza (RS) et l'écorce de tournesol (SB), montré que les valeurs de la conductivité thermique restent constantes entre 3 et 12 mois. En ce qui concerne la moelle de tournesol, ces valeurs sont constantes entre 0 et 3 mois et également entre 6 et 12 mois.



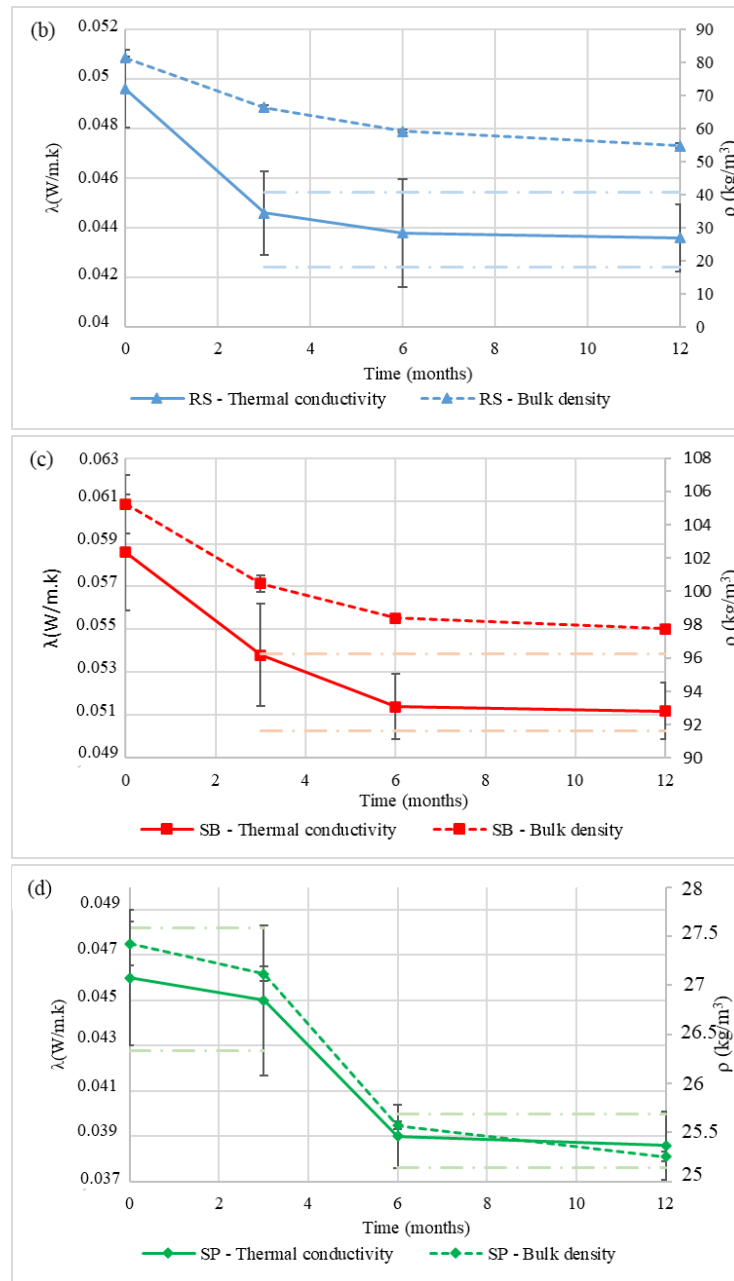


Figure 3. 11 : Évolution de la conductivité thermique (moyenne \pm écart-type ; $n=5$) et de la densité en apparence (moyenne \pm écart type ; $n=3$) en fonction du temps de vieillissement accéléré pour le développement microbien pour (a) la paille de blé (WS), (b) la paille de colza (RS), (c) l'écorce de tournesol (SB), et (d) la moelle de tournesol (SP)

Les Figure 3. 11a, b, c et d montrent, au cours du temps, une diminution de la conductivité thermique pour les différents matériaux étudiés entre 0 et 3 mois. La paille de blé a montré une diminution de 0,0484 à 0,0442 W/(m.K) (-8,67%), la paille de colza (RS) de 0,0496 à 0,0446 W/(m.K) (-10,08%) et l'écorce de tournesol (SB) de 0,0585 à 0,0538 W/(m.K) (-8,03%). Parallèlement, la densité a également diminué avec la même tendance. Pour WS, la densité est passée de 53 à 35 kg/m³ (-33%), pour RS de 82,5 à 65 kg/m³ (-21%) et pour SB de 105 à 98,5 kg/m³ (-6,19%). Entre 3 et 12 mois, la conductivité thermique et la densité ont presque évolué statistiquement, avec une variation négligeable pour les trois granulats WS, RS et SB.

Quant à la Figure 3. 11d, elle indique que la conductivité thermique de la moelle de tournesol (SP) est restée constante avec une valeur moyenne de 0,0455 W/(m.K) entre 0 et 3 mois, de même que la densité qui n'a pas montré variation (27,4 et 27,11 kg/m³ à 0 et 3 mois respectivement). Après 3 mois de vieillissement microbien, la conductivité thermique a diminué à 0,0388 W/(m.K) (-14,72%) et est restée constante jusqu'à 12 mois. De même, la densité a connu une diminution modérée à 25 kg/m³ (-7,4%) et est également restée constante jusqu'à 12 mois.

Le Tableau 3. 2 présente une comparaison des valeurs de la conductivité thermique mesurées pour les granulats étudiés à leur état initial avant l'exposition au vieillissement accéléré, avec des valeurs issues de la littérature concernant ces mêmes granulats. Cette comparaison permet de vérifier que les valeurs mesurées dans cette étude s'inscrivent dans l'ordre de grandeur des valeurs reportées dans des travaux antérieurs.

Tableau 3. 2 : Comparaison de la conductivité thermique des granulats étudiés à 0 mois de vieillissement accéléré avec celle des mêmes granulats étudiés dans des travaux antérieurs de la littérature

| Materials | Conductivité thermique (λ) (W/(m.K)) | Conductivité thermique (λ) (W/(m.K)) issue the littérature |
|------------------|--|--|
| WS | 0,048 ($\pm 0,001$) | 0,045 [92] |
| RS | 0,049 ($\pm 0,001$) | 0,043 [25] 0,067 [205] |
| SB | 0,059 ($\pm 0,002$) | 0,053 [25] 0,074 [205] |
| SP | 0,046 ($\pm 0,002$) | 0,036 [25] 0,051 [202] 0,037 [212] |

Dans cette étude, l'effet du développement microbien sur les propriétés thermiques des granulats, est donc évalué. La croissance microbienne dans un matériau poreux peut avoir un impact significatif sur sa conductivité thermique. En effet, les microorganismes ont la capacité de modifier les propriétés physiques du matériau en créant des pores, des canaux et des cavités, ce qui réduit sa densité et sa conductivité thermique effective [213]. (Vasiliauskiene et al., 2023) [49] ont étudié l'impact des microorganismes sur les performances de composites imprégnés d'huile de Tung fabriqués à partir de copeaux de chanvre et d'amidon de maïs. Après 6 mois d'incubation des matériaux, leur conductivité thermique a diminué en moyenne de 1,8%, ce qui est en accord avec nos propres résultats.

Par ailleurs, les microorganismes peuvent également influencer la conductivité thermique par leur métabolisme. La plupart des microorganismes produisent de la chaleur lorsqu'ils métabolisent les nutriments dans leur environnement [59], ce qui peut augmenter localement la conductivité thermique. Cependant, (Delannoy, 2018) [17] a remarqué que le biofilm des bactéries présentes à la surface du béton de chanvre a fermé la porosité, entraînant ainsi une augmentation de la conductivité thermique. Le fait que la conductivité thermique des matériaux étudiés ait diminué pourrait suggérer que les types de microorganismes développés sur ces

matériaux n'ont pas produit de chaleur au cours de leur métabolisme. Sinon, la biodégradation peut affecter la microstructure des matériaux, ce qui entraîne une diminution de la conductivité thermique.

3.3. Comportement du liant à base de chaux Tradical PF70 vis-à-vis des microorganismes

L'étude des liants utilisés dans la conception des biocomposites étudiés permet de déterminer la contribution de chaque composant, dans le développement des microorganismes. Dans la littérature, l'emploi de la chaux aérienne est connu par son effet biocide, attribué à son pH élevé qui entrave le développement des microorganismes. Les travaux menés par (Oriol et al., 2009) [214], au sein du Laboratoire de Recherche des Monuments Historiques (LRMH), a concerné les traitements à la chaux vive pour prévenir la formation de mycéliums sur des surfaces comme dans le cas des gravures des sites naturels comme la grotte de Lascaux. La chaux vive présente des propriétés désinfectantes liées à l'augmentation du pH du substrat et à l'absorption de l'eau nécessaire à la constitution des microorganismes, au cours du phénomène d'extinction de la chaux. Ce type de traitement peut être réaliser à grande échelle, en masse, assurant une efficacité rapide pour lutter contre la propagation incontrôlée des mycéliums. D'autres recherches menées par (Kamdem et al., 2022) [215] ont également étudié l'effet du traitement à la chaux vive sur les boues de vidanges dans la ville de Yaoundé, au Cameroun. Le traitement avec un pourcentage massique de 5% de chaux a entraîné une destruction totale des colonies des microorganismes au 7^{ème} jour tandis que le traitement à 2,5% a abouti à cette destruction au 14^{ème} jour. Au cours de ces traitements, le pH de la boue a augmenté en moyenne de 7,13 pour la solution témoin à 12,28 pour le traitement à 2,5% et à 12,41 pour celui à 5%. De même, la conductivité électrique a montré une augmentation prononcée allant de 36 mS/cm pour la solution témoin jusqu'à 50 mS/cm pour le traitement à 2,5% et 75 mS/cm pour celui à 5%. Par conséquent, l'étude des propriétés de la chaux en tant que liant dans la composition de biocomposites offre des perspectives importantes pour la gestion des microorganismes et la préservation des propriétés des matériaux. Cependant, la formulation et la complexité des mécanismes de biodégradation et les conditions de développement peuvent influencer ce caractère inhibiteur de la chaux.

3.3.1. Dénombrement des bactéries et des champignons

Les résultats des essais de dénombrement des bactéries et champignons sur les quatre liants préparés (L, LC, LH et LCH) aux échéances 0, 3 et 6 mois de vieillissement accéléré favorisant le développement microbien, sont présentés dans le Tableau 3. 3. On observe que les matériaux étudiés n'ont pas favorisé la culture de ces microorganismes aux différents temps de suivi.

Tableau 3. 3 : Nombre de microorganismes (moyenne \pm écart-type ; n=3) : bactéries (culture sur milieu YEG) et champignons (culture sur milieu PDA) cultivés sur les quatre types de liants étudiés (L, LC, LH et LCH) à 3 échéances (0, 3 et 6 mois) de vieillissement accéléré

| | Temps (mois) | Dénombrement YEG (UFC/g) | Dénombrement PDA (UFC/g) |
|--------------|--------------|--------------------------|--------------------------|
| LE0 | 0 | 0 | 0 |
| LE3 | 3 | 0 | 0 |
| LE6 | 6 | 0 | 0 |
| LEC0 | 0 | 0 | 0 |
| LEC3 | 3 | 0 | 0 |
| LEC6 | 6 | 0 | 0 |
| LEH0 | 0 | 0 | 0 |
| LEH3 | 3 | 0 | 0 |
| LEH6 | 6 | 0 | 0 |
| LECH0 | 0 | 0 | 0 |
| LECH3 | 3 | 0 | 0 |
| LECH6 | 6 | 0 | 0 |

Bien que les échantillons des liants aient été soumis aux mêmes conditions de température et d'humidité favorisant le développement des microorganismes sur les granulats végétaux, aucun développement microbien n'a été observé. En plus, un suivi visuel des échantillons montrant également aucun signe visuel de présence de microorganismes, corrobore les résultats des tests de comptage. Cela confirme l'absence de signes de biodégradation des matériaux, car les échantillons sont restés intacts durant toute la phase de vieillissement accéléré favorable au développement microbien.

3.3.2. pH et conductivité électrique

Les variations de pH des quatre liants étudiés sont présentées dans la Figure 3. 12, pour les trois temps de vieillissement accéléré au développement microbien. Les quatre liants présentent des variations de pH similaires. On observe une diminution de pH de 4%, 7,18%, 4,46% et 1,17% pour L, LC, LH et LCH respectivement, suivie d'une augmentation de 6,34%, 6,45%, 7,87% et 6,42% pour L, LC, LH et LCH respectivement après 6 mois. La diminution de pH est due au phénomène de carbonatation de la chaux, qui peut faire baisser le pH [121] [122]. Cependant, pour l'ensemble des résultats, le pH mesuré des quatre liants est toujours supérieur à 11 aux trois échéances. En effet, chaque type de microorganismes se développent dans une plage bien définie de pH, variant entre un pH acide (<7) et un pH quasiment neutre (aux alentours de 7). En général, la plupart des bactéries pour proliférer préfèrent un pH neutre, tandis que les champignons peuvent se développer entre 4,5 et 8 avec un optimum entre 5,5 et 7,5 [121]. (Rabii, 2016) [35] a également constaté que les champignons préfèrent un milieu acide, avec un pH d'environ 4 à 6. Certains champignons peuvent même se développer à des pH très acides, comme *Aspergillus niger* qui peut survivre à des pH entre 1,7 et 2 [121]. Par conséquent, les matériaux à base de chaux, qui sont alcalins avec un pH très élevé (>11) sont peu sensibles, voire insensibles à la colonisation microbienne. Cela est confirmé par les essais de

dénombrement des bactéries et des champignons, qui n'ont pas permis la culture des microorganismes sur les quatre liants probablement en raison de leur forte alcalinité.

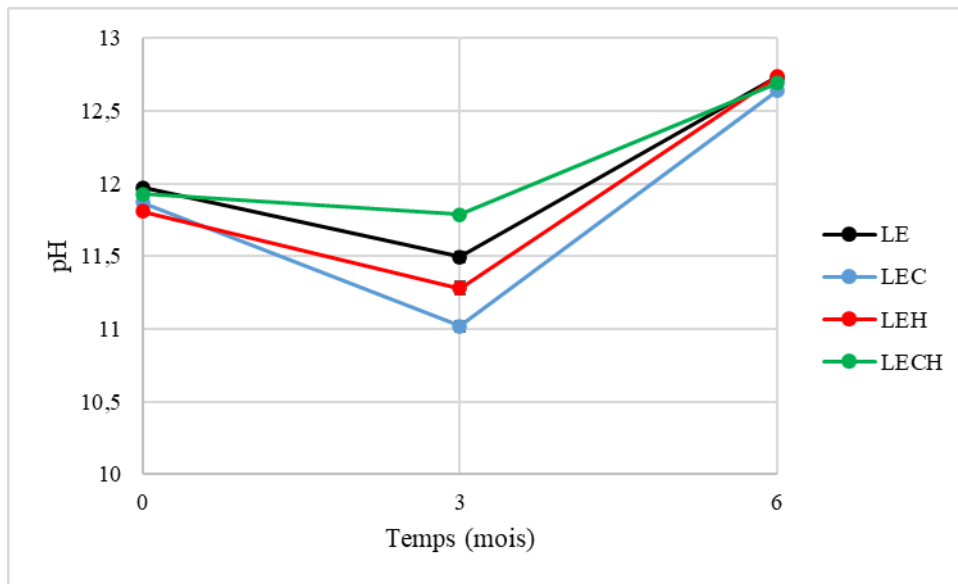


Figure 3. 12 : Evolution du pH des quatre liants LE, LEC, LEH et LECH) en fonction de temps de suivi en vieillissement accéléré au développement microbien (0, 3 et 6 mois)

La Figure 3. 13 présente l'évolution de la conductivité électrique des quatre liants étudiés en fonction de trois temps de suivi en vieillissement accéléré (0, 3 et 6 mois). Les variations de la conductivité électrique (EC) sont similaires à celles du pH. En effet, on observe une diminution de la conductivité électrique des quatre liants entre 0 et 3 mois, suivie d'une augmentation après 6 mois.

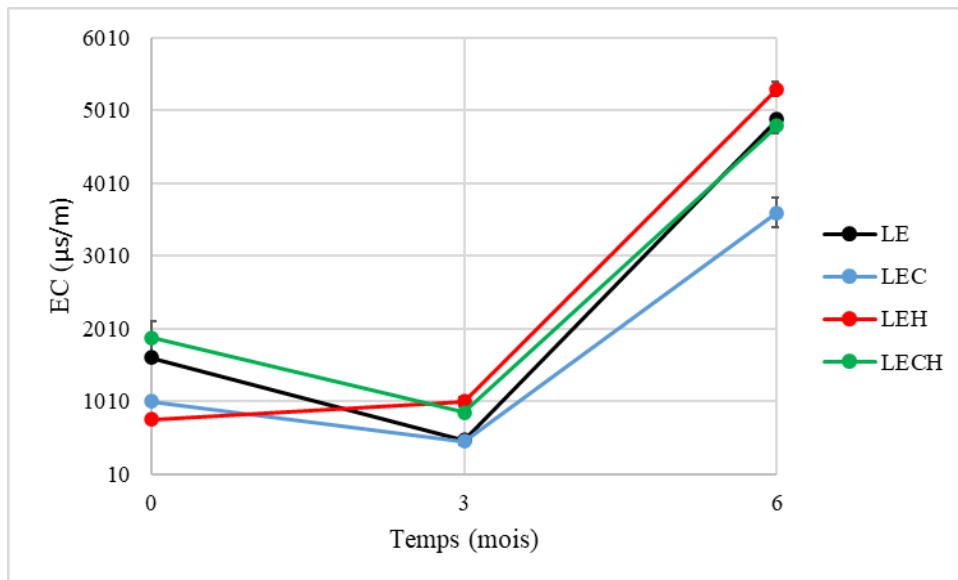


Figure 3. 13 : Evolution de la conductivité électrique (EC) des quatre liants LE, LEC, LEH et LECH) en fonction du temps de suivi en vieillissement accéléré au développement microbien (0, 3 et 6 mois)

3.3.3. Masse volumique apparente

La Figure 3. 14 illustre l'évolution de la masse volumique apparente des échantillons des liants étudiés en fonction des temps différents d'exposition au vieillissement accéléré. Ainsi, le temps 0 mois correspond à 28 jours de cure. Selon (Delannoy, 2018) [17], les conditions de cure de la chaux influencent fortement le processus de la carbonatation. Une faible humidité relative ($hr < 50\%$) rend la dissolution de CO_2 pratiquement impossible ce qui ralentit les réactions d'hydratation et de carbonatation [216]. Une humidité moyenne qui varie entre 50% et 75% favorise le processus de la carbonatation [64]. En revanche, une forte humidité ($hr > 80\%$) peut conduire à une dégradation importante de l'adhésion de l'interface entre le liant et les particules (dans le cas des biocomposites) et perturbe les propriétés mécaniques [216] [8]. Dans notre cas, la cure a été arrêtée avec des conditions optimales ($hr = 50\%$) à 28 jours, puis les conditions accélérées sévères avec une humidité de 90% ont été appliquées. La Figure 3. 14 présente le suivi de la masse effectué pendant 6 mois après la cure. Une diminution progressive de la masse volumique du liant est observée entre 0, 3 et 6 mois. Le matériau LE a montré une diminution de 8,2% et 14,17%, LEC de 9,4% et 17,05%, LEH de 8,76% et 16,18% et enfin LECH de 14,9% et 21,45%, à 3 et 6 mois respectivement. Cette perte de masse est attribuée à la suite du processus de la cure. (Delannoy, 2018) [17] a mesuré une perte de masse des biocomposites à base de chanvre, qui a varié de 10% à plus de 30% pendant une durée de trois mois dans des conditions de cure de 75% d'humidité et 20°C de température. En ce qui concerne les matériaux étudiés, les pertes de masse ne sont pas aussi importantes comme celles trouvées par Delannoy. En effet, les conditions de vieillissement accéléré avec une humidité de 90%, ont atténué le processus de carbonatation qui est considéré comme optimal avec des humidités variantes entre 50 et 75%. Par conséquent, la diminution de la masse des quatre formulations du liant est due au phénomène de carbonatation entre 0 et 3 mois, ralenti suite à la forte humidité provenant du vieillissement accéléré, jusqu'à l'échéance de 6 mois.

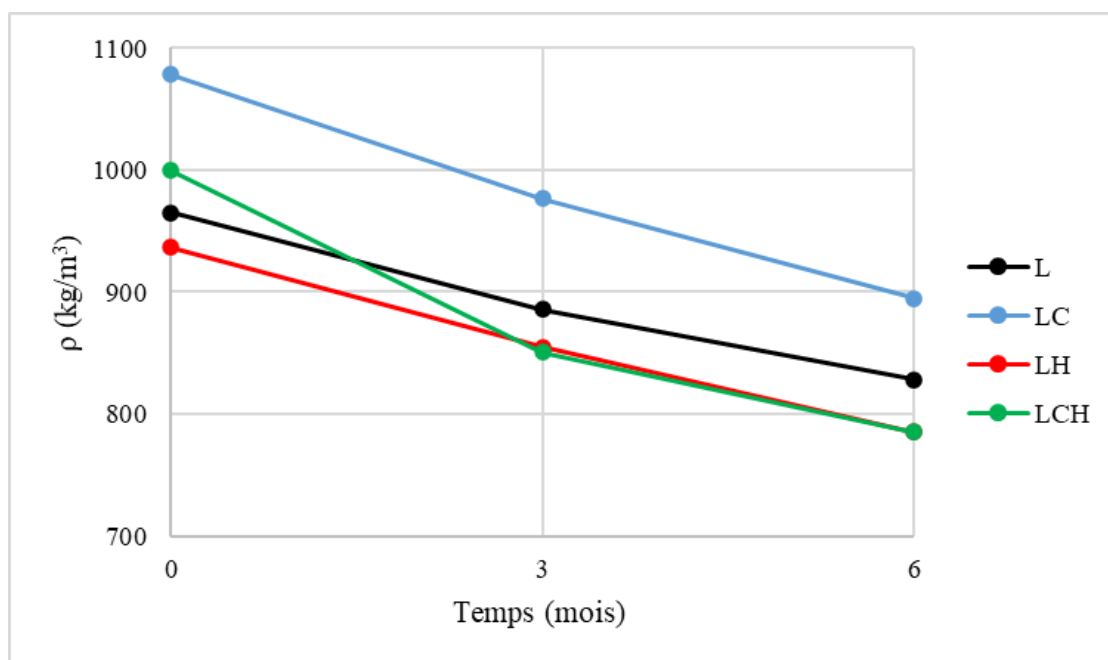


Figure 3. 14 : Evolution de la masse volumique apparente (ρ) des quatre liants L, LC, LH et LCH en fonction du temps de suivi en vieillissement accéléré au développement microbien (0, 3 et 6 mois)

Conclusion

L'objectif de ce chapitre était d'examiner l'impact du développement des microorganismes sur le comportement de quatre granulats végétaux (paille de blé, paille de colza, écorce et moelle de tournesol) et du liant utilisé à base de chaux Tradical PF70, destinés à la production de matériaux biosourcés pour l'isolation thermique des bâtiments.

Les échantillons ont été soumis à un vieillissement microbien accéléré, en exposant les matériaux à des conditions contrôlées d'humidité (90% \pm 3%) et de température (30°C), favorables au développement des microorganismes, pendant une année de suivi.

La caractérisation physique a montré une légère biodégradation de la paille de blé, la paille de colza, l'écorce de tournesol et la moelle de tournesol après trois mois d'exposition à la croissance microbienne. La masse volumique apparente et la conductivité thermique ont suivi la même tendance, à l'exception de la moelle de tournesol, au cours des trois premiers mois. Ensuite, ces paramètres sont restés constants jusqu'à 12 mois. Cette faible diminution des caractéristiques physiques peut être attribuée à la dégradation de la microstructure du matériau par les microorganismes.

En effet, les tests de comptage des microorganismes ont révélé une augmentation de la croissance microbienne pour les granulats principalement contaminés par des champignons plutôt que par des bactéries. La paille de blé a été affectée par des champignons dès le mois 0 de temps de vieillissement ; le développement s'est ensuite poursuivi tout au long de l'année. Pour la paille de colza et l'écorce de tournesol, les champignons ont été détectés après trois mois de vieillissement microbien, tandis que la moelle de tournesol a montré un développement microbien après un an.

De même, les observations par Cryo-HRSEM ont confirmé et ont mis en évidence que les granulats étaient affectés par des champignons avant les conditions d'exposition, bien que la moelle de tournesol ait présenté une abondance microbienne plus faible. Cependant, tous les matériaux ont montré une croissance significative des microorganismes après une exposition de six mois au vieillissement microbien.

Les résultats des différentes caractérisations ont démontré que les quatre granulats végétaux étudiés étaient contaminés par des microorganismes à leur état initial, probablement en raison des conditions de stockage. Afin de les protéger contre les attaques microbiennes lors du stockage après récolte, il est recommandé de les entreposer dans un endroit bien ventilé, en évitant une humidité élevée, qui pourrait favoriser la croissance des microorganismes. Sinon, cette croissance présente un risque pour la santé des occupants du bâtiment en cas de microorganismes pathogènes.

Les tests de comptage des microorganismes effectués sur les quatre mélanges de liant (LE à base de chaux et d'eau, LEC à base de chaux, d'eau et de caséine, LEH à base de chaux, d'eau et d'hémoglobine et LECH à base de chaux, d'eau et du mélange de deux additifs d'origine animale issus de la biomasse), n'ont pas permis la culture des bactéries et des champignons après 6 mois de vieillissement accéléré. L'alcalinité du liant minéral caractérisé par son pH supérieur à 11 et sa forte conductivité électrique, n'ont pas permis le développement des

microorganismes sur les quatre liants. Cette étude n'a pas pu démontrer l'effet de chacun de deux additifs sur le développement microbien.

Un suivi de masse volumique a montré une diminution après 3 et 6 mois d'exposition au vieillissement accéléré. Cette perte de masse est due au phénomène de cure des liants qui a commencé dans des conditions optimales (50% d'humidité et 20°C de température) pendant 28 jours et a été poursuivie par des conditions accélérées (90% d'humidité et 30°C de température) qui ont retardé le processus de carbonatation de la chaux.

Chapitre 4 : Comportement des matériaux biosourcés vis-à-vis du développement microbien

4.1. Introduction

Dans le cadre de l'étude de l'influence de la prolifération de microorganismes sur les quatre biocomposites étudiés, le travail mené détaillé dans ce chapitre, vise à comprendre le comportement microstructural et à évaluer les propriétés macroscopiques pour la durabilité de ces matériaux vis-à-vis du développement microbien. Pour cela, des analyses microbiologiques et microstructurales ont été réalisées pour compléter l'étude des propriétés physiques et mécaniques des matériaux face au développement des microorganismes.

Au cours d'un suivi d'une année complète du vieillissement choisi dans ce travail, une étude microbiologique a été menée, consistant à dénombrer des microorganismes cultivés à partir de ces matériaux, par un test de dénombrement de bactéries et de champignons.

Des observations par Cryo-HRSEM des biocomposites ont également été réalisées, afin de visualiser à l'échelle microscopique le développement des microorganismes après 6 mois de vieillissement microbien.

De plus, une caractérisation physique a été réalisée pour évaluer l'effet du développement microbien sur la résistance mécanique et la conductivité thermique des biocomposites à différentes échéances de temps de suivi entre 0 et 12 mois.

Enfin, une étude analytique a été réalisée à l'aide de deux modèles analytiques distincts, à savoir le modèle biohygrothermal et le modèle VTT. Ces modèles sont employés en vue de prédire la croissance microbienne à la surface d'un matériau spécifique en offrant certains avantages tels que l'efficacité, la prévision à long terme, l'exploration des scénarios variés et la réduction des coûts expérimentaux. Ces deux modèles nécessitent des données inspirées de l'étude expérimentale adoptée dans le cadre de ce travail, englobant une humidité relative de 90%, une température de 30°C, un type de matériau et une durée de l'essai s'étalant sur une année. Ces deux modèles permettent d'évaluer d'une manière analytique un pourcentage de contamination de la surface d'un matériau. Ce pourcentage est ensuite comparé à un pourcentage expérimental, préalablement mesuré grâce à une analyse d'images des biocomposites étudiés au cours de ce travail, exposés au vieillissement microbien accéléré. Cette comparaison permet par la suite d'évaluer, avec précision, la fiabilité de chaque modèle à prédire la croissance microbienne sur les biocomposites étudiés.

4.2. Culture des microorganismes en milieu solide sur les biocomposites

4.2.1. Dénombrement des bactéries et des champignons

Comme pour les granulats, deux milieux de cultures ont été utilisés pour le dénombrement des bactéries (YEG) et des champignons (PDA), cultivables sur les quatre biocomposites étudiés. Cependant, une complexité supplémentaire découle de l'état de l'échantillon des biocomposites

lors de l'infusion dans l'eau péptonée. En raison de la présence de plusieurs granulats enrobés de liant minéral au sein de l'échantillon, le prélèvement de l'échantillon a généré un bloc d'échantillon comprenant diverses parties. Afin d'assurer une infusion optimale, il a été nécessaire de réaliser un processus d'effritement sur le matériau, tout en veillant à éviter toute contamination externe au matériau. Ce frittage a été utilisé pour séparer les particules du liant des granulats tout en conservant la structure entière du granulat. En effet, une étude préliminaire menée sur les granulats a démontré qu'une opération de broyage des granulats avait abouti à un résultat négatif de dénombrement (c'est-à-dire une absence de microorganismes cultivables) (voir le chapitre 2).

Les Figure 4. 1 et Figure 4. 2 présentent les résultats de dénombrement des bactéries et des champignons, respectivement sur les deux biocomposites WL et WaL à base de paille de blé et sur les deux autres biocomposites RL et SL, à base de tournesol, au cours de vieillissement accéléré, pour quatre temps différents de suivi au cours de l'année d'étude (0, 3, 6 et 12 mois).

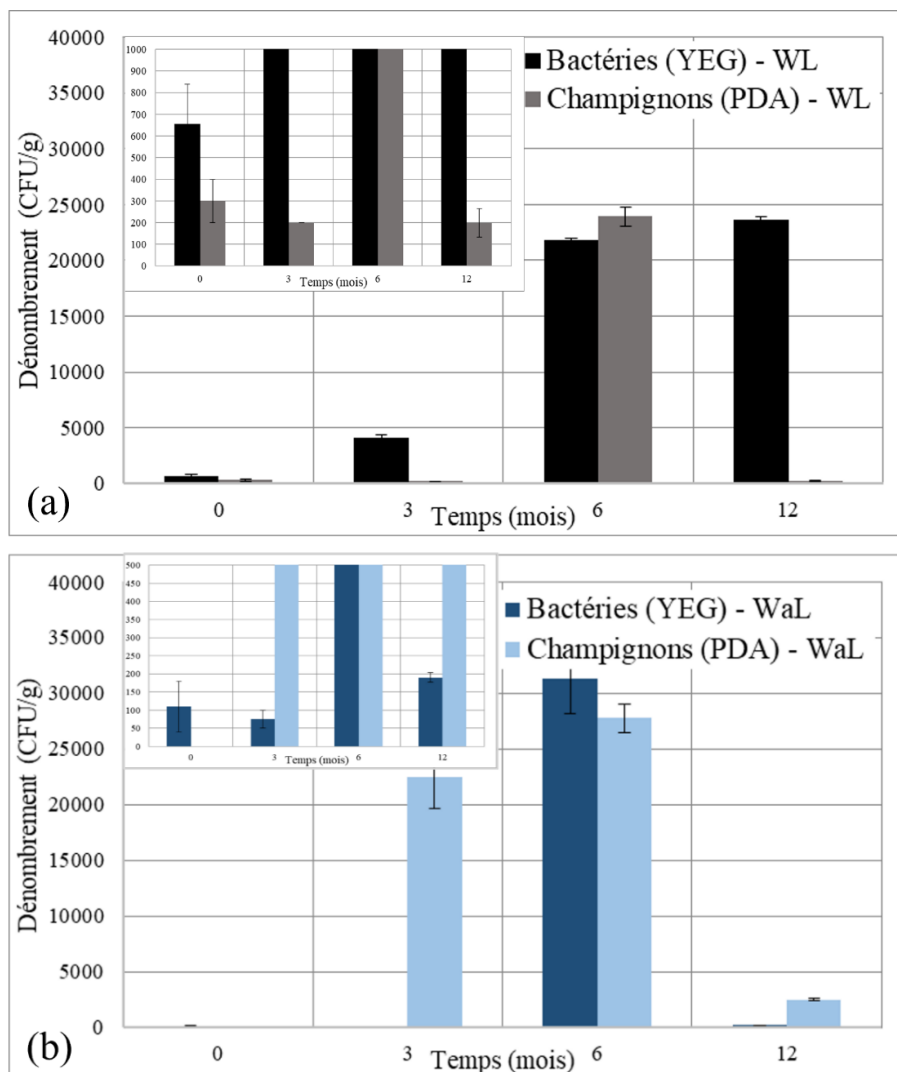


Figure 4. 1 : Évolution du nombre de microorganismes en CFU/g de matériau (moyenne \pm std, n=3) : bactéries (culture en milieu YEG) et champignons (culture en milieu PDA) cultivés sur (a)WL, (b) WaL à 0, 3, 6 et 12 mois de vieillissement accéléré

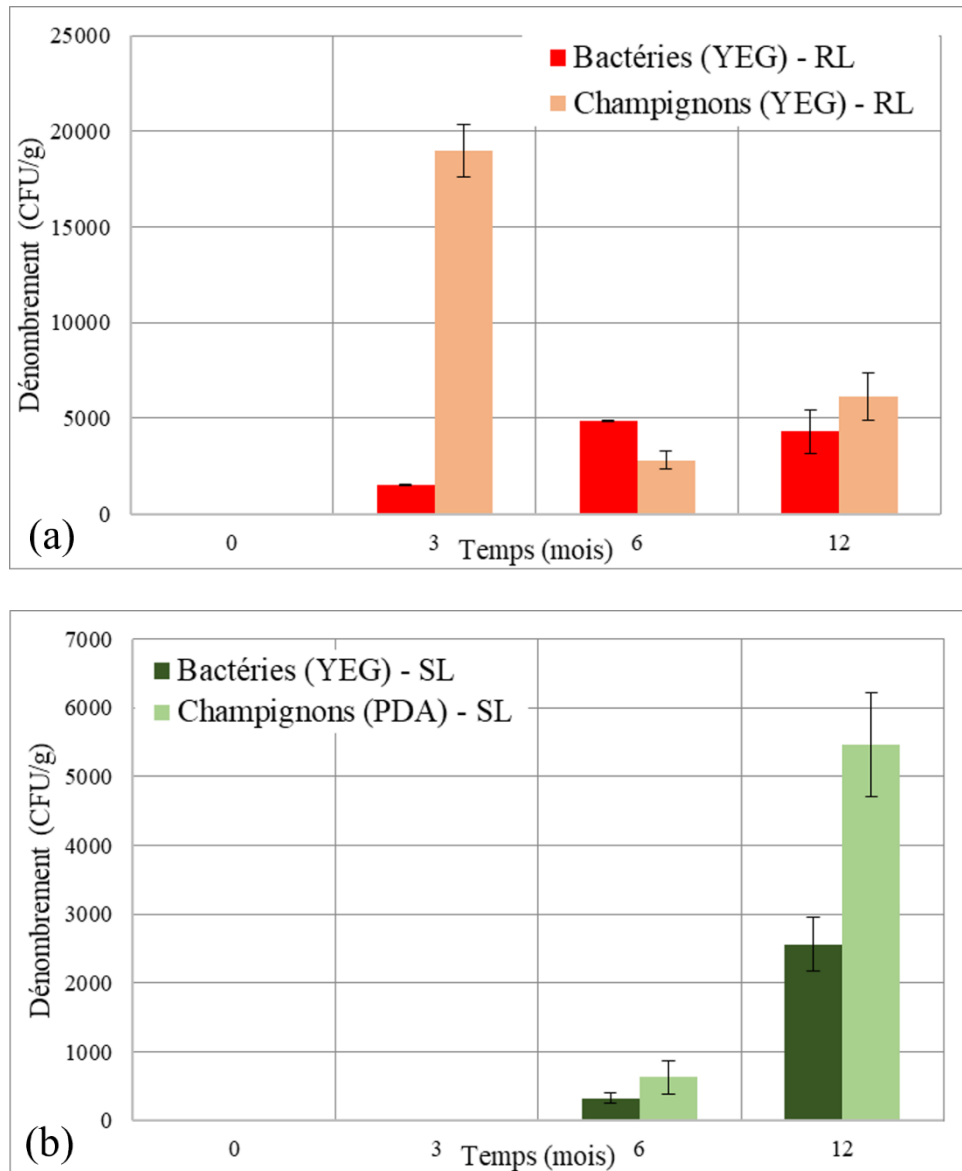


Figure 4. 2 : Évolution du nombre de microorganismes en CFU/g de matériau (moyenne \pm std, n=3) : bactéries (culture en milieu YEG) et champignons (culture en milieu PDA) cultivés sur (a) RL et (b) SL à 0, 3, 6 et 12 mois de vieillissement accéléré

Le matériau WL n'a pas montré une contamination par des microorganismes au début de vieillissement accéléré. Cependant, une croissance progressive de bactéries a été observée, passant à 4075 CFU/g, 21800 CFU/g et 23660 CFU/g après 3, 6 et 12 mois respectivement. Cependant, le comportement des champignons a été différent des bactéries. Une croissance des champignons (23950 CFU/g) a été observée après 6 mois de vieillissement accéléré. L'augmentation du nombre des microorganismes est probablement associée à la présence d'une quantité suffisante de nutriments nécessaire à leur prolifération [217].

Le matériau WaL n'a pas montré une contamination par des bactéries ou des champignons à 0 mois et n'a pas développé de bactéries à 3 mois. À 6 mois, le nombre de bactéries a fortement augmenté atteignant 31300 UFC/g, puis a diminué à 190 UFC/g à 12 mois. Pour ce même matériau, entre 0 et 6 mois, une croissance progressive des champignons a été observée, en atteignant 22450 UFC/g à 3 mois et 27750 UFC/g à 6 mois. Cette augmentation a été suivie

d'une diminution considérable à 12 mois, avec 2500 UFC/g. La diminution du nombre des microorganismes peut être attribuée à l'épuisement des réserves nutritives au sein du matériau [217]. En plus, cette diminution peut résulter également de la capacité de charge maximale en microorganismes tolérée par le matériau [35] [101].

En ce qui concerne le biocomposite RL, son comportement est similaire à celui de WaL à 0 mois à savoir aucun microorganisme n'est cultivé. Cela a ensuite suivi une variation dynamique à 3, 6 et 12 mois. Le nombre de bactéries a augmenté progressivement à 1550 UFC/g et 4866 UFC/g après 3 et 6 mois respectivement. Ce nombre a ensuite diminué après 12 mois pour atteindre 4300 UFC/g. Sur ce même matériau, l'évolution du nombre de champignons n'est pas la même que celle des bactéries. En effet, le nombre de champignons a fortement augmenté à 18966 UFC à 3 mois, ensuite il a diminué à 2800 UFC/g à 6 mois et enfin il a réaugmenté à 6133 UFC/g à 12 mois de vieillissement accéléré. En revanche, SL n'a pas montré de développement de bactéries ou de champignons à 0 et 3 mois. Au cours du temps, ce matériau a connu une évolution progressive des microorganismes, avec une concentration de 326 UFC/g de bactéries et 633 UFC/g de champignons à 6 mois, puis une augmentation à 2560 UFC/g de bactéries et 5466 UFC/g de champignons à 12 mois. Il convient de souligner le mécanisme de retard de développement microbien sur le matériau. En effet, ce retard correspond probablement à la phase d'adaptation des microorganismes à leur nouveau substrat [207].

Les quatre biocomposites étudiés ont montré une augmentation progressive en termes de bactéries (YEG) et de champignons (PDA) après la conservation des échantillons dans des conditions de vieillissement accéléré favorable à la croissance microbienne, à une température de 30°C et une humidité relative de 90% ($\pm 3\%$). Les quatre biocomposites n'ont pas montré un développement des microorganismes à 0 mois de vieillissement. En effet, tous les granulats étudiés ont montré une croissance des microorganismes à 0 mois et cela est due aux conditions de leur stockage. Cependant, l'utilisation de la chaux comme un liant hydraulique, présente un effet biocide désinfectant sur les microorganismes présents dans les granulats de départ, grâce à l'augmentation de pH du matériau [214].

En comparant les deux biocomposites WL et WaL, il est remarquable à noter qu'ils sont fortement contaminés par des microorganismes après 6 mois de vieillissement. De plus, le matériau WaL est plus contaminé que WL à cause de la présence des deux additifs d'origine animale qui sont l'hémoglobine et la caséine. Par ailleurs, en comparant les deux autres biocomposites, RL, le matériau composé par le colza et la chaux, est plus contaminé par des microorganismes que SL, celui formé par le mélange écorce-moelle de tournesol et la chaux.

4.2.2. Effet de l'hémoglobine et de la caséine sur la croissance microbienne sur les biocomposites paille-additifs (WaL)

Le dénombrement des bactéries et des champignons réalisés sur les quatre biocomposites, révèle de manière remarquable que le biocomposite WaL, composé de paille de blé, de chaux et des deux additifs d'origine animale, à savoir l'hémoglobine et la caséine, présente la plus forte contamination par les microorganismes après son exposition au vieillissement microbien accéléré. Afin de mettre en évidence l'effet de ces deux additifs, quatre biocomposites ont été préparés : (1) le premier (WL), déjà défini dans le chapitre 2, basé sur la paille de blé et la

chaux, sans les deux additifs ; (2) le deuxième (WaL), également défini dans le chapitre 2, basé sur la paille de blé, la chaux et les deux additifs combinés, l'hémoglobine et la caséine ; (3) le troisième (WLC), basé sur la paille de blé, la chaux et la caséine seule utilisée avec un pourcentage massique de 2,5% par rapport à la chaux ; (4) le quatrième et dernier (WLH), basé sur la paille de blé, la chaux et l'hémoglobine également utilisé seul, avec un pourcentage massique de 5% par rapport à la chaux. Les quatre biocomposites préparés ont été soumis aux mêmes conditions du vieillissement accéléré pour une période de 6 mois. Les Figure 4. 3a et b présentent respectivement l'évolution du nombre de bactéries et de champignons, cultivables sur les quatre biocomposites étudiés (WL, WLC, WLH et WaL), en fonction du temps d'exposition au vieillissement accéléré (0, 3 et 6 mois).

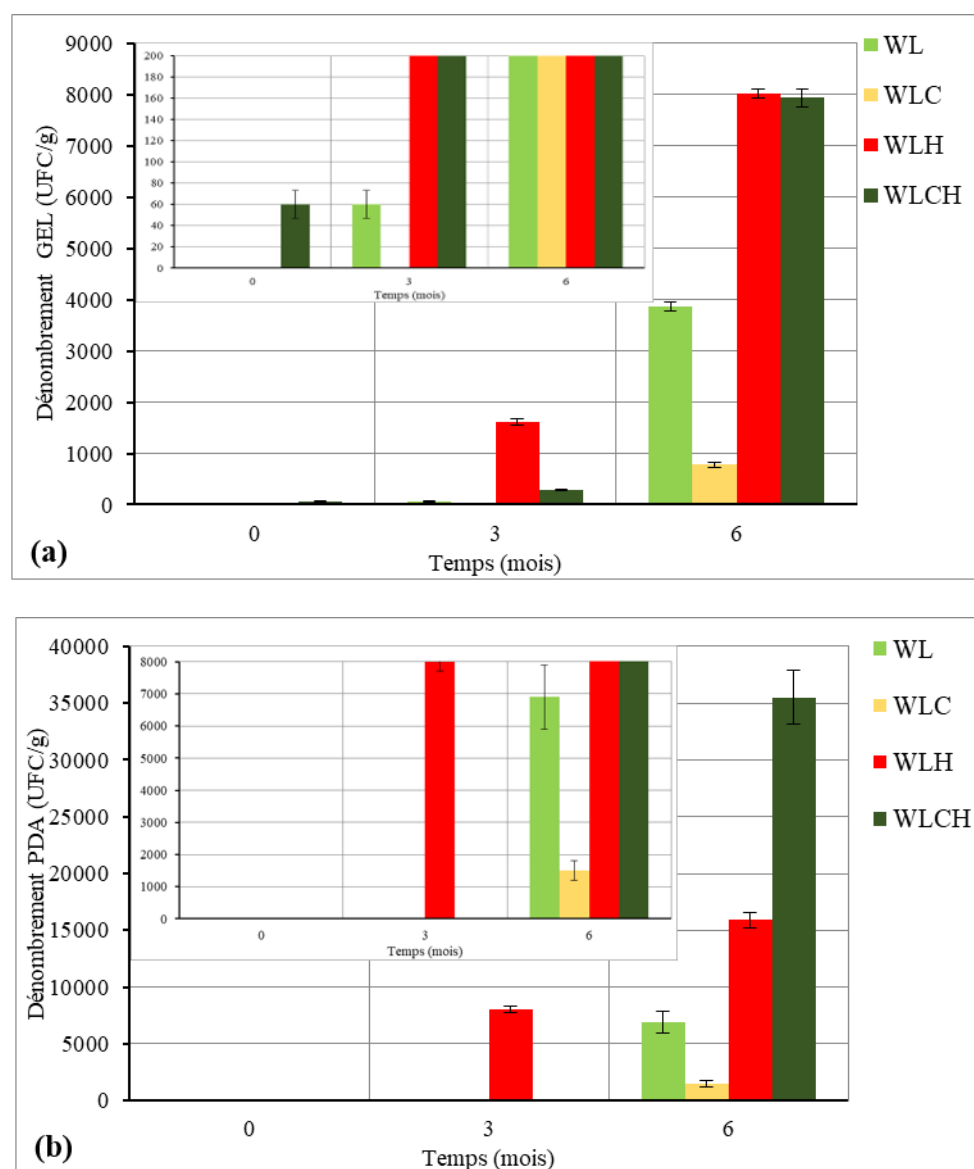


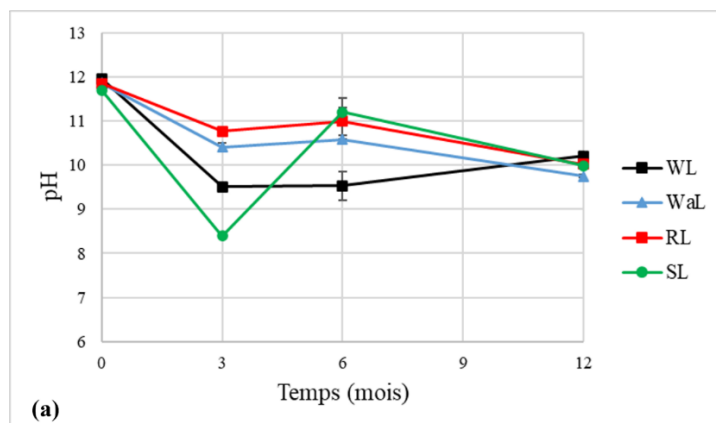
Figure 4. 3 : Évolution du nombre de microorganismes en CFU/g de matériau (moyenne \pm std, n=3) : (a) bactéries (culture en milieu YEG) et (b) champignons (culture en milieu PDA) cultivés sur WL, WLC, WLH et WaL à 0, 3 et 6 mois de vieillissement accéléré

Les résultats de dénombrement ont montré que les quatre matériaux étudiés présentent une croissance de microorganismes après 6 mois de vieillissement microbien accéléré. Ces

matériaux ont développé davantage de champignons que de bactéries. En effet, à 6 mois, WLC, WLH et WaL ont développé respectivement 1500, 15900 et 35500 UFC de champignons par gramme de matériau. Par ailleurs, ces mêmes matériaux ont développé moins de bactéries à cette échéance, à savoir 780, 8010 et 7940 UFC/g. La comparaison des matériaux à 6 mois montre que celui contenant exclusivement de l'hémoglobine (WLH) ou mélangée à la caséine (WaL), a permis le développement de plus de bactéries et des champignons que le matériau sans additifs (WL) ou celui contenant uniquement la caséine (WLC). Par conséquent, ces résultats mettent en évidence le rôle crucial de l'hémoglobine en tant qu'additif favorisant le développement microbien dans les biocomposites étudiés. Il semble que la présence d'hémoglobine stimule la prolifération des microorganismes, en particulier des champignons, conduisant ainsi à une augmentation significative des populations à 6 mois. En effet, l'hémoglobine est composé de plusieurs chaînes polypeptidiques contenant des acides aminés comme la lysine, la valine et la leucine [218]. Ces acides aminés possèdent deux groupes fonctionnels : un groupement amine (NH_2) et un groupement carboxyle (COOH) mais la structuration diffère les uns des autres. La lysine a une chaîne latérale longue composée de quatre CH_2 et se termine par une fonction amine (NH_2) [219]. La valine a une chaîne latérale ramifiée et symétrique : $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ [220]. Quant à la leucine, elle présente une chaîne latérale ramifiée : $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$ [221]. Ces acides aminés peuvent donc constituer une source de nutriments pour les microorganismes. Certaines bactéries dépendent des acides aminés pour leur croissance car elles ne peuvent pas les synthétiser à partir des sources azotées plus simples [222].

4.2.3. Evolution du pH et de la conductivité électrique pendant la croissance microbienne

Les dénombrements de bactéries et de champignons cultivables sur les quatre matériaux étudiés dans les conditions choisies ont montré des comportements différents caractérisés par des variations dynamiques de l'évolution du nombre de ces microorganismes au fil du temps. Ces variations peuvent être dues en particulier à des variations de pH [121] et de la conductivité électrique (CE) [210], deux paramètres ayant un rôle important dans le processus de croissance microbienne. En général, les microorganismes montrent une préférence pour un pH neutre. Par ailleurs, d'après les études de (Mainelis et al., 2001) [210], une conductivité électrique élevée peut entraîner une inhibition du développement microbien. Afin de mieux comprendre ces influences, ces deux paramètres ont été mesurés pendant un an et sont présentés dans la Figure 4. 4.



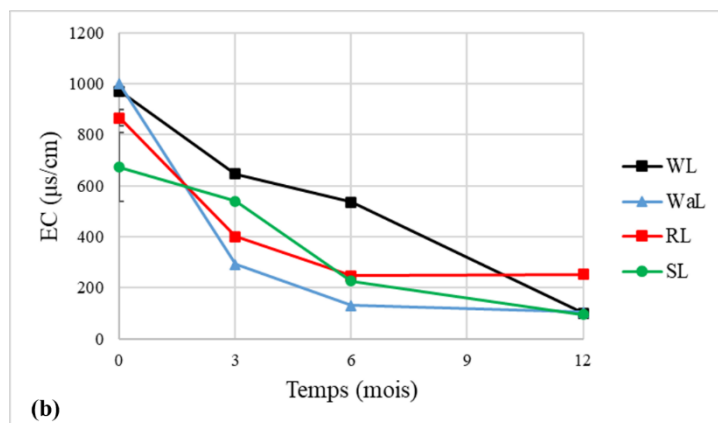
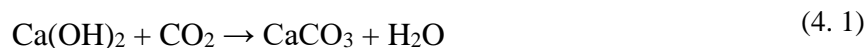


Figure 4. 4 : Evolution du (a) pH (moyenne \pm écart-type ; $n=3$) et de (b) la conductivité électrique EC (moyenne \pm écart-type ; $n=3$) de l'eau d'infusion des quatre biocomposites WL, WaL, RL et SL à 0, 3, 6 et 12 mois de vieillissement accéléré

L'évolution du pH (de l'eau d'infusion) a montré différentes variations entre les quatre biocomposites et en fonction du temps. Au début à l'état initial (0 mois), les quatre biocomposites ont quasiment le même pH (11,96 ; 11,86 ; 11,85 et 11,70 pour WL, WaL, RL et SL respectivement). Au cours du temps, WL, WaL et RL ont connu une diminution progressive du pH, atteignant respectivement des valeurs de 10,2, 9,75 et 10,02 à 12 mois. En revanche, SL a initialement connu une diminution significative du pH à 8,39 à 3 mois, suivie d'une augmentation à 11,2 à 6 mois. Cependant, il a ensuite subi une diminution, atteignant un pH de 9,98 à 12 mois. La variation dynamique du pH entre 0 et 12 mois peut entraîner un changement de l'environnement chimique qui peut influencer la croissance et l'activité des microorganismes présents dans le matériau. En général, les quatre matériaux ont montré une diminution du pH entre 0, 6 et 12 mois. Cette diminution est probablement liée à la carbonatation de la chaux [223] [224]. La chaux, qui est une forme d'oxyde de calcium (CaO) ou d'hydroxyde de calcium (Ca(OH)₂), est un milieu alcalin avec un pH élevé, c'est-à-dire qu'elle est basique. Lorsque la chaux entre en contact avec le CO₂ de l'air, une réaction chimique se produit, qui peut être représentée par l'équation (4. 1) :



Dans cette réaction, la chaux réagit avec le dioxyde de carbone pour former du carbonate de calcium (CaCO₃) et de l'eau (H₂O). Le carbonate de calcium est un composé solide qui est insoluble dans l'eau, ce qui signifie qu'il précipite sous forme de particules solides. Par conséquent, la présence de dioxyde de carbone atmosphérique provoque une diminution du pH de la chaux en libérant de l'eau et en formant du carbonate de calcium, qui est neutre. Le pH diminue car les ions hydroxydes (OH⁻) de la chaux sont consommés dans la réaction et se convertissent en molécules d'eau, réduisant ainsi la basicité de la solution [224].

La conductivité électrique a également montré une diminution progressive entre 0 et 12 mois, passant de 971 µS/cm à 100 µS/cm (-89,7%) pour WL, de 966 µS/cm à 82,3 µS/cm (-91,4%) pour WaL, de 865,66 µS/cm à 252,06 µS/cm (-70,88%) pour RL, et de 673,33 µS/cm à 95,73 µS/cm (-85,73%) pour SL. Cette diminution de la conductivité électrique est probablement liée au phénomène de carbonatation de la chaux [224]. Par conséquent, la diminution de la conductivité électrique des biocomposites étudiés ici, en fonction du temps de vieillissement

accélééré, a favorisé un environnement propice au développement microbien. En effet, cette diminution de la conductivité électrique peut être corrélée à une augmentation du nombre de microorganismes, comme cela est mis en évidence dans le test de dénombrement [211].

4.3. Observations des microorganismes : visuelle et microscopique par Cryo-HRSEM

La Figure 4. 5 montre l'évolution visuelle du développement des microorganismes sur les quatre biocomposites étudiés, pendant leur exposition à des conditions de vieillissement accéléré de croissance microbienne, à deux temps différents de suivi (0 et 12 mois).

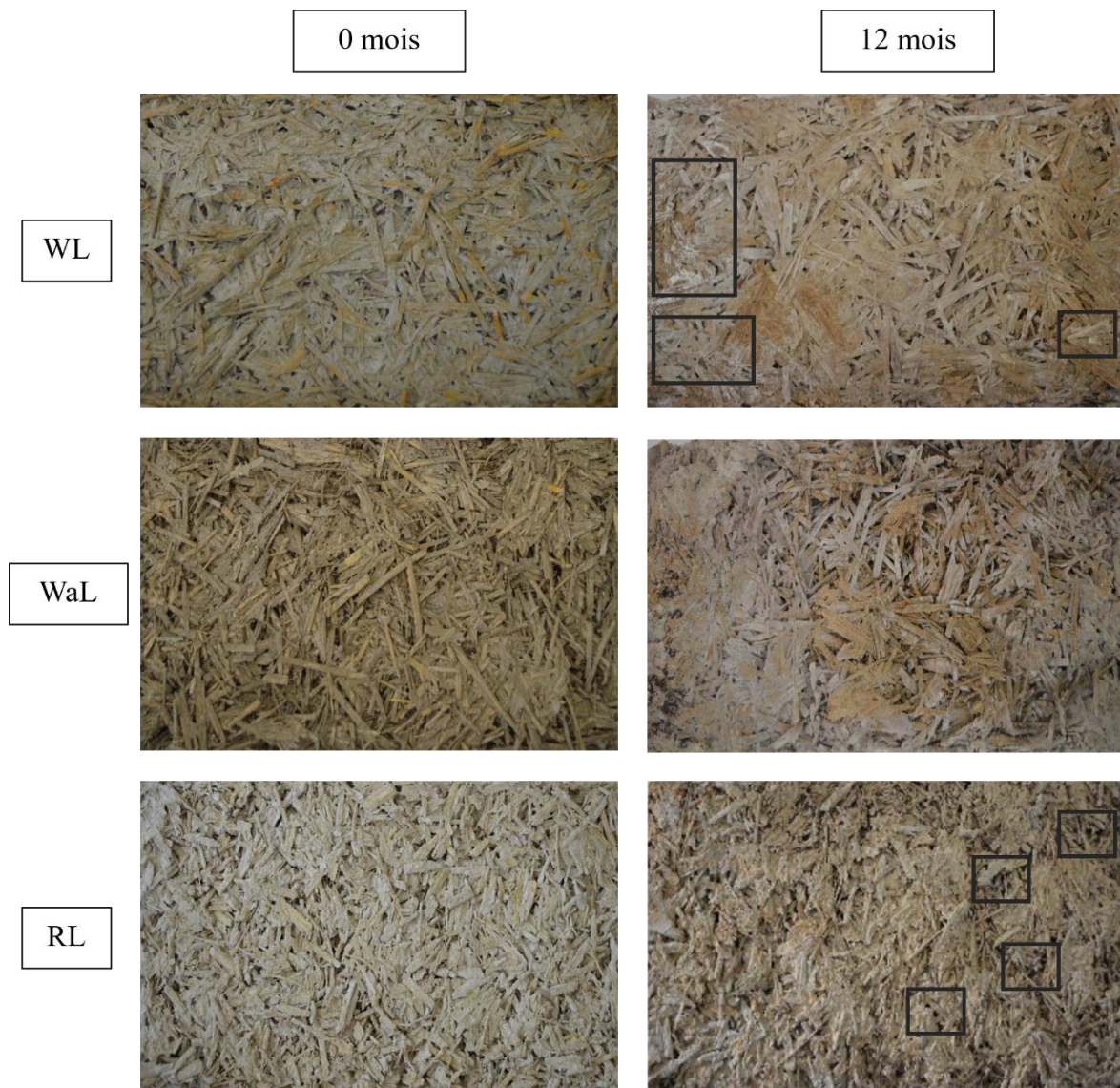




Figure 4. 5 : Suivi du développement des microorganismes sur les biocomposites WL, WaL, RL et SL à 0 et 12 mois de vieillissement microbien. Les cadres sur WL montrent la couche de microorganismes et ceux sur RL et SL montrent les microorganismes sous forme de taches grises et de points noirs

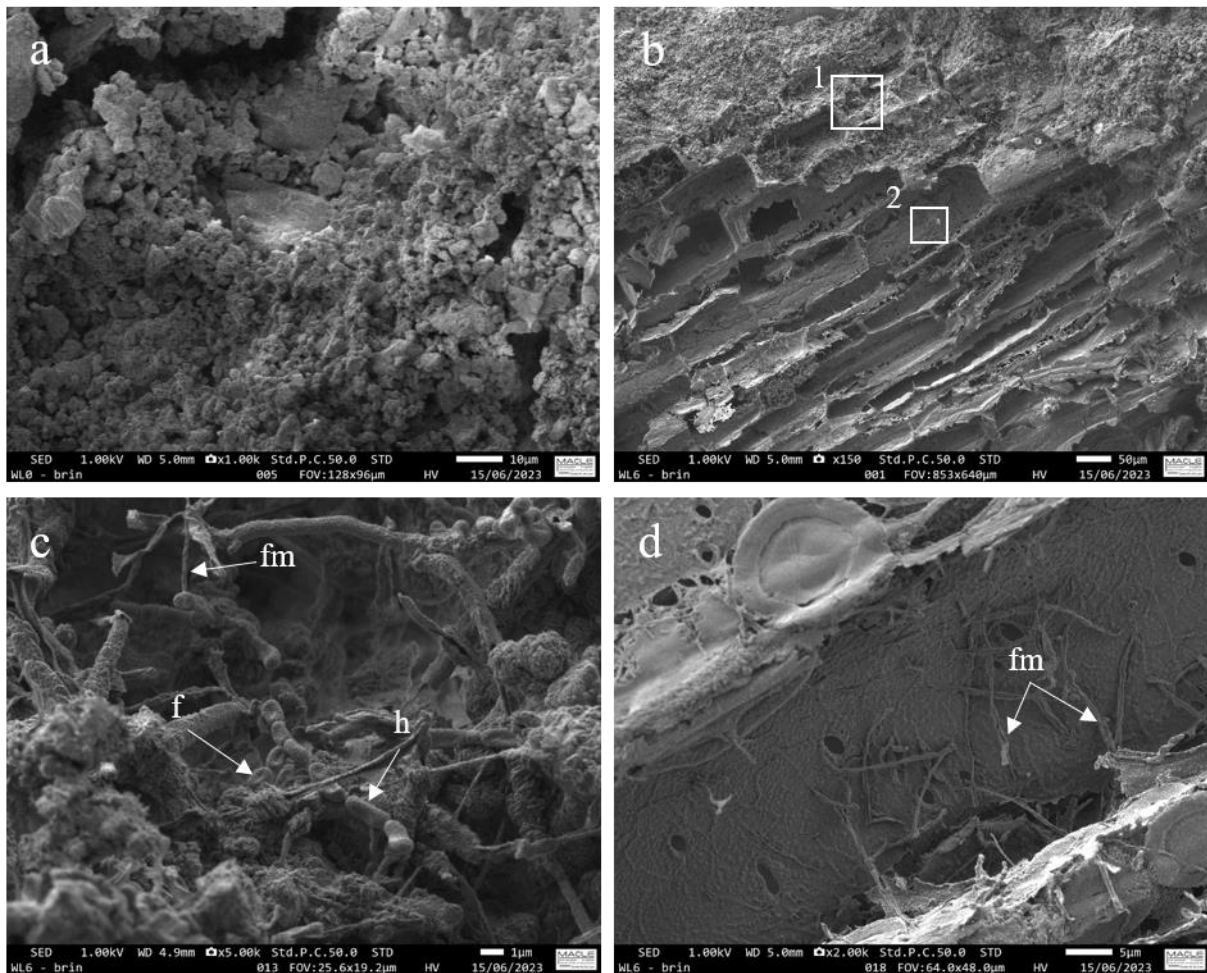
L'aspect visuel des quatre biocomposites a révélé un développement de microorganismes avec des tendances différentes en fonction des matériaux et de la durée d'exposition au vieillissement accéléré. Les biocomposites WL et WaL ont montré un développement de microorganismes sous forme d'une couche de couleur grise, plus épaisse pour WaL, qui recouvre l'intégralité de sa surface. Concernant l'aspect visuel des biocomposites RL et SL après les incubations, quelques microorganismes sous forme de petites taches grises et de points noirs sont apparus à la surface après 12 mois. Ces tâches et points ont entraîné un changement de couleur accru du matériau. Selon (Flemming, 1998) [225], les dommages indirects causés par les microorganismes se traduisent par un changement de couleur dû à l'excrétion de pigments microbiens. (Tomaselli, 2002) [113] a montré que le développement des biofilms microbiens sur des substrats inorganiques, altère la couleur originale et l'aspect du matériau, avec leurs pigments variés. Les champignons de couleur sombre peuvent jouer un rôle significatif dans la coloration et la biodétérioration du patrimoine culturel. [226]. Les algues bleues, également connues sous le nom de cyanophycées, sont des microorganismes capables de se développer sur des pierres de construction. Bien qu'elles ne causent pas directement de biodétérioration, leur présence peut avoir un impact esthétique en raison des pigments qu'elles produisent [227].

Les Figure 4. 6, Figure 4. 7, Figure 4. 8 et Figure 4. 9 présentent les images obtenues par Cryo-HRSEM des biocomposites WL, WaL et RL, à 0 et 6 mois et SL à 0 et 12 mois de vieillissement microbien accéléré. Le but de ces observations est de visualiser le développement des microorganismes et d'examiner leur influence sur les biocomposites à une échelle microscopique afin de confirmer les résultats de dénombrement et de détecter toutes signes de dégradation telles que les microfissures ou les cavités, au sein de la microstructure. Cette approche permet d'obtenir une vision plus approfondie des interactions entre les microorganismes et les matériaux, fournissant ainsi des informations cruciales telles que la diversité des microorganismes, leur forme, leur aspect et leur taille.

4.3.1. Sur le biocomposite WL

Le biocomposite à base de paille de blé et de chaux (WL) n'a montré aucune présence de microorganismes initialement à 0 mois, avant leur exposition au vieillissement microbien (Figure 4. 6a). Par comparaison au granulat de paille de blé (WS) qui est fortement contaminé à ce stade (Figure 3. 7a), les cristaux de chaux, enrobant les granulats de WL, ont probablement

éliminé les microorganismes déjà présents. Après 6 mois d'exposition au vieillissement accéléré, une prolifération significative de microorganismes s'est produite (Figure 4. 6b). Trois principaux types des organismes microbiens ont été observés (Figure 4. 6c) : (1) des spores fongiques (f) ressemblant à ceux observés sur le granulat seul (comparé avec la Figure 3. 7d) ; (2) des hyphes fongiques en chaines, de taille de 2 micromètres environ et (3) des filaments microbiens, dont certains semblent être endommagés. Ces filaments (Figure 4. 6c et d) ressemblent à ceux observés sur le granulat seul (Figure 3. 7a). Des coupes transversales ont montré, à 0 mois, des alvéoles remplies par des cristaux de CaO provenant du liant, sans présenter de microorganismes (Figure 4. 6e). Néanmoins, à 6 mois (Figure 4. 6f), contrairement au granulat, des filaments ressemblant à des filaments fongiques, ont envahi quelques alvéoles (Figure 4. 6g et h).



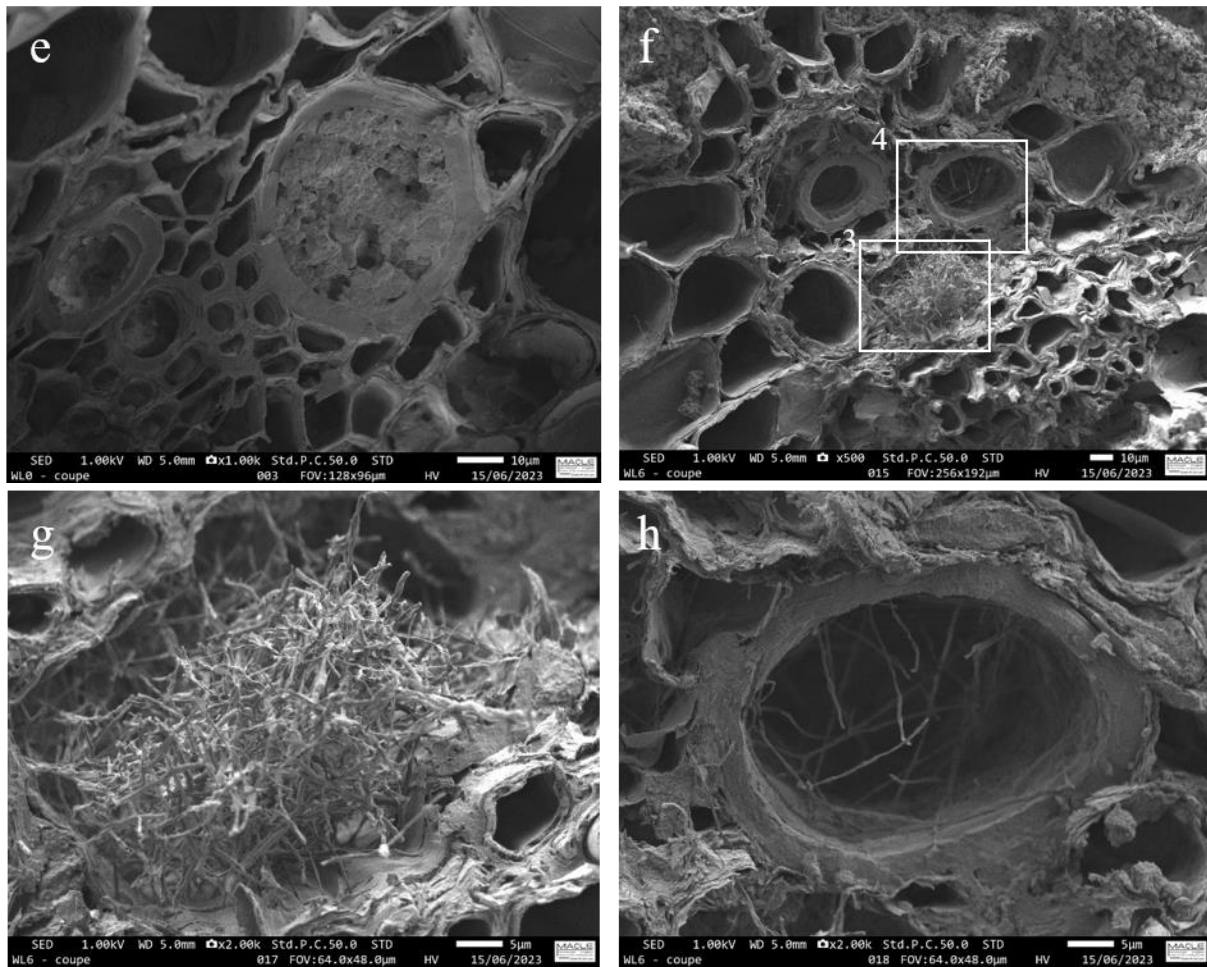
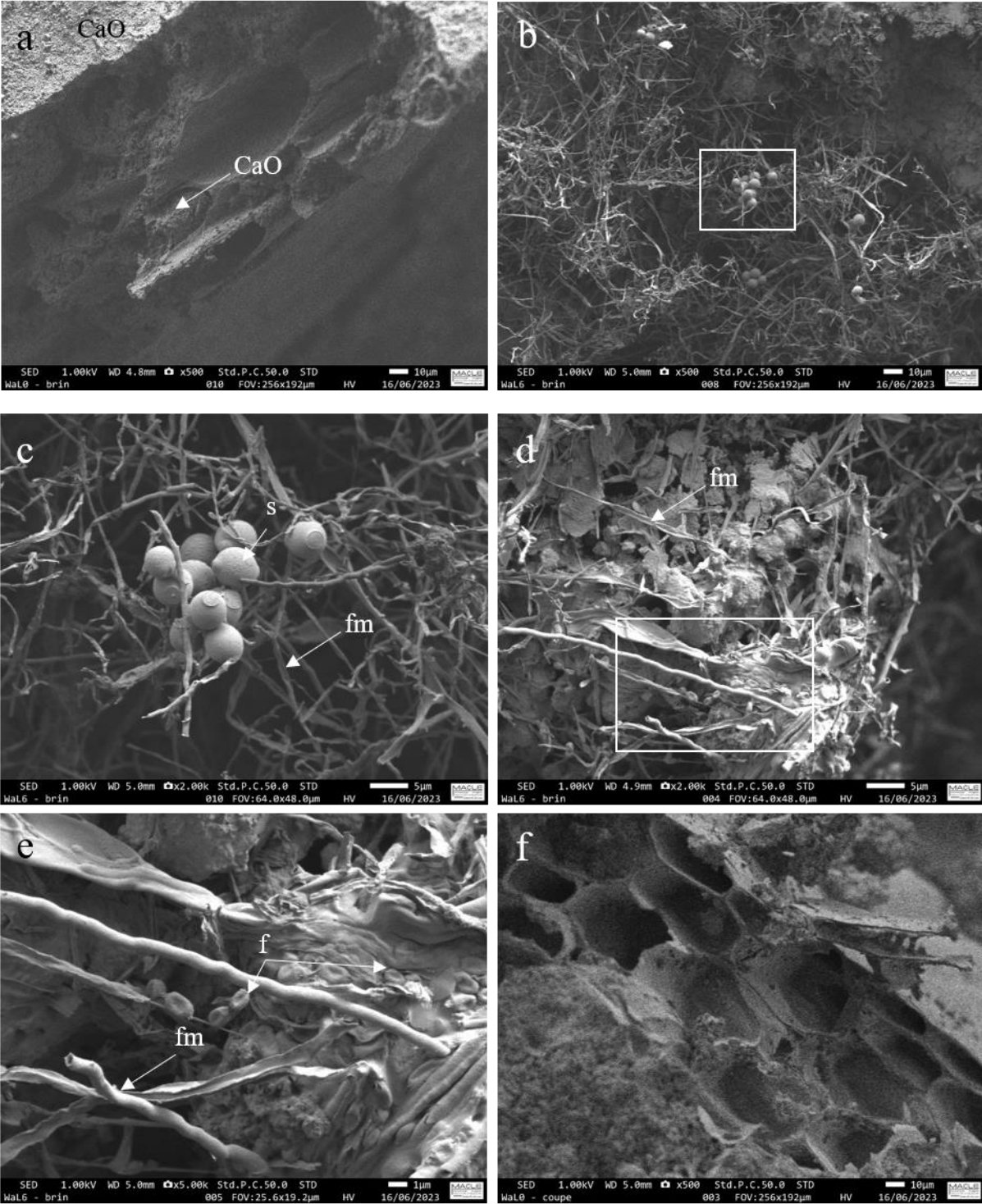


Figure 4. 6 : Images par Cryo-HRSEM biocomposite (WL): (a) vue de surface montrant des cristaux de CaO sans aucune présence de microorganismes à 0 mois, (b) vue de surface montrant la prolifération de filaments microbiens à 6 mois, (c) agrandissement de la zone 1 à 6 mois, montrant la prolifération des microorganismes (filaments microbien (fm), spores fongiques (f), hyphes fongiques (h)), (d) agrandissement de la zone 2 à 6 mois, montrant la prolifération des filaments microbien (fm), (e) coupe transversale à 0 mois, (f) coupe transversale à 6 mois, (g) et (h) agrandissement de la zone 3 et 4 respectivement montrant des alvéoles envahies par de microorganismes filamenteux

4.3.2. Sur le biocomposite WaL

Le biocomposite à base de paille de blé, de chaux et des deux additifs (hémoglobine et caséine) (WaL) n'a montré aucune présence de microorganismes à 0 mois de vieillissement microbien (Figure 4. 7a). Après 6 mois de vieillissement, une prolifération importante de microorganismes s'est produite (Figure 4. 7b). Trois principaux types de microorganismes ont été observés : (1) des sphères fongiques (s) (Figure 4. 7c) ressemblant à des citrons, de l'ordre de 5 micromètres de diamètre ; (2) des filaments microbiens (Figure 4. 7c et d) ressemblent à celles observées sur le granulats seul (comparé avec la Figure 3. 7a) et (3) des spores fongiques (f) (Figure 4. 7e) ressemblant à celles observées sur le granulats (comparé avec la Figure 3. 7d), endommagées de l'extérieur. Les coupes transversales n'ont également montré aucun microorganisme, à 0 mois ; des alvéoles sont fermées par des cristaux de CaO provenant du liant (Figure 4. 7f). A 6 mois, les alvéoles du biocomposite sont remplies et envahies par des filaments ressemblant à des filaments fongiques (Figure 4. 7g) et par des sphères fongiques (s) semblant endommagées (Figure 4. 7h).



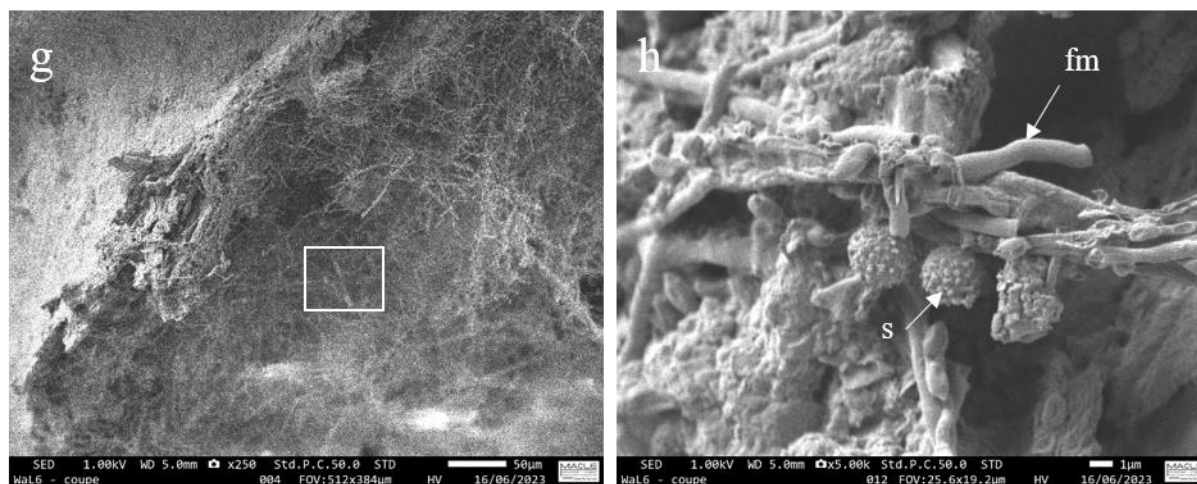


Figure 4. 7 : Images par Cryo-HRSEM du biocomposites (WaL): (a) vue de surface montrant des cristaux de CaO sans aucun présence de microorganismes à 0 mois, (b) vue de surface montrant la prolifération de microorganismes à l'intérieur du brin à 6 mois, (c) agrandissement à 6 mois de (b), montrant la prolifération des microorganismes (filaments microbien (fm), sphères fongiques (s)), (d) vue de surface montrant la prolifération de microorganismes à l'extérieur du brin à 6 mois, (e) agrandissement à 6 mois de (d), montrant la prolifération des microorganismes (filaments microbien (fm), spores fongiques (f)), (f) coupe transversale à 0 mois, (g) coupe transversale à 6 mois, montrant la prolifération des microorganismes et (h) agrandissement de (g), montrant la prolifération des microorganismes (filaments microbien (fm), sphères fongiques (s))

4.3.3. Sur le biocomposite RL

Le biocomposite à base de paille de colza et de chaux (RL) n'a montré aucune présence de microorganismes à 0 mois comme les deux précédents, avant leur exposition au vieillissement microbien (Figure 4. 8a). Après 6 mois d'exposition au vieillissement accéléré, une prolifération de microorganismes s'est produite (Figure 4. 8b). Trois principaux types de composants microbiens ont été observés. Tout d'abord, les spores fongiques (Figure 4. 8b et d), dont certaines semblent être endommagées (Figure 4. 8d). La présence de la chaux dans le biocomposite a provoqué un endommagement de la surface des microorganismes. Deuxièmement, les hyphes sont présents (voir Figure 4. 8c) ressemblant à ceux observés sur le granulats seul (par comparaison avec Figure 3. 8a et b). La Figure 4. 8c montre également des chaînes, dont certaines semblent être endommagées ressemblant à celles observées sur le granulats seul (comparé avec la Figure 3. 8b), évoquant des chaînes bactériennes ou des conidies fongiques. A 6 mois, les coupes transversales ont montré des filaments évocateurs de filaments fongiques, comme dans le granulats (Figure 3. 8e).

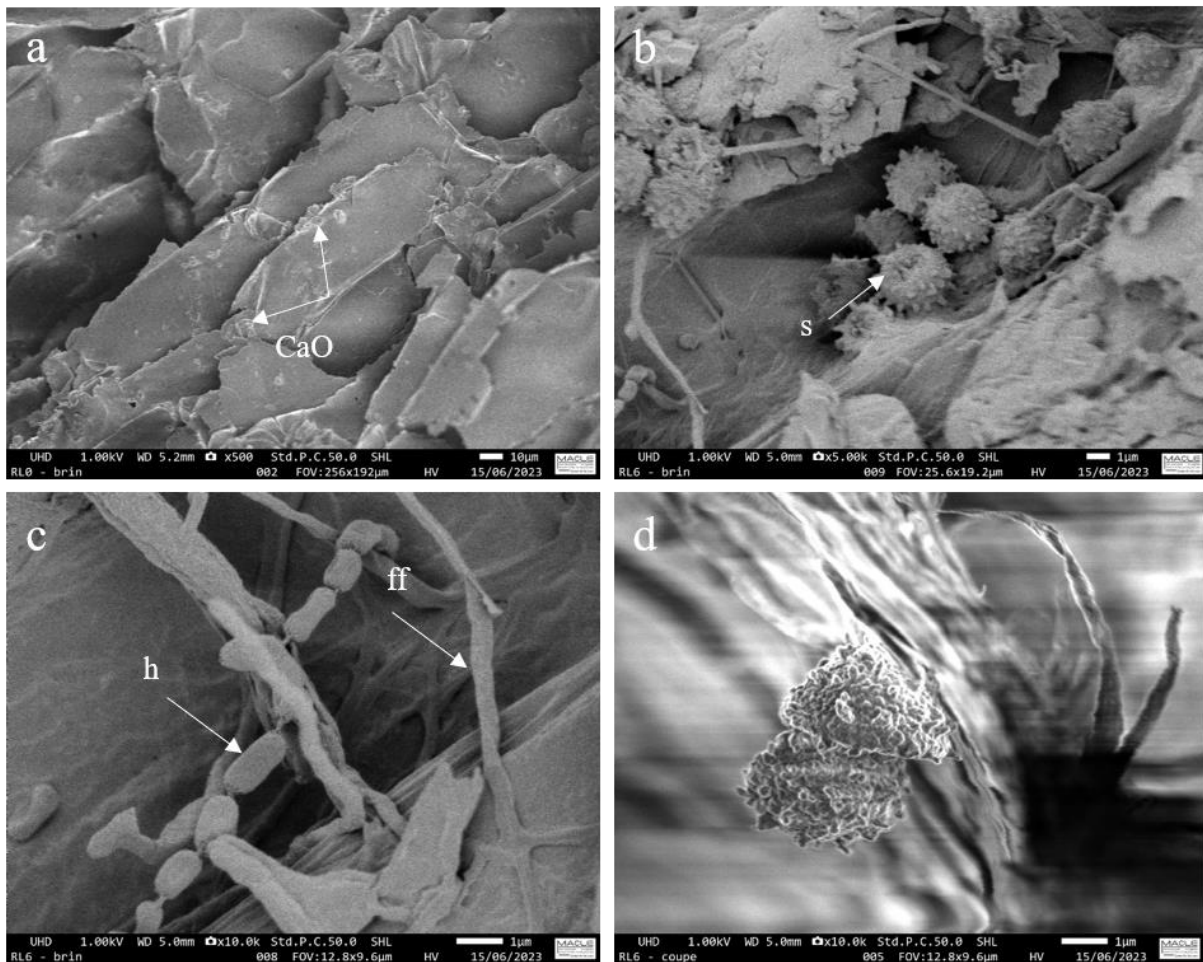


Figure 4. 8 : Images par Cryo-HRSEM du biocomposite (RL) : (a) vue de la surface à 0 mois, montrant l'absence de microorganismes et la présence d'amas granulaires de CaO (fléchés), (b) vue de la surface à 6 mois, montrant des sphères évoquant des spores fongiques (s), (c) vue agrandie des microorganismes présents à 6 mois, avec des probables des hyphes fongiques (h) et des filaments fongiques (ff), (d) microorganismes endommagés après 6 mois de vieillissement microbien

4.3.4. Sur le biocomposite SL

Le biocomposite SL, à base de granulats de tournesol, ne présente que quelques microorganismes à 0 mois, principalement sous forme de spores qui semblent généralement endommagées (Figure 4. 9a). La surface des spores semble également endommagée (Figure 4. 9b), en comparaison avec les spores associées aux granulats seuls (Figure 3. 10). C'est probablement l'ajout de la chaux qui semble être à l'origine de ces dommages des microorganismes. De plus, la contamination microbienne est apparue mineure par rapport à celle observée sur les granulats seuls (écorce et moelle de tournesol, qui ont été abondamment contaminés comme indiqué dans les Figure 3. 9 et Figure 3. 10).

Après 12 mois de vieillissement microbien, un développement de microorganismes a été observé sous forme de grappes de sphères associées à des filaments (Figure 4. 9c et d) ressemblant aux spores et aux hyphes fongiques présents dans la moelle de tournesol seule (comparer avec la Figure 3. 10). Les coupes transversales à 12 mois ont également révélé la présence de certains organismes filamenteux, probablement des champignons, dans les alvéoles. En revanche, la moelle de tournesol du biocomposite n'a montré aucun signe de

contamination microbienne à 0 mois (Figure 4. 9e), ou même après 12 mois de vieillissement microbien (Figure 4. 9f). Dans les deux cas, le développement microbien n'est pas aussi important que dans le cas des granulats seuls à 6 mois (comparé avec la Figure 3. 10c et d).

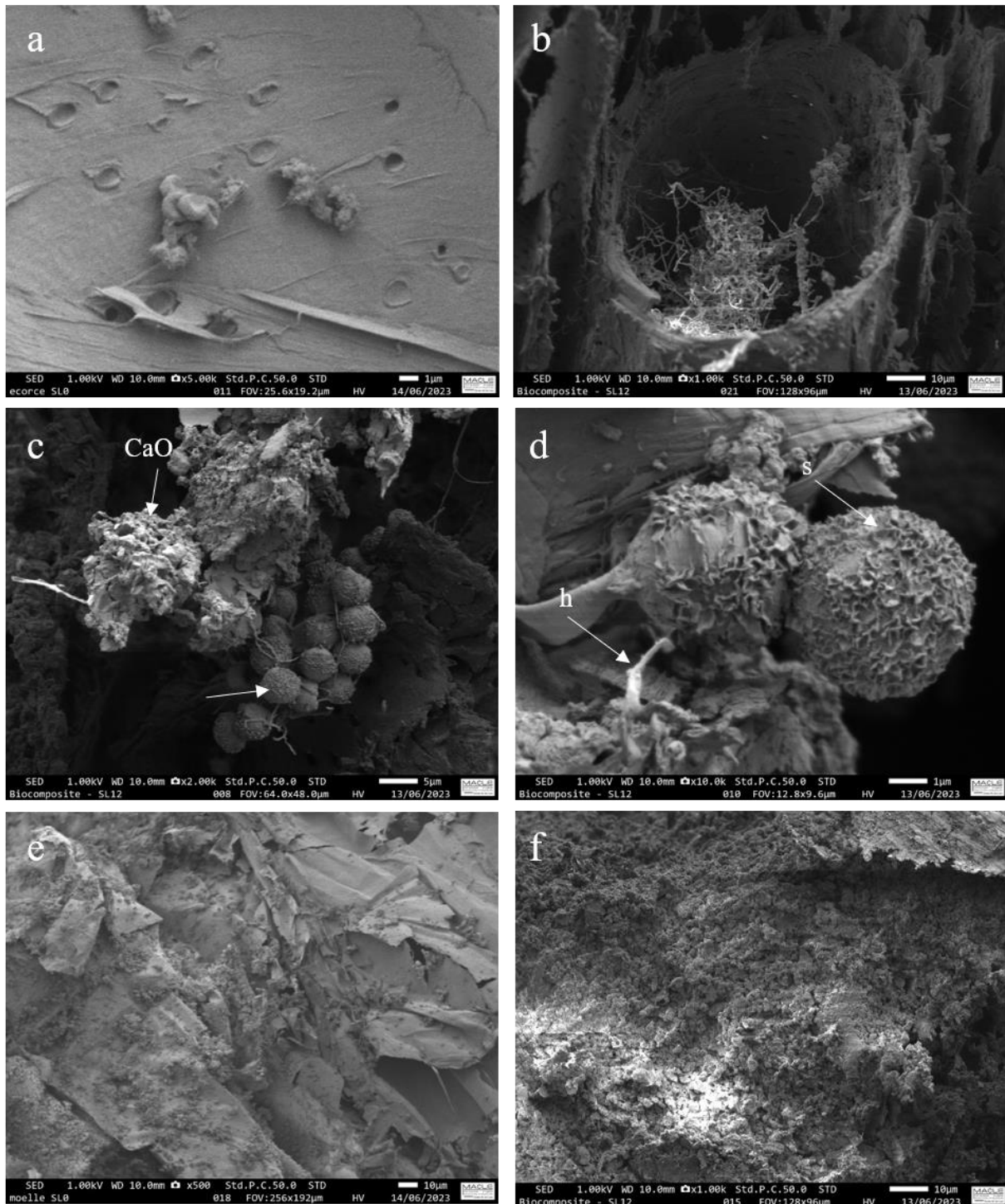


Figure 4. 9 : Images par Cryo-HRSEM de l'écorce du biocomposite (SL) : (a) vue de surface montrant l'écorce à 0 mois, (b) coupe transversale de l'écorce à 12 mois, montrant des alvéoles envahies par des filaments, (c) vue de la surface de l'écorce à 12 mois, montrant des spores (s) et des amas granulaires de CaO, (d) vue agrandie de l'écorce à 12 mois, montrant des hyphes (h) et des spores endommagées (s), (e) vue de surface de la moelle à 0 mois, couvert des amas granulaires de CaO et (f) vue de surface de la moelle à 12 mois, couvert également des amas granulaires de CaO

4.3.5. Comparaison des résultats : dénombrement des microorganismes, observations visuelles et microscopiques par Cryo-HRSEM

Les analyses par Cryo-HRSEM ont révélé que les biocomposites WL, WaL, RL ne montrent aucune contamination microbienne, contrairement au biocomposite SL qui présente un développement minimal de microorganismes à 0 mois avant le vieillissement microbien accéléré. Les observations visuelles ainsi que les dénombrements ont également démontré que les biocomposites étudiés ne sont pas contaminés par des microorganismes à ce stade.

Par comparaison avec les biocomposites, les quatre granulats, à l'exception de la paille de colza, ont montré des niveaux plus élevés de contamination bactérienne à 0 mois. L'ajout de chaux dans les biocomposites semble donc avoir un effet biocide sur les microorganismes préexistants dans les granulats. Cependant, cette élimination était temporaire, car le conditionnement microbien accéléré offrait un environnement optimal pour la croissance et le développement des microorganismes. En considérant les formes observées, les populations microbiennes présentes à 6 mois semblent principalement provenir des microorganismes préexistants dans les granulats, indiquant qu'il n'y avait pas de contamination externe lors de la manipulation et du traitement des échantillons. Il est important de noter que la présence de microorganismes sur les biocomposites est relativement plus faible par rapport aux granulats. Cela a également été démontré par le test de dénombrement, qui a montré la présence en plus grande nombre de bactéries et de champignons sur les granulats par rapport aux biocomposites.

4.4. Evolution des propriétés mécaniques et thermiques des biocomposites en fonction du développement microbien

L'étude de l'évolution des propriétés mécaniques et thermiques des biocomposites à base de granulats végétaux en fonction du développement microbien présente un intérêt important. En effet, en explorant comment les microorganismes influencent ces propriétés, nous pouvons améliorer la résilience et la durabilité de ces matériaux respectueux de l'environnement, ouvrant ainsi la voie à des applications plus larges dans les secteurs de la construction durable et de l'ingénierie écologique.

4.4.1. Résistance mécanique

Les Figure 4. 10 et Figure 4. 11 présentent l'évolution de la résistance mécanique respectivement sur les deux biocomposites WL et WaL à base de paille de blé et sur les deux autres biocomposites RL et SL, à base du colza et du tournesol, en fonction des quatre temps de suivi durant l'année de vieillissement accéléré (0, 3, 6 et 12 mois). Rappelons que les tests mécaniques ont été réalisés après avoir séché les échantillons testés à 60°C jusqu'à la stabilisation de leur masse pour étudier l'effet des microorganismes seul sans la teneur en eau.

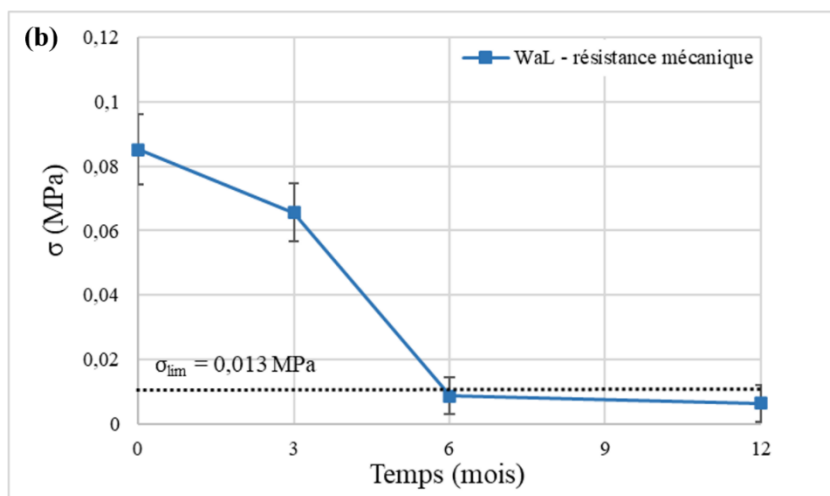
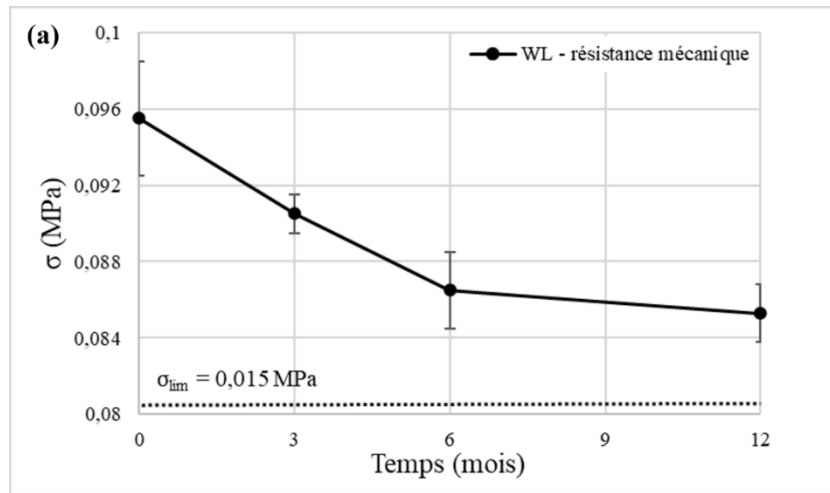
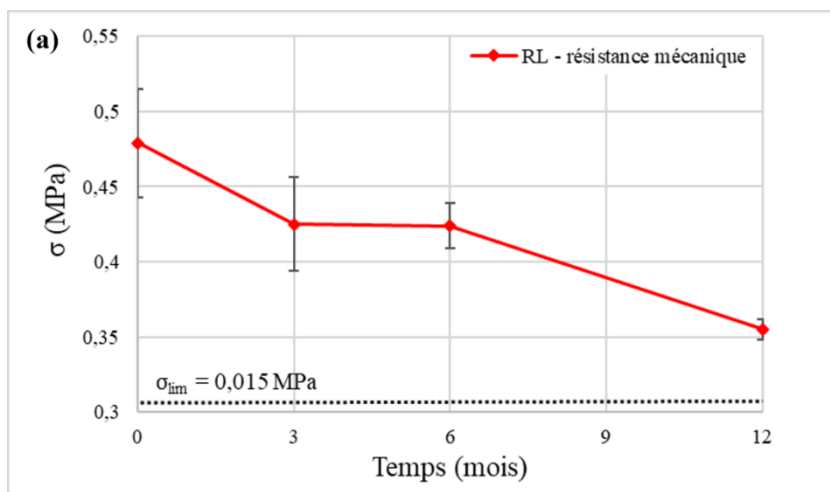


Figure 4. 10 : Evolution de la résistance mécanique (moyenne \pm std, $n=3$) de (a) WL et (b) WaL en fonction du temps de vieillissement microbien accéléré



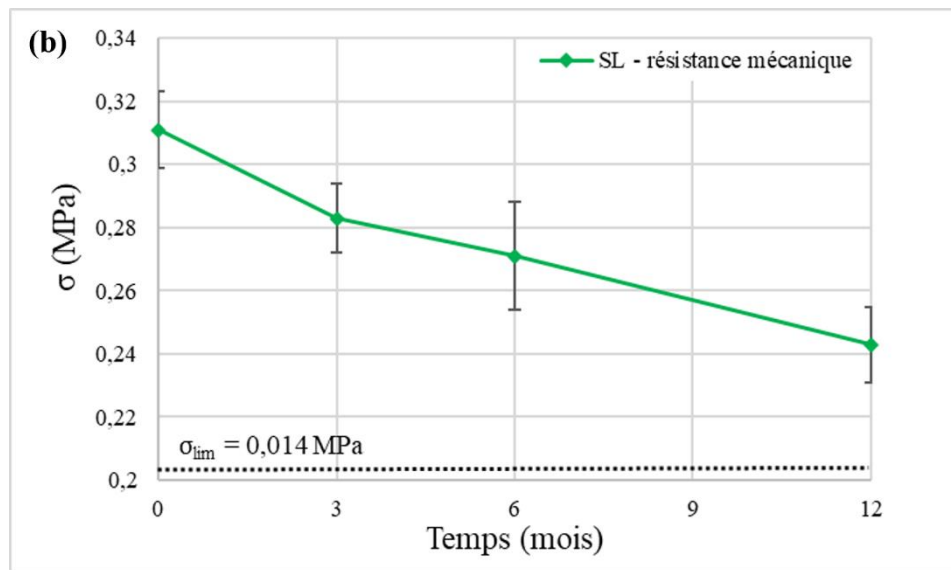


Figure 4. 11 : Evolution de la résistance mécanique (moyenne \pm std, n=3) de (a) RL et (b) SL en fonction du temps de vieillissement microbien accéléré

La résistance mécanique (σ) des quatre biocomposites WL, WaL, RL et SL a montré une diminution en fonction des temps d'exposition au vieillissement accéléré : la résistance mécanique de WL a diminué progressivement de 0,095 MPa à 0 mois, à 0,0905 MPa (-5,23%) après 3 mois, puis à 0,0865 MPa (-9,4%) après 6 mois et enfin à 0,0853 MPa (-10,68%) à 12 mois d'exposition au vieillissement accéléré favorable au développement des microorganismes. Concernant le biocomposite RL, la résistance mécanique a diminué de 0,479 MPa à 0,04245 MPa (-11,27%) entre 0 et 3 mois. Elle est restée constante entre 3 et 6 mois puis a diminué à nouveau jusqu'à 0,355 MPa (-25,88%) à 12 mois. Pour le biocomposite SL, la résistance a diminué progressivement de 0,311 MPa à 0,283 MPa (-9%), puis à 0,271 MPa (-12,86%) et enfin à 0,241 MPa (-22,5%) respectivement à 0, 3, 6 et 12 mois. Contrairement aux trois autres matériaux qui n'ont pas montré d'importante diminution de σ entre 0 et 12 mois (une diminution de 10,68% pour WL, 25,88% pour RL et 22,5% pour SL), WaL a montré une diminution considérable après 6 mois d'exposition au vieillissement accéléré. La résistance mécanique est passée de 0,0852 MPa à une moyenne de 0,0077 MPa (-90,9%) à 6 mois et est restée constante jusqu'à 12 mois. En comparant le comportement des quatre matériaux, il apparaît que la diminution de la résistance mécanique est principalement due à la biodétérioration, sans exclure complètement les changements de porosité associés au phénomène de carbonatation du liant. Cette biodétérioration est liée non seulement aux granulats végétaux mais aussi aux additifs d'origine animale (hémoglobine et caséine) présents dans le matériau WaL. Ces additifs créent un environnement favorable au développement microbien en raison de leur composition riche en nutriments. Le liant à base de chaux a un effet biocide plus important en raison de son alcalinité [17]. Il convient de mentionner qu'il existe un effet d'interface distinct, bien qu'il soit difficile à mesurer avec précision. De plus, la rugosité et la capacité d'absorption diffèrent selon les différents granulats végétaux, ce qui rend difficile l'obtention d'une interface uniforme.

(Hérisson, 2013) [93] a étudié le processus de biodétérioration des matériaux cimentaires dans les structures d'assainissement, à travers une étude comparative du ciment alumino-calcaire et du ciment Portland. Ce processus entraîne une perte des propriétés du matériau, des

changements dans sa composition, voire une diminution de ses caractéristiques mécaniques. Lorsque le matériau est utilisé comme une partie d'une structure, la biodétérioration peut représenter un risque pour l'intégrité de la structure. En ce qui concerne les matériaux étudiés ici, des blocs biosourcés seront utilisés pour recouvrir l'ensemble du mur d'un bâtiment afin d'en assurer une isolation thermique. Leur utilisation est non-structurale. D'un point de vue mécanique, pour que ces matériaux soient utilisables, ils doivent supporter leur propre poids pour un mur de 3 mètres de hauteur permettant ainsi leur mise en œuvre en maçonnerie. La limite de la résistance à la compression est de 0,015 MPa pour WL et RL et de 0,014 MPa pour SL, respectivement. Les résistances mécaniques les plus faibles sont atteintes après 12 mois de vieillissement accéléré. Elles sont de 0,0853 MPa pour WL, de 0,355 MPa pour RL et de 0,243 MPa pour SL. Ces valeurs sont nettement supérieures aux limites de résistance ciblées. Pour WaL, la résistance mécanique la plus faible obtenue a été de 0,0062 MPa après 12 mois de vieillissement. En comparant cette valeur à la valeur limite ciblée de 0,0113 MPa, le matériau, une fois exposé dans son état utilisable, à des conditions sévères entraînant la perte de sa résistance, serait incapable de supporter son propre poids. En fait, WaL, qui était le plus contaminé par les microorganismes, présentait une dégradation superficielle après 12 mois d'incubation (Figure 4. 12) (dégradation indiquée par des flèches), tandis que WL, RL et SL n'ont pas montré de dégradation. En d'autres termes, malgré la faible dégradation de ces trois matériaux, qui est négligeable par rapport à celle de WaL, les matériaux WL, RL et SL sont capables de supporter leur propre poids.

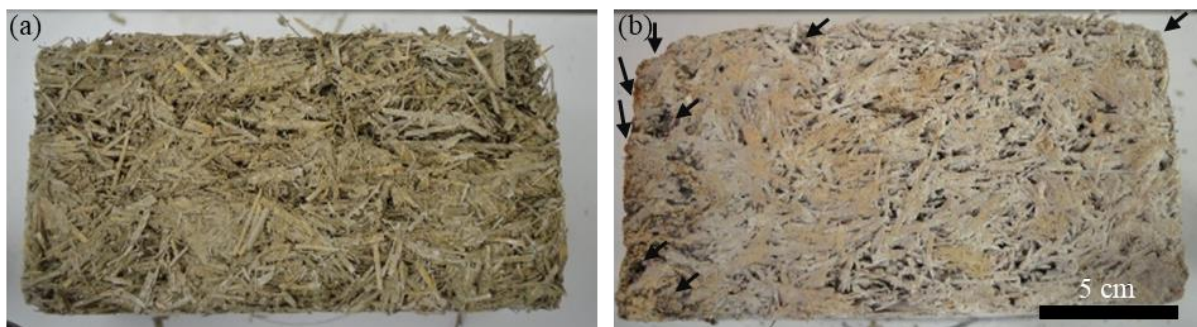


Figure 4. 12 : Photos démontrant la dégradation superficielle du matériau WaL : (a) à 0 mois, et (b) à 12 mois de vieillissement microbien. Les flèches indiquent la biodégradation de l'échantillon

Le développement de microorganismes sur les quatre matériaux étudiés, favorisé par les conditions accélérées de température et d'humidité pendant un an, peut être la cause de la perte de performance mécanique due à la dégradation du biocomposite.

(Rabii, 2016) [35] a surveillé le module de Young des biocomposites afin d'évaluer l'effet de la croissance microbienne. Le vieillissement fongique de six mois ne semblait pas avoir affecté les propriétés mécaniques du biocomposite non renforcé par des fibres de lin (PE), des composites PE+11% et PE+29% en masse de lin. Seul le composite PE+38% en masse de lin a connu une baisse de son module de Young, attribuée principalement aux conditions d'humidité plutôt qu'à la croissance microbienne. Par rapport aux résultats à trois mois, où la colonisation microbienne était plus importante (près de 10^6 UFC.cm⁻²) et la baisse du module plus prononcée, le développement après six mois peut être associé à une colonisation microbienne moins importante (moins de 10^5 UFC.cm⁻²) qu'au cours des tests de trois mois. À partir de cette

étude, on peut constater que la diminution des propriétés mécaniques du matériau peut être due, dans un premier temps, aux conditions d'humidité, et/ou dans un second temps au vieillissement microbien. En ce qui concerne les quatre matériaux étudiés dans cette thèse, la mesure de la résistance mécanique a été effectuée après le séchage de l'échantillon jusqu'à la stabilisation de sa masse. À partir de cela, nous pouvons conclure que la diminution de la résistance mécanique est due au développement microbien qui entraîne la dégradation des matériaux étudiés, et non à l'effet de l'humidité.

Par ailleurs, différentes études ((Grandclerc, 2017) [94], (Siddique et al., 2011) [50]) ont été réalisées pour évaluer l'effet des microorganismes sur les propriétés mécaniques de différents matériaux, et elles ont démontré que le développement des microorganismes a amélioré les propriétés mécaniques des matériaux. Selon (Grandclerc, 2017) [94], les microorganismes se développent sous forme d'un biofilm, ce qui confère une résistance accrue à certaines conditions particulières de l'environnement. En effet, les différents microorganismes vont former une communauté structurée de cellules microbiennes enveloppées dans une matrice polymère auto-produite et adhérente les unes aux autres pour améliorer la résistance mécanique du matériau. (Siddique et al., 2011) [50] ont démontré que l'incubation de microorganismes anaérobies du genre *Shewanella* a augmenté la résistance du mortier. Ils ont rapporté une augmentation de la résistance de 25% après 28 jours suite à l'ajout d'environ 100 000 cellules/mL d'eau de gâchage. Dans le cas de nos matériaux étudiés, le développement des microorganismes a assuré la dégradation du matériau, se traduisant par la perte de ses performances mécaniques. Ces microorganismes ne semblent pas avoir formés de structures sous forme de biofilms adhérents capables d'améliorer la résistance mécanique. Pour WaL, il s'agit de couches de microorganismes enveloppant la matrice. Ces couches ont changé la couleur de l'échantillon de jaune verdâtre à gris et les microorganismes ont semblé pénétrer dans les granulats, affaiblissant ces derniers et entraînant ensuite une perte de résistance mécanique significative. En revanche, pour WL, RL et SL, quelques microorganismes sous forme de couche mince ou des points noirs se sont développés sur la surface de l'échantillon. Malgré les 12 mois de vieillissement microbien accéléré, le développement microbien limité n'a pas entraîné de perte significative de résistance mécanique pour WL (-10,68%), RL (-25%) et SL (-22,5%). Ces valeurs sont comparables à celles trouvées par (Vasiliauskienė et al., 2023) [49] pour les biocomposites imprégnés par l'huile de lin. La résistance mécanique a montré une diminution de seulement 13,5%. En effet, l'huile de lin a montré un effet biocide contre les microorganismes contrairement à l'huile de tung qui n'a pas empêché les microorganismes de dégrader le matériau qui a perdu 53,2% de sa résistance mécanique.

4.4.2. Conductivité thermique

L'évolution de la conductivité thermique des quatre biocomposites en fonction des quatre temps de suivi durant l'année de vieillissement accéléré (0, 3, 6 et 12 mois), est présentée dans la Figure 4. 13 pour les deux matériaux à base de paille de blé (WL et WaL) et dans la Figure 4. 14 pour les deux matériaux à base du colza et de tournesol (RL et SL). Les mesures de la conductivité thermique ont été réalisées après avoir séché les échantillons testés à 60°C jusqu'à la stabilisation de leur masse, dans le but d'évaluer l'impact du développement microbien sur le comportement thermique des matériaux biosourcés sans l'effet de la teneur en eau. En effet,

la teneur en eau a un effet important sur la conductivité thermique de ces matériaux à cause de leur comportement fortement hygroscopique [25] [28] [30] [38].

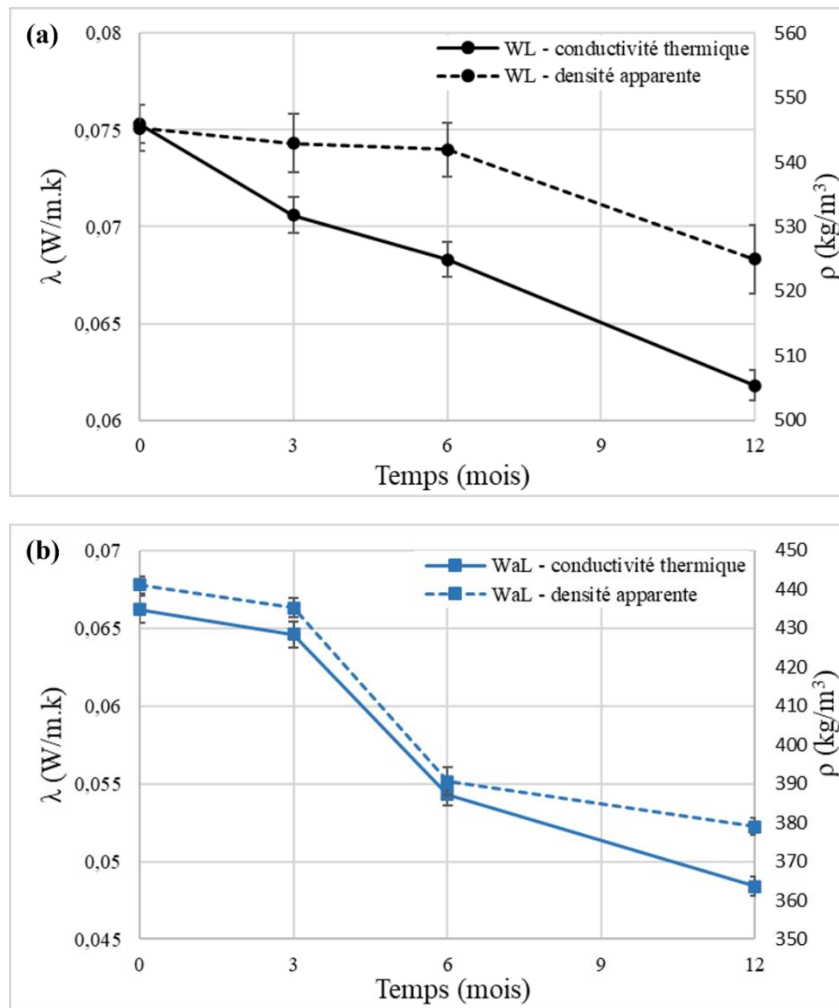
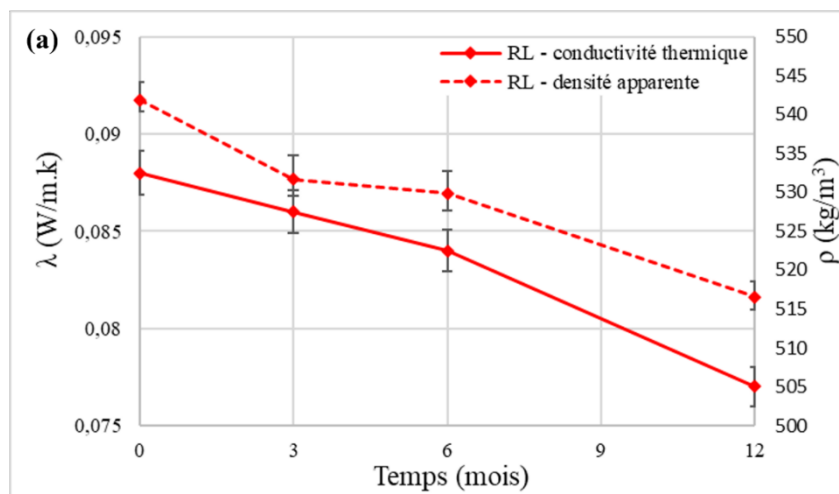


Figure 4. 13 : Evolution de la conductivité thermique (moyenne \pm std, n=3) de (a) WL et (b) WaL en fonction du temps de vieillissement microbien accéléré



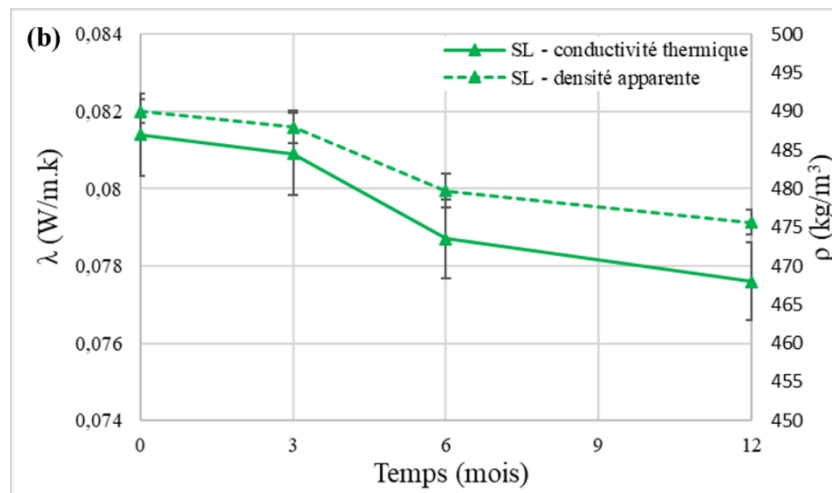


Figure 4. 14 : Evolution de la conductivité thermique (moyenne \pm std, $n=3$) de (a) RL et (b) SL en fonction du temps de vieillissement microbien accéléré

La Figure 4. 14 montre que la conductivité thermique (λ) de tous les biocomposites testés diminue progressivement en fonction des échéances de temps de suivi 0, 3, 6 et 12 mois. Pour WL, la conductivité thermique λ a diminué de 0,0753 W/m·K à 0,0618W/m·K entre 0 et 12 mois, ce qui correspond à une diminution de 17,9%. Pour WaL, λ est passé de 0,0662 W/m·K à 0,0484 W/m·K, ce qui correspond à une diminution de 26,8%. Il en est de même pour RL, qui a montré une diminution de λ de 0,088 W/m·K à 0,077 W/m·K, soit une baisse de 12,5%. Enfin, pour SL, λ a diminué de 0,0814 W/m·K à 0,0776 W/m·K, ce qui équivaut à une diminution de 4,6%. Parallèlement, la densité apparente (ρ) des quatre biocomposites a diminué selon la même tendance que la conductivité thermique (λ). Entre 0 et 12 mois, ρ est passé de 545,3 kg/m³ à 525 kg/m³ (-3.72%) pour WL, de 441,13 kg/m³ à 378,918 kg/m³ (-14,1%) pour WaL, de 541,906 kg/m³ à 516,526 kg/m³ (-4,68%) pour RL, et de 490,02 kg/m³ à 475,626 kg/m³ (-2,93%) pour SL. Comme pour la résistance mécanique, la conductivité thermique a diminué en raison du phénomène de biodétérioration induisant des pores et des fissures dans les matériaux. Ces pores sont susceptibles d'être remplis d'air, qui est un bon isolant thermique. (Flemming, 1998b) [225] a étudié la détérioration des matériaux polymères par colonisation de microorganismes à leur surface. Ces microorganismes peuvent causer des dommages directs et indirects au matériau de différentes manières, entraînant ainsi une fragilisation. Enfin, les filaments microbiens peuvent pénétrer dans la matrice polymère, provoquant un gonflement qui conduit à des fissures dans la structure [48].

Selon (Monroy, 2020) [228], qui a étudié le potentiel de développement des microorganismes sur les matériaux biosourcés destinés à l'isolation des bâtiments, la conductivité thermique augmente avec la diminution de l'humidité relative pour les matériaux biosourcés. Dans ce cas, il y a également l'effet de la teneur en eau absorbée par les matériaux dans un environnement à forte humidité, ce qui diffère de la présente étude où nous avons séché les échantillons jusqu'à la stabilisation de leur masse. Les résultats de (Delannoy, 2018) [17] ont montré une augmentation d'environ 19% de la conductivité thermique pour le béton de chanvre après une exposition de 24 mois au vieillissement accéléré dû aux microorganismes. Il a également remarqué que cette augmentation n'était que de 7% dans le cas des liants à base de ciment. Cela s'oppose à nos résultats dont les quatre matériaux ont montré des diminutions de

la conductivité thermique et surtout WaL qui a montré une diminution de 26% à l'état sec à cause du développement microbien induisant une porosité supplémentaire probablement due aux microfissures causées par la biodégradation.

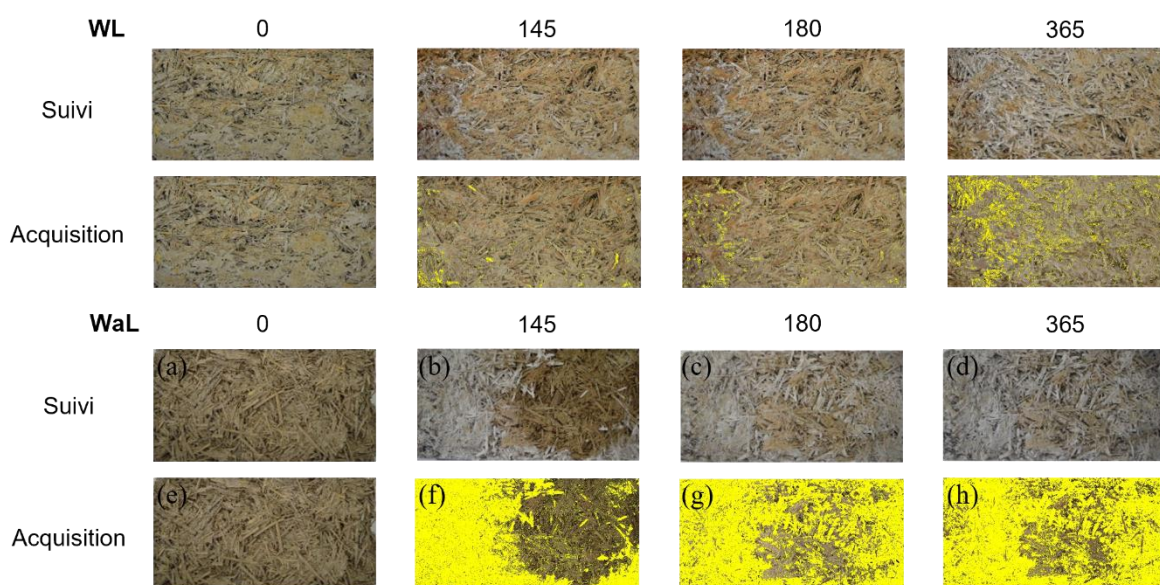
4.5. Prédiction analytique de la croissance microbienne

L'un des principaux avantages qui distingue ces deux modèles est leur capacité à calculer un indice de microorganisme qui peut décrire le développement des microorganismes. Cet indice est directement lié à un pourcentage de surface contaminée du matériau. Par ailleurs, une analyse des images des matériaux, prises pendant la phase de développement des microorganismes, permet de calculer un pourcentage expérimental de surface contaminée des quatre biocomposites étudiés. Une comparaison des pourcentages analytiques de surface contaminée déterminés par ces deux modèles analytiques avec les pourcentages expérimentaux de contamination, est établie.

4.5.1. Analyse d'image : mesure de la croissance microbienne sur la surface des biocomposites

L'analyse des images des biocomposites étudiés, permet de mesurer la croissance microbienne sur la surface des échantillons après leur exposition à un vieillissement accéléré favorable au développement microbien. Cette analyse permet de calculer un pourcentage expérimental de contamination de la surface P_{exp} selon la méthodologie expliquée dans la partie 2.4.2.

Le suivi de la progression du développement des microorganismes sur les quatre matériaux et l'acquisition des images correspondantes effectuée par le programme Leica, à 4 temps différents (jours), sont présentés dans la Figure 4. 15. L'analyse d'image a démontré que le biocomposite WaL, à base de paille de blé, de chaux et de deux additifs d'origine animale (hémoglobine et caséine), est le plus contaminé par rapport aux autres matériaux. Cette forte contamination est due à la présence de ces deux additifs qui ont garanti un environnement favorable au développement microbien.



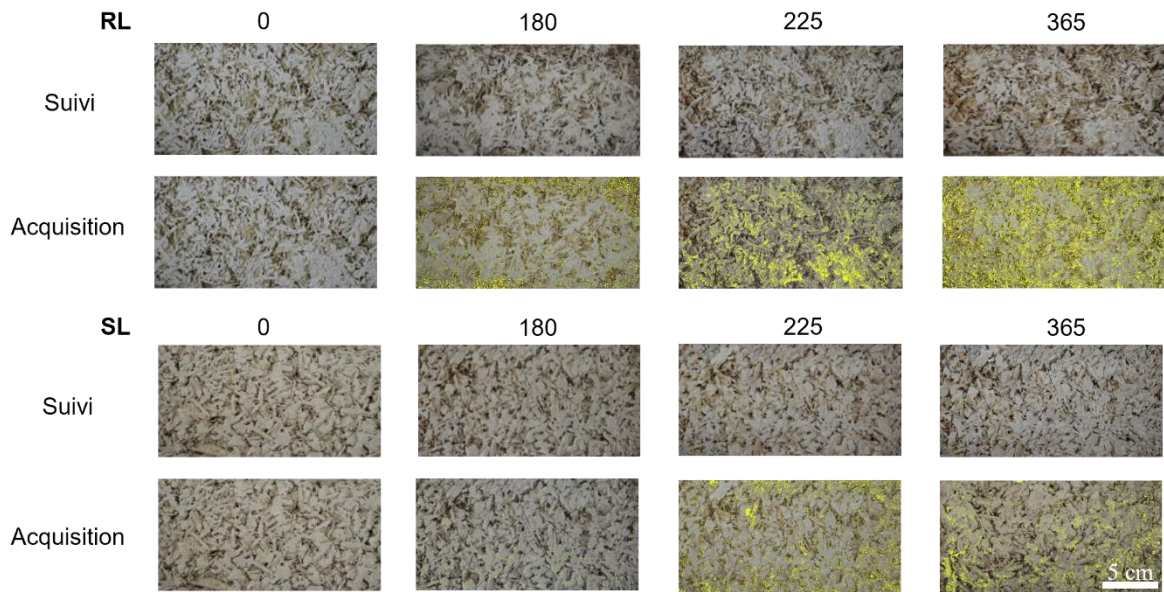


Figure 4. 15 : Suivi et acquisition des photos du développement des microorganismes sur les différents biocomposites à 4 différentes périodes (t_0 ; 145, 180, 365 jours pour WL et WaL ou t_0 , 180, 225 et 365 jours pour RL et SL)

4.5.2. Evolution du pourcentage expérimental de contamination (P_{exp}) en fonction du temps

Le pourcentage expérimental de la surface contaminée pour les quatre biocomposites, calculé après analyse d'image, est présenté par la Figure 4. 16. Le matériau biocomposite à base de paille de blé, de chaux et des deux additifs hémoglobine et caséine (WaL) est le plus contaminé et atteint par conséquent une valeur maximale de $P_{exp} \approx 77,5\%$ à 180 jours. Alors que les trois autres matériaux affichent des valeurs plus faibles qui ne dépassent pas 30% après une année de vieillissement. Le premier matériau composé de paille de blé et de chaux sans additifs (WL), le deuxième composé de paille de colza et de chaux (RL) et le troisième contenant le mélange de l'écorce et de la moelle de tournesol avec de la chaux (SL) ont une valeur maximale de $P_{exp} = 9\%$ à 150 jours, 23,5% et 9,9% à 230 jours respectivement.

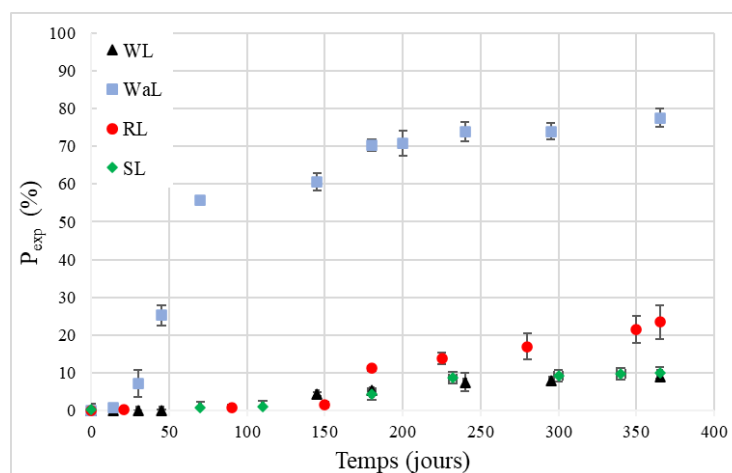


Figure 4. 16 : Evolution du pourcentage expérimental de contamination P_{exp} en fonction du temps pour les 4 biocomposites étudiés (WL, WaL, RL et SL)

4.5.3. Evolution du pourcentage analytique de contamination (P_{ana}) en fonction du temps

La prédiction analytique de la croissance microbienne sur la surface des biocomposites est réalisée en utilisant les deux modèles analytiques : (1) le modèle biohygrothermal et (2) le modèle de VTT. Les détails de ces deux modèles sont expliqués dans les parties 1.6.5 et 1.6.6 respectivement. Ces deux modèles sont établis en utilisant deux logiciels appelés WUFI BIO et WUFI Mould Index VTT. Ces deux logiciels nécessitent des données d'entrée. Ces données correspondent à des paramètres environnementaux comme la température et l'humidité et d'autres paramètres comme le type du matériau et le temps de l'étude équivalent au temps d'exposition du matériau aux conditions environnementales. Tout d'abord, les paramètres environnementaux sont « inspirés » des conditions de vieillissement accéléré favorables au développement microbien, adoptées durant l'étude expérimentale : une température de 30°C et une humidité relative de 90% ont été utilisées. Il est intéressant de noter que ces paramètres sont spécifiques à l'environnement où les matériaux ont été stockés. Cependant, dans les deux modèles de prédiction utilisés, ces deux paramètres correspondent à la température et l'humidité relative de la surface du matériau et non pas à l'ambiance de stockage. Pour cela, nous avons émis l'hypothèse qu'il n'y a pas de différence entre les paramètres de l'environnement d'entourage et ceux de la surface du matériau. Ensuite, en ce qui concerne le type du matériau, la catégorie CATII (Substrat de catégorie II) a été choisie dans le modèle biohygrothermal, il s'agit d'une catégorie spécifique pour des matériaux de construction recyclables biologiquement nuisibles tels que les revêtements, les matériaux de construction minéraux et certains bois (Tableau 1. 11). Pour le modèle VTT, la classe du matériau choisie est la classe C1 (très sensible) correspondante à des matériaux non traités très sensibles au développement microbien (Tableau 1. 13). Finalement, la durée de l'étude est un an de suivi de la croissance microbienne sur la surface du matériau.

Les pourcentages analytiques P_{ana} de la surface contaminée calculés par les deux modèles de prédiction sont présentés dans la Figure 4. 17. Les deux modèles ont montré le même comportement entre 0 et 70 jours. Après 70 jours, pour le modèle biohygrothermal, le pourcentage continue à augmenter jusqu'à atteindre la valeur maximale de $P_{ana} = 100\%$ à 100 jours et reste constant jusqu'à 365 jours. Cependant, pour le modèle VTT, la valeur maximale de $P_{ana} = 70\%$ est atteinte à 70 jours et reste constante jusqu'à 365 jours.

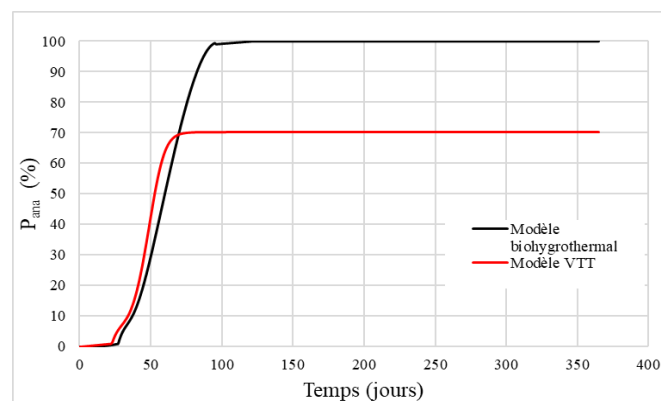


Figure 4. 17 : Evolution du pourcentage analytique P_{ana} (biohygrothermal et VTT) en fonction du temps, à 30°C et 90% d'humidité

4.5.4. Comparaison des résultats expérimentaux et analytiques

La comparaison entre les résultats expérimentaux et analytiques de deux modèles biohygrothermal et VTT, est présentée par la Figure 4. 18. La prédiction du modèle biohygrothermal est sous-estimée par rapport aux résultats expérimentaux. La prédiction par le modèle VTT coïncide avec le pourcentage expérimental P_{exp} uniquement pour le matériau WaL, mais elle sous-estime également le P_{exp} pour WL, RL et SL.

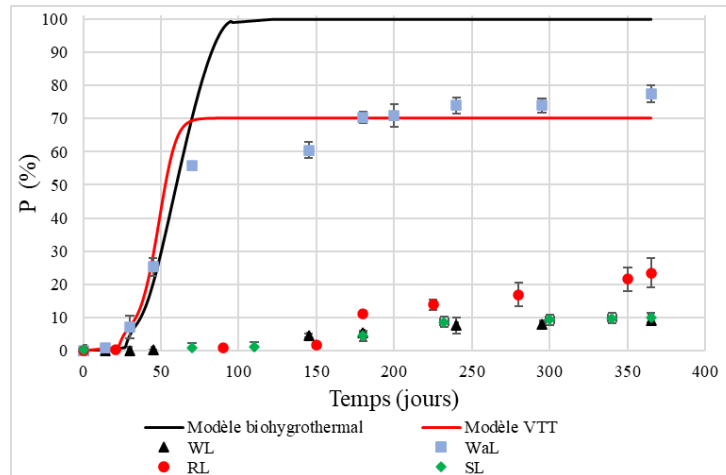


Figure 4. 18 : Comparaison entre les pourcentages analytiques P_{ana} (biohygrothermal et VTT) et les pourcentages expérimentaux P_{exp}

Par conséquent, nous pouvons considérer que le modèle VTT est le plus efficace pour prédire le développement des microorganismes sur le matériau WaL, mais n'a pas le même intérêt pour les trois autres matériaux WL, RL et SL. Par ailleurs, l'un des inconvénients de ce modèle est sa limitation à un nombre restreint de matériaux. Ils sont répartis en 4 classes (C1, C2, C3 et C4) en fonction de leur sensibilité à la croissance microbienne, comme le montre le Tableau 1. 13. L'objectif de la section suivante est de proposer une classe intermédiaire pour mieux décrire ces trois matériaux qui ne coïncident pas avec les résultats expérimentaux. Pour cela, une analyse inverse a été réalisée.

4.5.5. Analyse inverse : effet de la classe des matériaux

L'analyse inverse consiste à combiner les pourcentages de chaque classe de matériau pour trouver une combinaison qui représente les pourcentages expérimentaux de WL, RL, et SL, jusqu'à ce que l'erreur, entre les pourcentages expérimentaux et analytiques, tende vers zéro. Six combinaisons sont établies entre les 4 classes de matériaux : (C1, C2), (C1, C3), (C1, C4), (C2, C3), (C2, C4), et (C3, C4). Chacune de ces combinaisons est explorée à travers six séries de valeurs qui couvrent l'intégralité du spectre des mélanges possibles entre chaque paire de classes. Chaque série représente deux pourcentages correspondants aux deux classes, dont la somme est égale à 100%. Les séries sont définies comme suit : (100% ; 0%), (80% ; 20%), (60% ; 40%), (40% ; 60%), (20% ; 80%) et (0% ; 100%). Ces combinaisons sont présentées par les Figure 4. 19a, b, c, d, e et f respectivement.

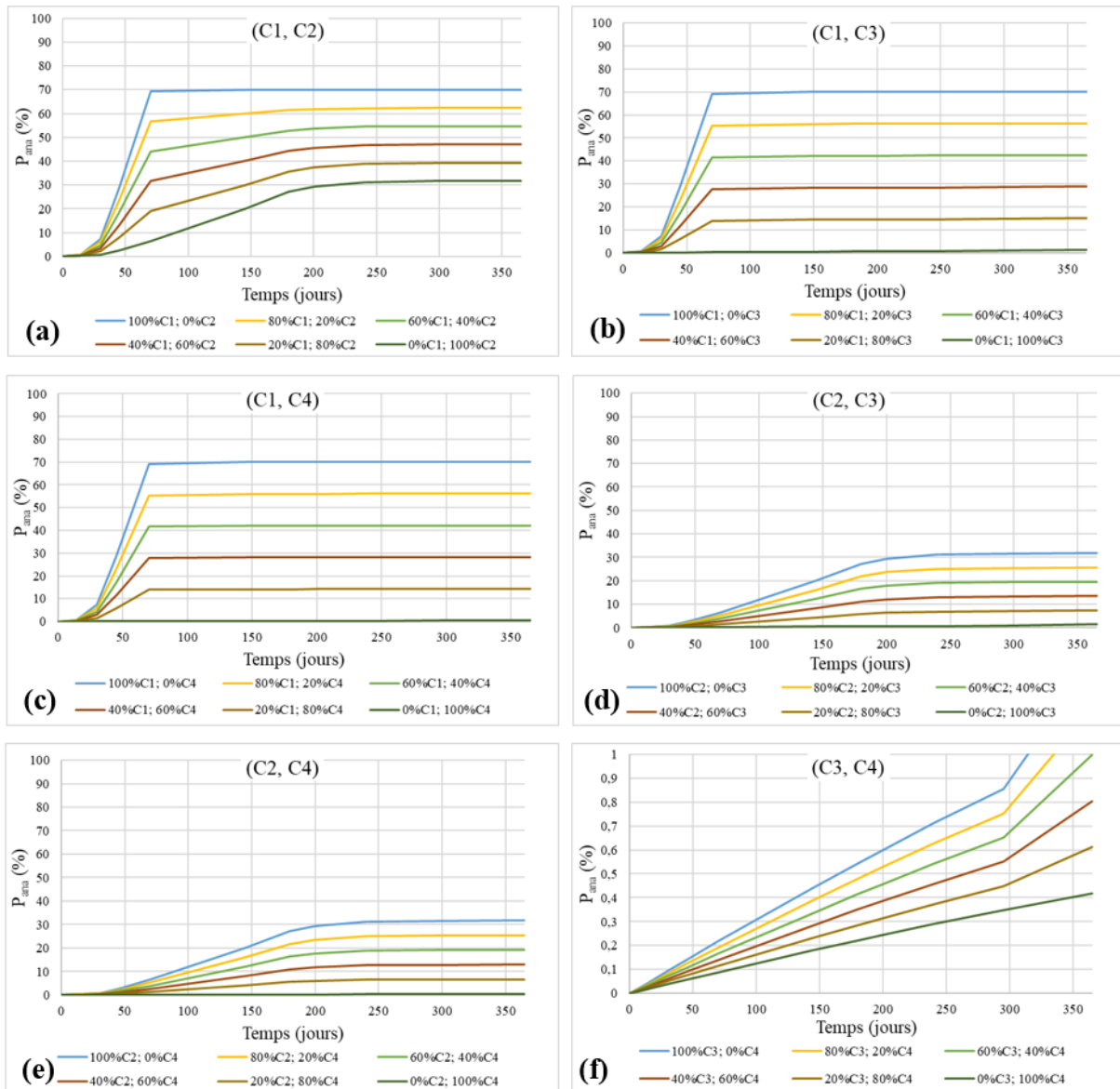


Figure 4. 19 : Résultats de l'analyse inverse de P_{ana} avec les 6 combinaisons (a)(C1, C2), (b)(C1, C3), (c)(C1, C4), (d)(C2, C3), (e)(C2, C4) et (f)(C3, C4)

Le pourcentage analytique de chaque combinaison a été calculé par l'équation (4. 2) (cette équation présente un exemple de combinaison de deux classes C1 et C2, mais elle est applicable sur les six combinaisons présentées ci-dessus) :

$$P_{ana}(X_{C1}; Y_{C2}) = X * P_{ana(C1)} + Y * P_{ana(C2)} \quad (4. 2)$$

Avec $P_{ana}(X_{C1}; Y_{C2})$ est le pourcentage analytique de contamination de la combinaison recherchée ; X et Y sont les pourcentages de combinaison de C1 et C2 respectivement et $P_{ana(C1)}$ et $P_{ana(C2)}$ sont les pourcentages analytiques de contamination pour les classes C1 et C2 respectivement.

4.5.6. Adaptation du modèle VTT aux résultats expérimentaux

Les résultats obtenus en utilisant les combinaisons de classes déterminées par l'analyse inverse précédente sont présentés dans la Figure 4. 20. Avec le modèle VTT, en prenant en considération les données d'entrée qui sont 30°C et 90% pour l'humidité, ce modèle est capable de prédire le développement des microorganismes sur la surface des quatre matériaux étudiés en combinant les classes comme suit : WL avec la combinaison 20%C2 ; 80%C3, WaL avec 100% C1 ; 0%C2, RL avec 50%C2 ; 50%C3 et SL avec 30%C2 ; 70%C3. Le choix d'un matériau de classe C1, décrit comme très sensible, est étayé par la présence d'additifs issus de la biomasse et non pas par le fait que les matériaux étudiés sont des matériaux biosourcés. Le choix des classes de matériaux, bien que basé sur des considérations spécifiques, ne prend pas en compte les fractions relatives des différents composants au sein du matériau. Cette simplification pourrait potentiellement négliger des interactions complexes entre les constituants et leurs effets sur la biodégradation, entraînant des prédictions moins précises. Toutefois, le modèle analytique présente l'inconvénient de ne prévoir que l'évolution de la surface et de négliger le cœur du matériau.

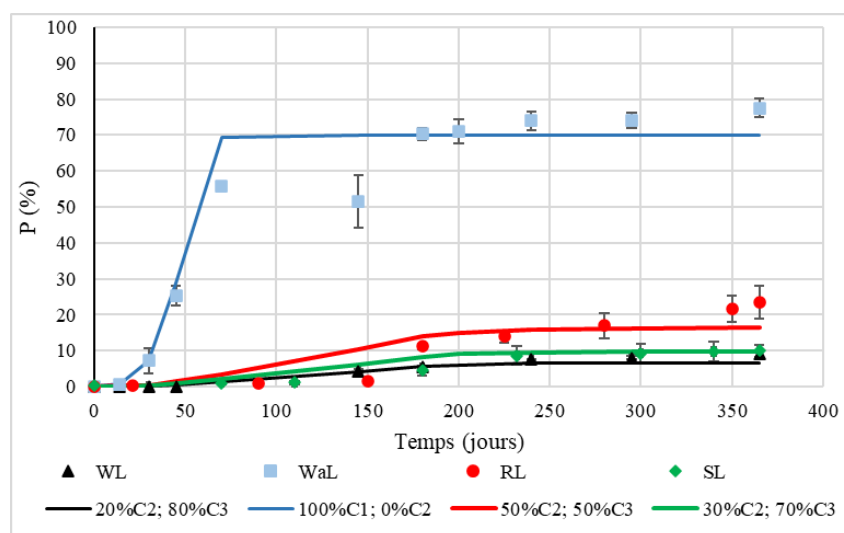


Figure 4. 20 : Résultats prédits en utilisant les classes de matériaux combinés déterminés par étude inverse entre les pourcentages analytiques et expérimentaux de surface contaminée pour les quatre matériaux étudiés

Conclusion

Dans ce chapitre, le comportement microstructural et les propriétés macroscopiques des quatre matériaux biosourcés sont examinés afin d'évaluer leur durabilité vis-à-vis du développement des microorganismes par le biais d'un vieillissement accéléré dans des conditions de température de 30°C et d'humidité relative de 90%. Sur la base des résultats et comparaisons différents, les principales conclusions de chapitre sont présentées ci-dessous :

- Les biocomposites étudiés n'ont pas montré une contamination microbienne à l'état initial grâce à la présence de la chaux, qui a inhibé temporairement le développement des microorganismes. Cependant, au fil de temps, le vieillissement accéléré a conduit à un développement microbien à partir de 6 mois. L'état de contamination microbienne des biocomposites a été également démontré par les observations au Cryo-HRSEM.

- Les deux biocomposites RL et SL ont montré un faible développement microbien par rapport aux deux autres biocomposites WL et notamment WaL, qui a été fortement contaminé à cause de la présence de deux additifs d'origine animale et surtout l'hémoglobine qui était à l'origine de cette forte contamination microbienne.
- La résistance mécanique des quatre biocomposites étudiés, a diminué progressivement entre 0 et 12 mois, avec des différentes tendances et surtout le matériau WaL qui a montré une diminution de 90,9% après 6 mois de vieillissement accéléré, en dépassant ainsi la contrainte limite ciblée, ce qui rend sa résistance mécanique insuffisante pour supporter son poids propre.
- La conductivité thermique des quatre biocomposites a présenté une diminution progressive durant les 12 mois de vieillissement accéléré avec des pourcentages de 17,9%, 26,8%, 12,5% et 4,6% pour les biocomposites WL, WaL, RL et SL respectivement. Cette diminution peut être attribuée à la dégradation de leur microstructure induite par des microorganismes, comme cela est suggéré dans les études publiées.
- En ce qui concerne la partie analytique, le modèle biohygrothermal a sous-estimé la croissance microbienne des quatre biocomposites. Cependant, le modèle VTT a prédit la croissance microbienne du matériau WaL, composé de paille de blé, de chaux et des deux additifs (hémoglobine et caséine), mais tout en sous-estimant, la croissance microbienne des trois autres biocomposites WL, RL et SL. Une analyse inverse a permis d'améliorer les estimations du modèle VTT avec les croissances mesurées sur WL, RL et SL, en adaptant trois sous-classes correspondant à ces trois matériaux différents.

Chapitre 5 : Identification des microorganismes et traitement des biocomposites

5.1. Introduction

Les microorganismes peuvent agir sur un matériau de différentes manières en fonction de leur type, de leurs activités métaboliques et de l'environnement dans lequel ils se trouvent. Cette interaction complexe peut entraîner divers effets sur les matériaux. Par exemple, des bactéries *sulfato-réductrices* peuvent provoquer la corrosion des matériaux suite à la production des produits corrosifs, notamment l'hydrogène sulfuré [133]. D'autres microorganismes tels que les *Aspergillus*, peuvent également dégrader des matériaux organiques comme le bois ou la cellulose en utilisant des enzymes spécifiques [35]. A ce stade, l'identification des bactéries présentes dans les biocomposites étudiés, permet de mieux comprendre le comportement spécifique de ces bactéries vis-à-vis des biocomposites. Elle offre une vision plus précise des risques potentiels de corrosion ou de dégradation, tout en facilitant la mise en place de stratégies de préservation et de renforcement des matériaux pour garantir leur durabilité dans des conditions microbiennes.

Ce chapitre présente dans une 1^{ère} partie, les résultats de l'identification seulement des diverses souches bactériennes cultivables (au moyen du milieu de culture YEG), présentes au sein des quatre biocomposites étudiés (WL, WaL, RL et SL), à 12 mois de vieillissement microbien accéléré, ce qui correspond à l'échéance qui a présenté la plus forte contamination bactérienne. Par ailleurs, l'efficacité directe du sulfate de cuivre est testée sur le développement des souches bactériennes identifiées isolées à partir de ces biocomposites.

Ensuite, dans une 2^{ème} partie, l'effet du traitement en masse des biocomposites en utilisant deux additifs antimicrobiens, la poudre de cuivre (Cu) et le sulfate de cuivre (CuSO₄), pour inhiber le développement microbien, est présenté. L'efficacité antimicrobienne de ces additifs sera évaluée au travers des tests de dénombrement des bactéries et des champignons cultivables présents dans les biocomposites traités. L'effet de ce traitement sera également examiné sur les propriétés mécaniques en mesurant la résistance mécanique par compression uniaxiale, les propriétés thermiques par des mesures de conductivité thermique et des paramètres physico-chimique abordés par des mesures de pH, de conductivité électrique et par des analyses thermogravimétriques. Pour suivre les changements ioniques, des analyses par chromatographie ionique sont présentées, durant le vieillissement accéléré tant des granulats végétaux que des biocomposites avant et après traitement. L'objectif consiste à appréhender l'influence des additifs antimicrobiens sur les propriétés fonctionnelles des biocomposites après le traitement.

5.2. Identification des souches bactériennes développés sur les biocomposites

5.2.1. Sélection des souches bactériennes pour l'identification

Avec l'objectif d'identifier quelques-unes des souches bactériennes cultivées sur le milieu de culture YEG à partir des quatre biocomposites, certaines colonies bactériennes ont été sélectionnées sur la base de leur abondance relative et sur des critères de différences d'aspects macroscopiques. Les souches sélectionnées sont présentées dans la Figure 5. 1.

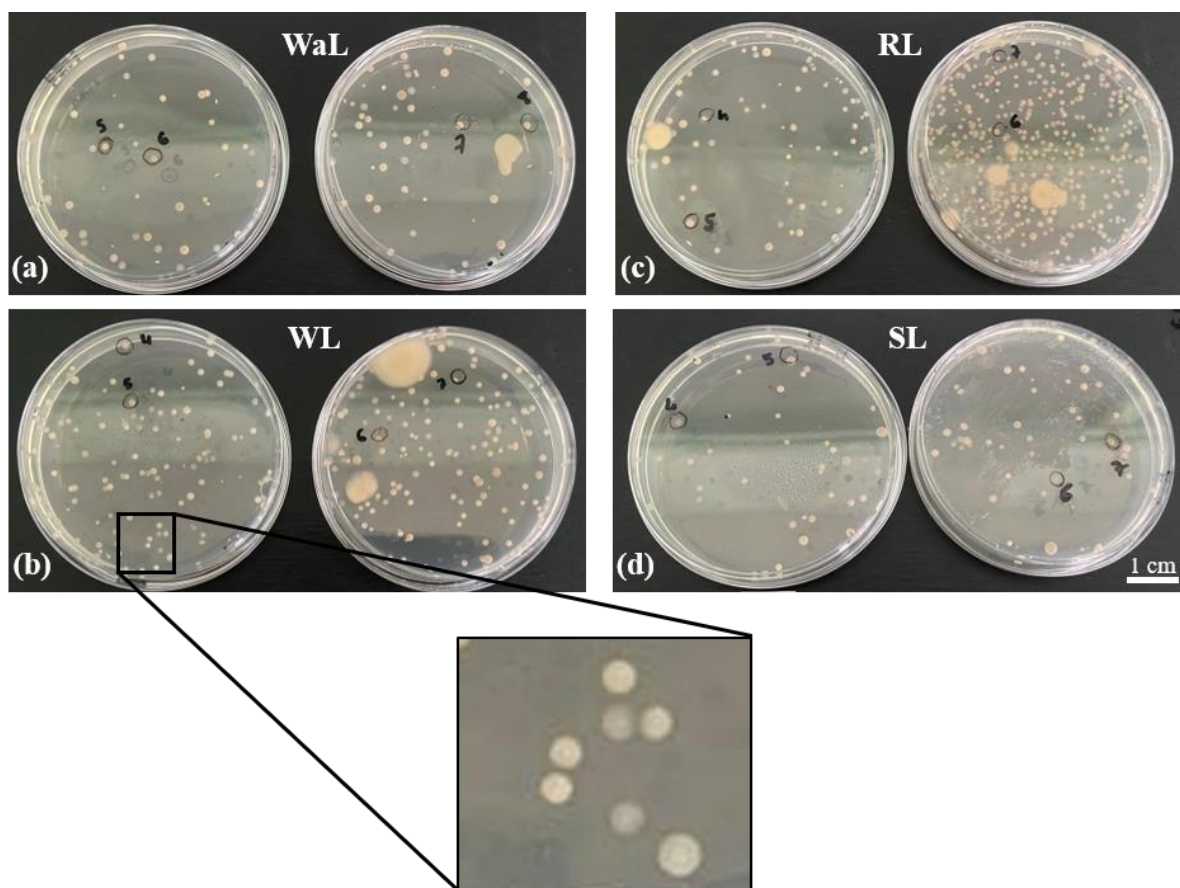


Figure 5. 1 : Colonies de bactéries cultivées sur des boîtes de pétri avec le milieu de culture YEG à partir des biocomposites WL, WaL, RL et SL à 12 mois de vieillissement microbien accéléré. Le carré en bas est un agrandissement du carré présente sur la figure (b)

Pour chaque biocomposite, au final ce sont quatre colonies bactériennes différentes qui ont été choisies en fonction de différents critères tels que leur couleur, leur diamètre, le type de contour (lisse ou brisé), leur forme (bombée ou plate) et leur type respiratoire (aérobie ou non-aérobie). Il est à noter que les colonies choisies semblent identiques entre les quatre matériaux, en se basant sur les critères morphologiques. Cependant, il est difficile d'affirmer qu'il s'agit de la même colonie sur ces matériaux d'où l'utilité et l'intérêt de l'approche de leur identification. Les 16 colonies bactériennes choisies sont présentées et décrites dans le Tableau 5. 1.

Chapitre 5 : Identification des microorganismes et traitement des biocomposites

Tableau 5. 1 : Tableau descriptif des 16 souches bactériennes choisies cultivées sur les quatre biocomposites étudiés

| Numérotation | Désignations sur la Figure 5. 1 | Couleur | Diamètre (mm) | Contour | Forme | Type respiratoire |
|--------------|---------------------------------|----------------------|---------------|---------|--------|-------------------|
| 1 | WL4 | Blanche crème | 2 | Lisse | Bombée | Non-aérobie |
| 2 | WL5 | Blanche crème claire | 2 | Lisse | Bombée | Aérobie |
| 3 | WL6 | Blanche crème | 2 | Lisse | Bombée | Aérobie |
| 4 | WL7 | Blanche crème claire | 2 | Lisse | Bombée | Non-aérobie |
| 5 | WaL5 | Blanche crème | 2 | Lisse | Bombée | Aérobie |
| 6 | WaL6 | Blanche crème claire | 2 | Lisse | Bombée | Non-aérobie |
| 7 | WaL7 | Blanche crème | 2 | Lisse | Bombée | Aérobie |
| 8 | WaL8 | Blanche crème claire | 2 | Lisse | Bombée | Non-aérobie |
| 9 | RL4 | Blanche crème | 2 | Lisse | Bombée | Non-aérobie |
| 10 | RL5 | Blanche crème claire | 2 | Lisse | Bombée | Aérobie |
| 11 | RL6 | Blanche crème | 2 | Lisse | Bombée | Aérobie |
| 12 | RL7 | Blanche crème claire | 2 | Lisse | Bombée | Non-aérobie |
| 13 | SL4 | Blanche crème | 2 | Lisse | Bombée | Non-aérobie |
| 14 | SL5 | Blanche crème claire | 2 | Lisse | Bombée | Aérobie |
| 15 | SL6 | Blanche crème | 2 | Lisse | Bombée | Non-aérobie |
| 16 | SL7 | Blanche crème claire | 2 | Lisse | Bombée | Aérobie |

Les colonies choisies présentent des teintes quasi similaires, allant du blanc crème clair au blanc crème foncé. Certaines colonies présentent un développement à la fois en surface (aérobie) et en profondeur (anaérobie) du milieu de culture YEG. Leur diamètre moyen fait environ 2 mm. Leur forme est caractérisée par un contour régulier, dépourvu d'irrégularités. Leur surface présente une légère convexité (aspect bombé).

5.2.2. Amplification (PCR) du gène codant l'ARNr 16S

Afin d'identifier les souches bactériennes sélectionnées, l'amplification d'une partie du gène codant l'ARNr 16S a été réalisée à partir des ADN génomiques extraits et purifiés. Ce gène a été choisi en raison de sa structure, très conservée chez toutes les bactéries. Ce gène est constitué d'une succession de domaines conservés au sein desquels on retrouve des portions de séquences propres à un groupe de bactéries et nommées séquences signatures. Par l'utilisation d'amorces spécifiques, c'est la région conservée appelée V1V9 du gène choisi qui a été ciblée. Les résultats des amplifications par PCR à partir des ADN extraits des 16 colonies bactériennes, sont montrés sur la Figure 5. 2.

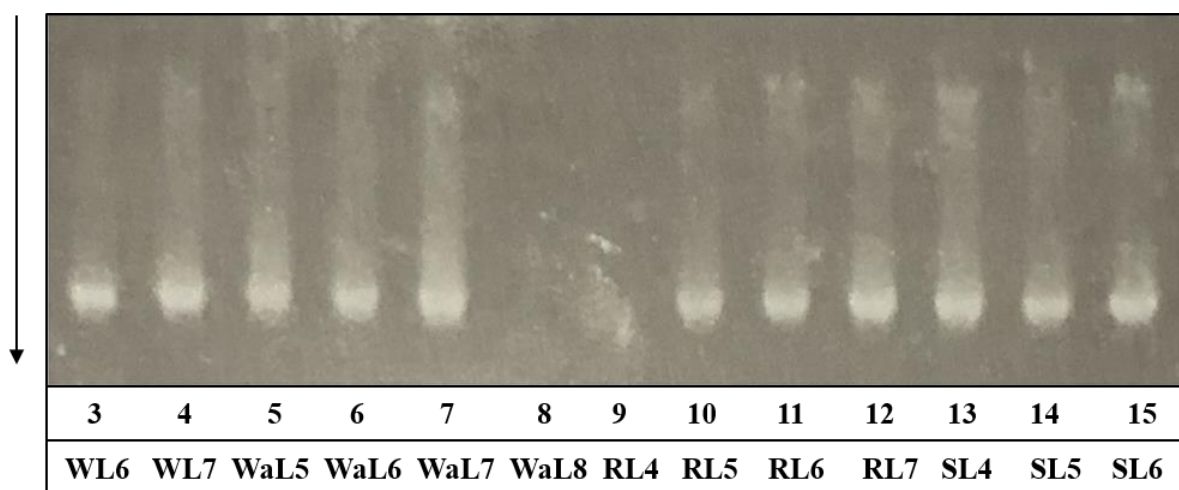


Figure 5. 2 : Résultats des amplifications sur les ADN extraits des colonies bactériennes choisies : photo du gel d'électrophorèse de la migration des amplifiats obtenus (observation sous UV après traitement au BET) ; la flèche à gauche donne la position attendue pour l'amplifié recherché

A l'exception des souches 1, 2, 8, 9 et 16, à partir desquels aucun amplifié n'a pu être obtenu, on observe (Figure 5. 2), pour toutes les autres, une bande majeure (bande claire sur un fond noir) dont la taille (environ 1500pb) correspond à celle du produit d'amplification attendu.

5.2.3. Identification des bactéries

Les produits PCR (sans purification) pour les 11 souches ayant donné un amplifié, ont été soumis à un séquençage (auprès d'un prestataire, par la technique Illumina) (Voir Annexe 3). Deux exemples des résultats du séquençage de la région V1V9 du gène codant l'ARNr 16S sont présentés (Figure A3. 1) ; cela correspond aux électrophorégrammes obtenus par le séquenceur.

Les séquences déduites sont comparées à celles déposées dans des banques de données (rRNA/ITS du NCBI, accessibles sur internet). Les résultats obtenus (issus de la comparaison avec les séquences les plus proches et l'identification qui correspond, rendue avec un pourcentage d'homologie (>99%) ont permis de désigner 3 genres bactériens identifiés à partir des quatre biocomposites (Tableau 5. 2).

Tableau 5. 2 : Genres bactériens identifiés sur les quatre biocomposites étudiés

| Numérotation | Biocomposites | Genre identifié |
|--------------|---------------|---------------------|
| 3 | WL | <i>Nocardiopsis</i> |
| 5 | WaL | <i>Bacillus</i> |
| 6 | | <i>Nocardiopsis</i> |
| 7 | | <i>Roseomonas</i> |
| 10 | RL | <i>Nocardiopsis</i> |
| 11 | | <i>Nocardiopsis</i> |
| 12 | | <i>Nocardiopsis</i> |
| 14 | SL | <i>Nocardiopsis</i> |
| 15 | | <i>Nocardiopsis</i> |

Dans chacun des quatre biocomposites, on retrouve un genre bactérien commun : *Nocardiopsis*. Les bactéries du genre *Nocardiopsis* sont à Gram positif appartenant à la famille des *Nocardiopsaceae*. Ces bactéries appartiennent à la classe des *actinobactéries* et sont caractérisées par leur morphologie filamenteuse et leur capacité à produire une variété de composés bioactifs, notamment des antibiotiques, des enzymes et d'autres métabolites secondaire [229]. Ce genre de bactérie n'est pas très connu dans le domaine de la construction. Des études menées par (Schafer et al., 2010) [230] ont permis de détecter une forte abondance et une variété d'actinobactéries dans les bâtiments endommagés par l'eau. Dans leur étude, les auteurs ont obtenu un total de 265 isolats provenant de 17 matériaux de construction (par exemple du plâtre, du polystyrène, de laine isolante et minérale et d'enduit de papier peint), lesquels peuvent être attribués à 31 genres différents de la classe des actinobactéries sur la base des analyses de séquençage de l'ARNr 16S. Le genre *Nocardiopsis* est parmi les six genres bactériens les plus fréquemment trouvés sur les matériaux étudiés.

Le biocomposite WaL, formé de paille de blé, de chaux et de deux additifs d'origine animal que sont l'hémoglobine et la caséine, et qui a présenté le plus fort développement microbien, démontré par les tests de comptage, a développé en plus du *Nocardiopsis*, des bactéries d'autres genres. Parmi les genres identifiés, *Bacillus*, qui comprend des bactéries à Gram positif, en forme de bâtonnet, appartenant à la famille des *Bacillaceae* et est caractérisée par sa capacité à former des endospores résistantes, ce qui leur permet de survivre dans des conditions environnementales défavorables pendant de longues périodes [231]. Des études menées par (Sharma et al., 2019) [232] ont mis l'accent sur l'intérêt de certaines bactéries dans l'amélioration des propriétés techniques du sol par la méthode de précipitation de calcite induite par des microbes (MICP), au lieu des méthodes conventionnelles à base de ciment, coûteuses et génératrices d'émissions de carbone élevées. Ces études ont examiné la méthode MICP dans du sable Narmada mal classé et liquéfiable, en utilisant les souches suivantes : *Sporosarcina pasteurii*, *Bacillus subtilis*, et *Bacillus sphaericus*. Les deux espèces de *Bacillus*, *B. subtilis* et *B. sphaericus* ont entraîné une précipitation de calcite comparable à celle de *Sporosarcina pasteurii* et de ce fait peuvent être utilisées pour la stabilisation du sable en améliorant la densité, la rigidité et la résistance au cisaillement et à la liquéfaction du sable.

Un autre genre de bactéries est identifié sur le biocomposite WaL connu sous le nom de *Roseomonas*. Il s'agit d'une bactérie appartenant à la famille des *Acetobacteraceae* qui se caractérise par sa capacité à produire des pigments colorés, ce qui peut contribuer à la coloration des surfaces sur lesquelles elles se développent. (Rosado et al., 2020) [233] ont réalisé des études sur des microorganismes présents sur des pierres constitutives de monuments historiques. Ils ont adopté des approches de séquençage à haut débit, dans le but de mettre en évidence le rôle de ces microorganismes dans le processus de biodégradation des pierres. Au cours de leurs investigations, différents genres bactériens ont été détectés. Certains de ces genres sont responsables des tâches colorées et de la formation de biofilm que l'on peut observer, tels que *Rubrobacter*, *Arthrobacter* et *Marinobacter*, tandis que d'autres genres tels que *Ulocladium*., *Cladosporium* et *Dirina* pourraient être liés aux dommages structurels. Outre ces six genres mentionnés, la bactérie de genre *Roseomonas* a été également détectée et classée parmi ceux responsables des tâches colorées ainsi que de la formation des biofilms.

En ce qui concerne la pathogénicité de ces genres bactériens, la fiche de données de sécurité du *Nocardiopsis* et du *Bacillus*, fournies par l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) [234], a montré qu'ils ne sont pas considérés comme des substances ou des mélanges dangereux conformément au règlement (EC) N°1272/2008 [235]. Ils ne contiennent aucun ingrédient considéré comme persistant, bioaccumulable et toxique (PBT), ou très persistant et très bioaccumulable (vPvB) à des niveaux de 0,1% ou plus. Cette fiche contient également des instructions relatives aux premiers secours en cas de contamination par ces deux genres bactériens (Tableau 5. 3).

Tableau 5. 3 : instructions des premiers secours après la contamination par *Nocardiopsis* et *Bacillus* [234]

| Types de contamination | Premiers secours |
|------------------------|---|
| Inhalation | Respirer de l'air frais |
| Contact avec la peau | Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/ se doucher |
| Contact avec les yeux | Rincer abondamment à l'eau. Enlever les lentilles de contact |
| Ingestion | Faire boire de l'eau (maximal 2 verres), en cas de malaise, consulter un médecin |

Les études menées par (Romano-Bertrand et al., 2016) [236] et (Diesendorf et al., 2017) [237], ont montré que les infections par *Roseomonas* affectent principalement les patients immunodéprimés, ceux atteints de maladies sous-jacentes, et/ou ceux présentant des infections préexistantes [238]. Les auteurs ont présenté diverses maladies provoquées par ce genre bactérien, notamment les infections du sang associées à l'utilisation de cathéters, la bactériémie, la pneumonie et les infections du tractus urinaire.

La présence des bactéries dans les matériaux peut tout d'abord provoquer des risques pour la santé humaine, et ensuite entraîner la biodégradation des matériaux, présentant également des risques pour la sécurité humaine en raison de l'instabilité de la structure qui peut survenir après leur dégradation. Pour cela, dans la partie suivante, des traitements préventifs des quatre biocomposites ont été étudiés pour lutter contre le développement microbien.

5.2.4. Test de tolérance des bactéries au sulfate de cuivre

La Figure 5. 3 présente les résultats préliminaires qui montrent l'évolution de la croissance microbienne en fonction de concentrations différentes de CuSO_4 et du temps d'incubation des puits examinés. Il convient de noter que cette étude a été menée uniquement sur la souche 14, identifiée comme appartenant au genre *Nocardiosis*, choisie parmi les 11 souches isolées. Cette souche a été présente sur le biocomposite SL. De plus, il est essentiel de noter que, bien que le même genre bactérien ait été identifié sur les quatre biocomposites, ces genres peuvent présenter des sensibilités distinctes vis-à-vis du sulfate de cuivre.

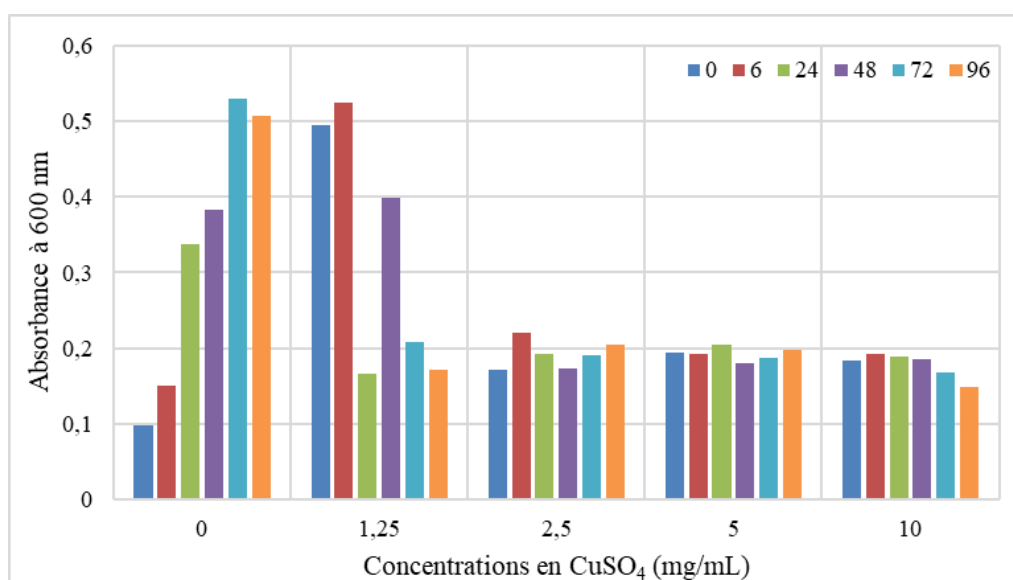


Figure 5. 3 : Evolution de la croissance microbienne (absorbance corrigée mesurée à 600 nm) en fonction des concentrations en CuSO_4 (mg/mL) et du temps d'incubation (0h, 6h, 24h, 48h, 72h et 96h)

A la concentration de 0 mg/mL de CuSO_4 , c'est-à-dire en introduisant la souche isolée dans du LB sans l'additif antimicrobien, la croissance bactérienne présente une augmentation progressive entre 0 et 72 heures, due au développement de la souche dans le milieu de culture LB, suivie d'une faible diminution de la croissance à 96 heures, provenant probablement de la saturation du milieu de culture en bactéries (du fait de l'épuisement des nutriments). A la concentration de 1,25 mg/mL en CuSO_4 , la croissance bactérienne diminue, après 24 heures d'incubation. Cette croissance a montré une augmentation à 48 heures suivie d'une ré-diminution après 72 et 96 heures. Cette augmentation peut probablement provenir d'une erreur de manipulation. Cependant, aux trois autres concentrations (2,5, 5 et 10 mg/mL) en CuSO_4 , la croissance de la souche bactérienne pour les temps différents d'incubation est inhibée.

5.3. Traitement en masse des biocomposites par des additifs antimicrobiens

5.3.1. Dénombrement des bactéries et des champignons

Le Tableau 5. 4 présente les résultats du dénombrement des bactéries cultivées sur le milieu YEG et des champignons cultivés sur le milieu PDA, à partir des matériaux étudiés, soit non traités soit traités avec des additifs antimicrobiens (poudre de cuivre (Cu) et sulfate de cuivre (II) (CuSO_4)), en fonction du temps d'exposition aux conditions de croissance microbienne accélérée pendant une année de suivi.

Tableau 5. 4 : Nombre de microorganismes en CFU/g de matériau (moyenne \pm std, $n=3$) : bactéries (culture en milieu YEG) et champignons (culture en milieu PDA) cultivés sur les matériaux non-traités et traités (1 pour Cu (3g/L), 2 pour Cu (6g/L), 3 pour CuSO_4 (4,2 g/L) et 4 pour CuSO_4 (11 g/L) à 0, 3, 6 et 12 mois de vieillissement accéléré.

| Biocomposites | Temps (mois) | Dénombrement bactéries (UFC/g) | Dénombrement champignons (UFC/g) |
|----------------------|--------------|--------------------------------|----------------------------------|
| WL | 0 | 655 (± 185) | 300 (± 100) |
| | 3 | 4075 (± 275) | 200 (± 0) |
| | 6 | 21800 (± 200) | 23950 (± 865) |
| | 12 | 23660 (± 222) | 200 (± 66) |
| WL1/2/3/4 (Traités) | 0 | 0 / 0 / 0 / 0 | 0 / 0 / 0 / 0 |
| | 3 | 0 / 0 / 0 / 0 | 0 / 0 / 0 / 0 |
| | 6 | 0 / 0 / 0 / 0 | 0 / 0 / 0 / 0 |
| WaL | 0 | 110 (± 70) | 0 |
| | 3 | 75 (± 25) | 22450 (± 2750) |
| | 6 | 31300 (± 3180) | 27750 (± 1250) |
| | 12 | 190 (± 13) | 2500 (± 133) |
| WaL1/2/3/4 (Traités) | 0 | 0 / 0 / 0 / 0 | 0 / 0 / 0 / 0 |
| | 3 | 0 / 0 / 0 / 0 | 0 / 0 / 0 / 0 |
| | 6 | 0 / 0 / 0 / 0 | 0 / 0 / 0 / 0 |
| RL | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 1550 (± 33) | 18966 (± 1377) |
| | 6 | 4866 (± 44) | 2800 (± 466) |
| | 12 | 4300 (± 1120) | 613 (± 1244) |
| RL1/2/3/4 (Traités) | 0 | 0 / 0 / 0 / 0 | 0 / 0 / 0 / 0 |
| | 3 | 0 / 0 / 0 / 0 | 0 / 0 / 0 / 0 |
| | 6 | 0 / 0 / 0 / 0 | 0 / 0 / 0 / 0 |
| SL | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 0 | 0 |
| | 6 | 326 (± 68) | 633 (± 244) |
| | 12 | 2560 (± 388) | 5466 (± 755) |
| SL1/2/3/4 (Traités) | 0 | 0 / 0 / 0 / 0 | 0 / 0 / 0 / 0 |
| | 3 | 0 / 0 / 0 / 0 | 0 / 0 / 0 / 0 |
| | 6 | 0 / 0 / 0 / 0 | 0 / 0 / 0 / 0 |

Les résultats de dénombrement des microorganismes sur les biocomposites traités montre que l'ajout des additifs antimicrobiens, n'a pas permis la croissance de bactéries ni de champignons à aucun moment du suivi pendant le vieillissement microbien accéléré. Cela signifie que les additifs antimicrobiens utilisés ont été très efficaces en inhibant la croissance des bactéries et des champignons qui auraient pu se développer sur les matériaux non-traités pendant le vieillissement microbien accéléré.

Malgré l'efficacité importante du traitement par les additifs antimicrobiens pour lutter contre le développement des microorganismes sur les biocomposites étudiés, il est intéressant d'appréhender les comportements mécaniques, thermiques et physico-chimiques de ces biocomposites après leur traitement. Pour cela, des investigations ont été menées afin d'évaluer l'impact de ces traitements sur les propriétés fonctionnelles de ces biocomposites.

5.3.2. Aspect visuel des biocomposites après le traitement antimicrobien

La Figure 5. 4 présente l'aspect visuel des échantillons du biocomposite WaL avant et après le traitement par les additifs antimicrobiens après 6 mois de vieillissement. La couche grise de microorganismes observée sur WaL6M ne s'est pas formée sur les biocomposites contenant les deux additifs pour les deux concentrations pour les matériaux WaL1, WaL2, WaL3 et WaL4. Les photos des autres biocomposites (WL, RL et SL) ne sont pas présentés dans cette section pour la raison que leur aspect n'est pas fortement impacté suite au développement des microorganismes comme c'est le cas pour le biocomposite WaL. En effet, pour WL, RL et SL et après l'ajout d'additifs antimicrobiens, la couche grise de microorganismes observée sur WL, les tâches grises sur RL et SL et les points noirs sur SL ne sont pas présentes sur les biocomposites traités avec les additifs antimicrobiens après 6 mois de vieillissement accéléré.

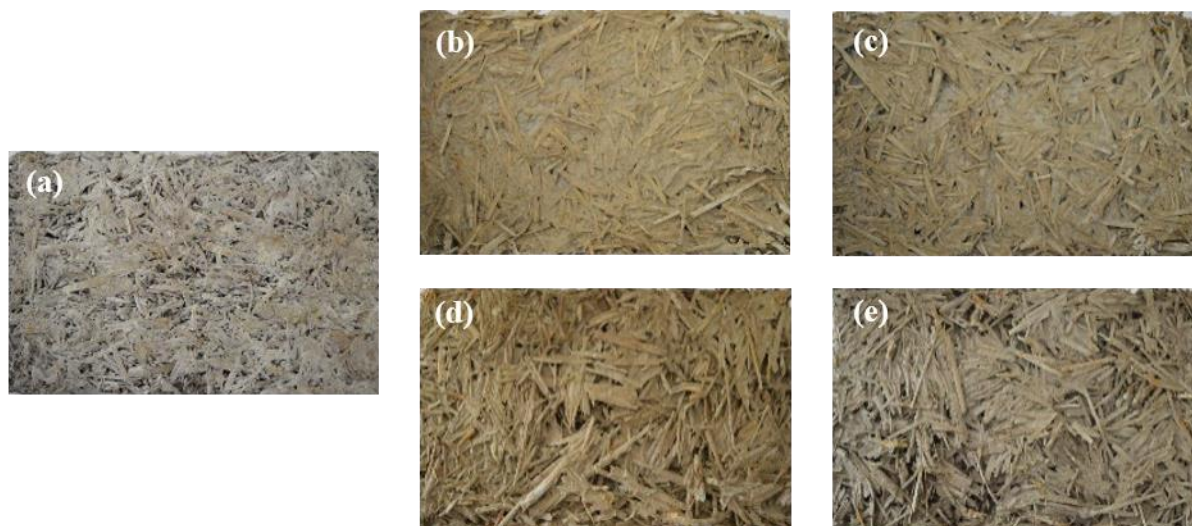


Figure 5. 4 : Aspect visuel du biocomposites WaL à 6 mois de vieillissement accéléré : (a) WaL6M, (b) WaL1, (c) WaL2, (d) WaL3 et (e) WaL4

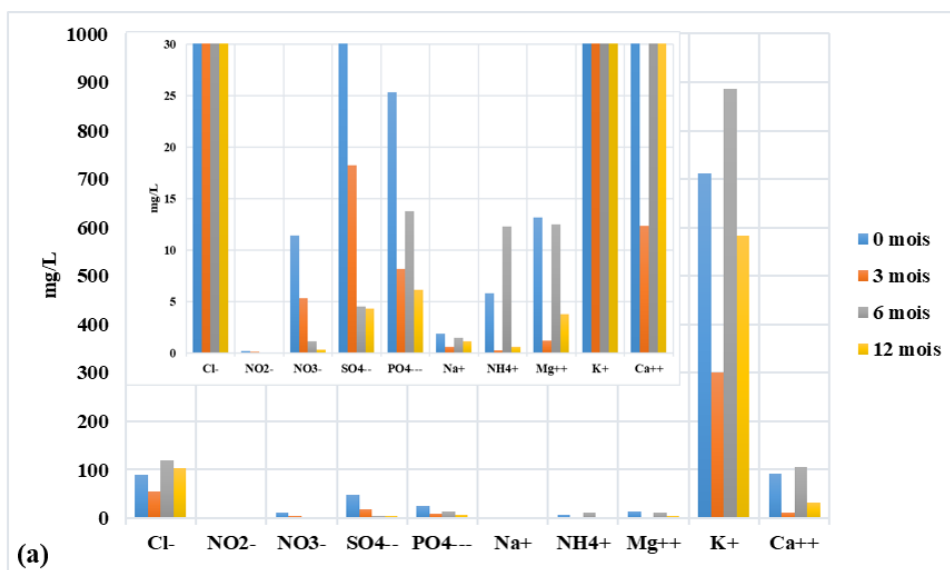
L'efficacité antimicrobienne constatée après l'ajout de poudre de cuivre ou de sulfate de cuivre pose question. Cela nécessite une étude approfondie afin de déterminer leur mode d'action sur les microorganismes présents dans le matériau. Plusieurs études récentes ont été menées pour comprendre le mécanisme d'action du cuivre en tant que matériau antifongique. Selon

(Sagripani et al., 1993) [239], les ions de cuivre sont probablement responsables de la destruction des microorganismes présents dans le matériau. (Santo et al., 2011) [240] ont défini une action directe et rapide du cuivre sur les microorganismes, se produisant par l'absorption du cuivre par les microorganismes sur une période de 90 minutes. Cependant, le taux d'ions cuivre dans les cellules du matériau est resté significativement élevée tout au long de la phase de désinfection, ce qui suggère que ces cellules ont été enveloppées par des réserves intracellulaires de cuivre. Selon (Horie et al., 2008) [241], l'ajout d'ions cuivre en solution a entraîné des anomalies morphologiques des bactéries, qui constituent le mécanisme de désinfection bactérienne. Ces études ont montré la sensibilité des microorganismes aux ions cuivre, indiquant que la membrane lipidique des microorganismes est enrobée par les ions cuivre.

5.3.3. Analyse ionique par chromatographie des granulats et des biocomposites non-traités

Dans le but de comprendre les interactions entre les microorganismes et les matériaux d'un point de vue chimique et ionique, des analyses chromatographiques des biocomposites non-traités (WL, WaL, RL et SL), ainsi que celle des granulats seuls (WS, RS, SB et SP), ont été réalisées. Cette approche permet de séparer et quantifier ces ions au fur et à mesure du processus de vieillissement microbien accéléré des matériaux. En effet, les microorganismes peuvent libérer des ions spécifiques comme ils peuvent aussi utiliser des ions disponibles dans le matériau pour leur développement, leur croissance et leur métabolisme. Dans cette partie, l'usage de la chromatographie ionique doit servir à comprendre d'une part l'effet du développement microbien sur la composition ionique des granulats végétaux et des biocomposites non-traités après l'ajout de la chaux comme liant.

Les Figure 5. 5 et Figure 5. 6 présentent l'évolution des concentrations des ions majeurs (Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{2-} , Na^{2+} , NH_4^+ , Mg^{2+} , K^+ et Ca^{2+}), présents dans les quatre granulats végétaux et les quatre biocomposites non-traités en fonctions du temps de vieillissement microbien accéléré (0, 3, 6 et 12 mois).



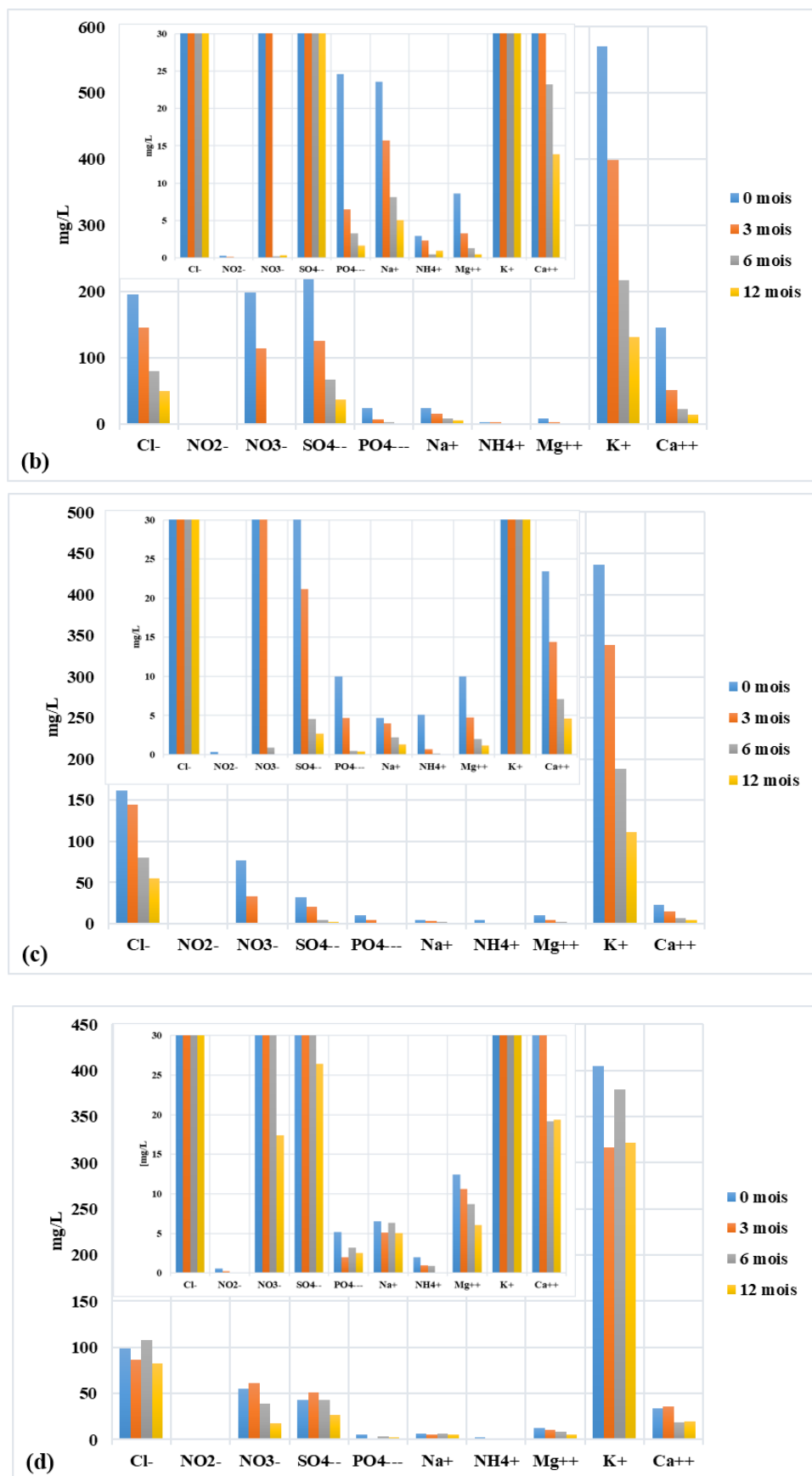
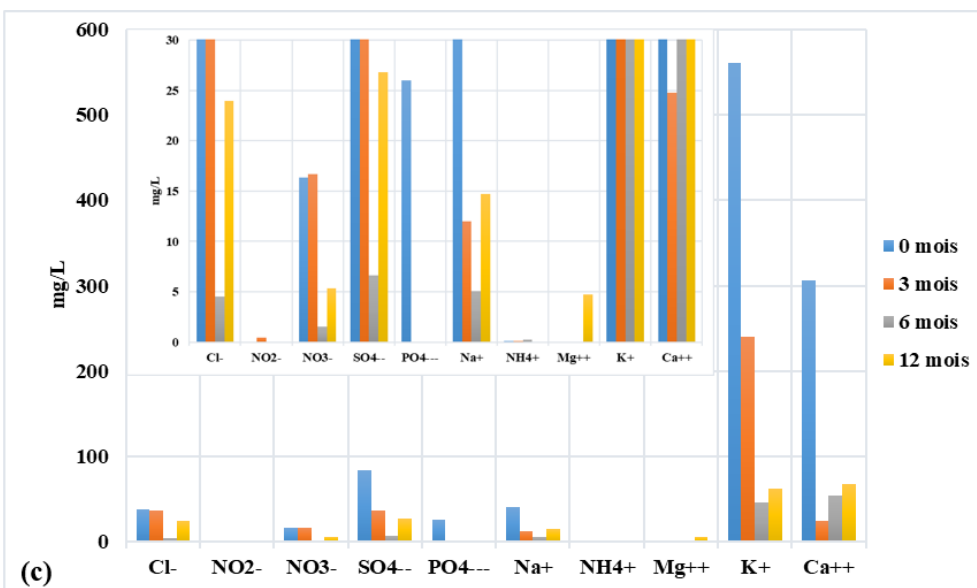
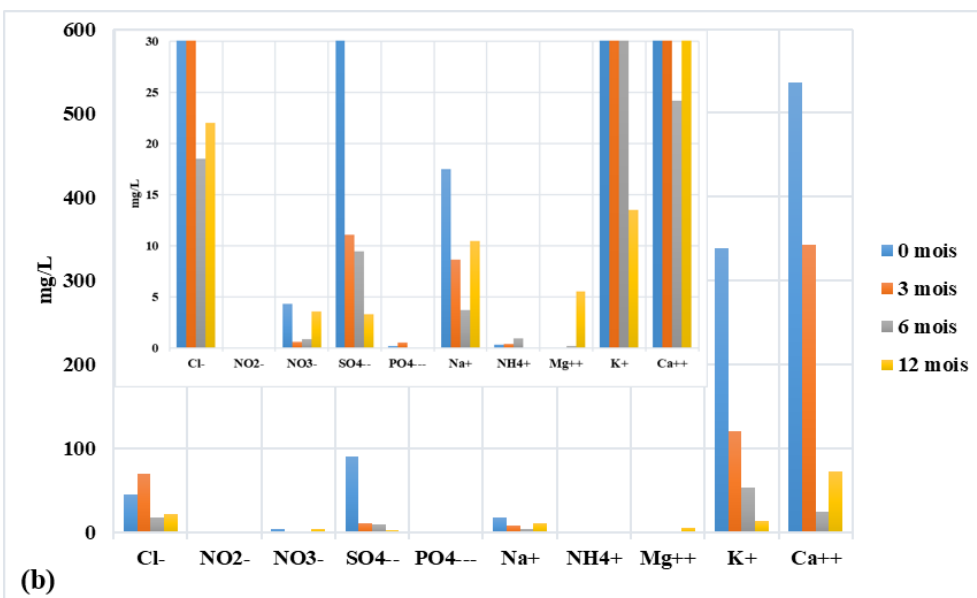
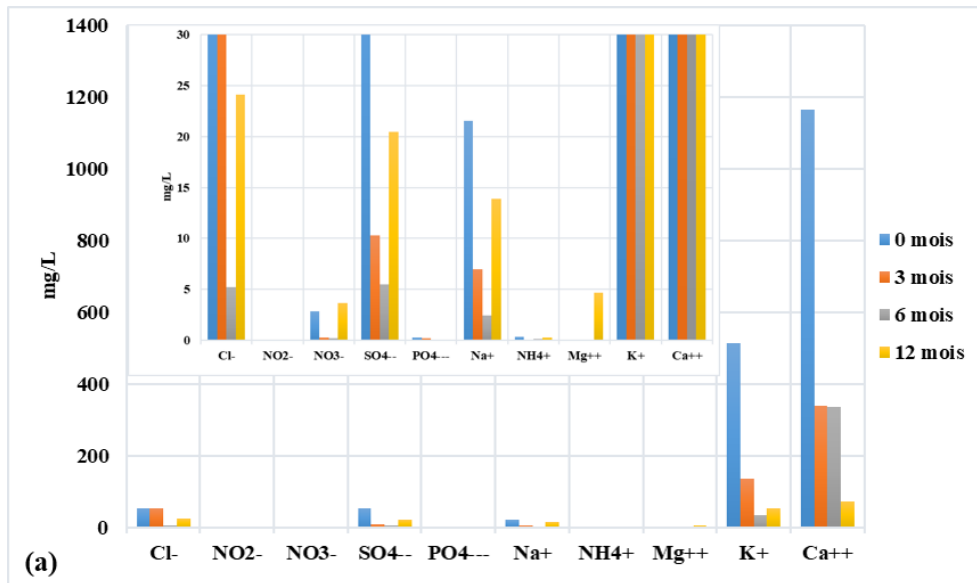


Figure 5. 5 : Evolutions des concentrations des ions présents dans les granulats (a) WL, (b) WaL, (c) RL et (d) SL en fonction de trois temps différent (0, 3, 6 et 12 mois) de vieillissement microbien accéléré. La petite figure est un agrandissement de la grande figure pour montrer des petites valeurs écrasées à grande échelle.



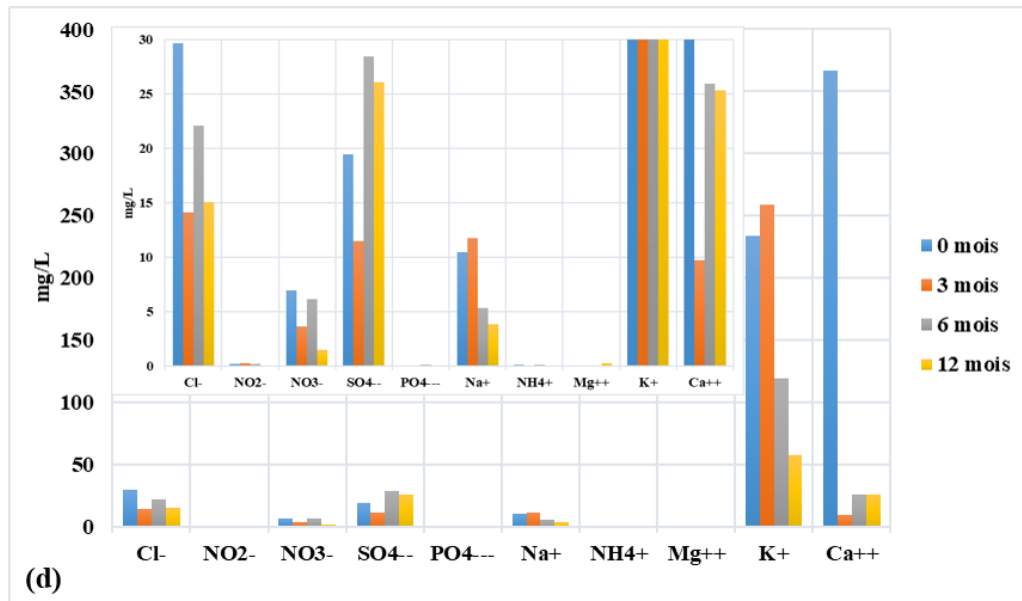


Figure 5.6 : Evolutions des concentrations des ions présents dans les biocomposites non-traités (a) WL, (b) WaL, (c) RL et (d) SL en fonction de trois temps différent (0, 3, 6 et 12 mois) de vieillissement microbien accéléré. La petite figure est un agrandissement de la grande figure pour montrer des petites valeurs écrasées à grande échelle.

Les quatre granulats végétaux étudiés ont montré des variations distinctes des concentrations des ions mesurés, à la fois en fonction des ions et du temps de vieillissement accéléré. Pour la paille de blé (WS), il y a prédominance de potassium (K^+) (ion dont la concentration est la plus forte), et présence à de plus faibles concentrations des ions chlorure (Cl^-) et calcium (Ca^{2+}). Les trois autres granulats, à savoir la paille de colza (RS), l'écorce (SB) et la moelle de tournesol (SP) présentent également une forte concentration en ion potassium (K^+) par rapport aux autres ions. De plus, les ions chlorure (Cl^-), nitrite (NO_2^-), nitrate (NO_3^-), et calcium (Ca^{2+}) sont aussi abondants dans ces granulats.

Pour les quatre biocomposites étudiés, les concentrations de potassium (K^+) provenant des granulats végétaux et en particulier de calcium (Ca^{2+}), provenant certainement de la chaux Tradical PF70 qui a été incorporé en tant que liant dans les granulats végétaux, ont montré une prédominance. La distinction principale que l'on peut faire, entre les granulats et les biocomposites, réside dans la concentration dominante de l'ion (Ca^{2+}) au sein des biocomposites attribuable à la présence de la chaux. Cependant, l'évolution des concentrations des ions présents a varié d'un biocomposite à un autre en fonction du temps de vieillissement microbien accéléré.

Le biocomposite WL, composé de paille de blé et de chaux, et celui appelé RL composé de paille de colza et de chaux également, ont présenté un comportement similaire. Les ions potassium (K^+) et magnésium (Mg^{2+}) ont montré un épuisement progressif entre 0 et 12 mois. Cependant, tous les autres ions ont montré une diminution progressive de leurs concentrations entre 0 et 6 mois, suivie d'une augmentation après 12 mois. Ces diminutions ont été accompagnées par une augmentation progressive du nombre des microorganismes, démontrée par les résultats de dénombrement (Figure 4. 1a et Figure 4. 2a). Le potassium est un élément chimique qui favorise le développement microbien. En effet, certains microorganismes nommées KSM (en anglais *Potassium solubilizing microorganisms*) peuvent se développer sur

les matériaux et être à l'origine de la diminution de concentration de K^+ constatée [242] [243]. De plus, selon [244] (Mekkaoui, 2004), le magnésium et le calcium sont deux éléments chimiques capables de créer un environnement favorable aux microorganismes, qui sont responsables de la décomposition de la matière organique et de l'humidification du matériau.

Le biocomposite WaL, composé de paille de blé, de chaux et d'additifs d'origine animale qui sont l'hémoglobine et la caséine, a présenté un épuisement progressif des ions sulfates SO_4^- . Cela est due probablement à la présence des bactéries réductrices de sulfate (BSR) ou des *Sulfovibrio* qui sont connues pour leur capacité à utiliser des composés soufrés, tels que les sulfates, comme source d'énergie pour leur métabolisme [245]. D'autres ions tels que les ions calcium (Ca^{2+}), potassium (K^+) et Chlorure (Cl^-) ont présenté une diminution de leurs concentrations entre 0 et 6 mois. Ces diminutions ont été accompagnées d'une augmentation progressive du nombre des bactéries et des champignons à ce stade, lesquels ont probablement consommé ces ions (Figure 4. 1b). Les études menées par (Guergazi et al., 2005) [246] ont montré que l'absence totale des ions chlorure dans les eaux d'alimentation est la conséquence de la présence des microorganismes consommateurs du chlorure. Concernant les ions Ca^{2+} , malgré leur capacité à être consommés par des microorganismes [244], la diminution de leur concentration peut être associée au phénomène de la carbonatation de la chaux [39]. Après ces diminutions entre 0 et 6 mois, une remontée des trois concentrations de Ca^{2+} , de K^+ et de Cl^- a été observée après 12 mois, accompagnée d'un faible développement de bactéries et d'une absence des champignons (Figure 4. 1a). En effet, les microorganismes présents dans le matériau ne sont probablement pas suffisants en nombre, pour consommer ces ions qui sont par conséquent présents en excès en solution. Cependant, d'autres ions telles que le nitrate (NO_3^-), l'ammonium (NH_4^+), le phosphate (PO_4^-) et le magnésium (Mg^{2+}) ont montré des variations distinctes de leurs concentrations en fonction du temps de vieillissement accéléré. La concentration en NO_3^- a diminué entre 0 et 3 mois, suivie d'une augmentation jusqu'à 12 mois. Les concentrations de NH_4^+ , PO_4^- , et Mg^{2+} ont montré une augmentation entre (0 et 6 mois), (0 et 3 mois) et (6 et 12 mois) respectivement. Comme décrit dans la littérature, les ions phosphates peuvent être consommés par des bactéries solubilisant le phosphate nommées BSP [245]. Cependant, les études menées par (Muller et al., 2013) [247], ont montré que des champignons comme les mycorhizes sont capables d'améliorer la disponibilité du phosphate dans le sol après une interaction avec les racines des plantes. Selon (Richard et al., 1982) [117], par ce que les microorganismes nécessitent de l'azote (N) pour la synthèse des protéines et des acides nucléiques, les ions NH_4^+ peuvent constituer une source majeure d'azote utilisée en particulier par des bactéries dénitrifiant hétérotrophes, telles que les *Chromobactéries*, les *Pseudomonas* et les *Bacillus* [248]. Par ailleurs, les études menées par (Bouaoun et al., 2004) [249] ont montré que des microorganismes comme les *Nitrosomonas* sont responsables de l'oxydation de l'ammonium en nitrite (NO_2^-). Ensuite, des bactéries comme les *Nitrobacters* interviennent pour oxyder les nitrites en nitrates, qui constituent une source d'azote pour certains microorganismes. Cependant, l'augmentation des concentrations ioniques des composés azotés jusqu'à 12 mois, a été accompagnée de faibles concentrations en microorganismes dans le matériau. Cette augmentation à 12 mois peut être due à l'absence des microorganismes qui étaient à l'origine de la diminution de ces concentrations ioniques entre 0 et 6 mois.

Le biocomposite SL, composé du mélange d'écorce et de moelle de tournesol et de chaux, a présenté une augmentation des concentrations des ions K^+ et Na^{2+} entre 0 et 3 mois. Entre 6 et 12 mois, cela a été suivie d'une diminution des concentrations de ces ions, accompagnée d'un développement progressif des bactéries et des champignons (Figure 4. 2b). La diminution des concentrations de ces ions est probablement due à leur utilisation comme nutriments pour les microorganismes présents dans le matériau. Cependant, l'évolution des concentrations de Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^- a montré une diminution entre 0 et 3 mois, puis une augmentation à 6 mois et enfin un épuisement à 12 mois, laquelle correspond à l'échéance marquée par le plus fort développement des microorganismes, qui ont probablement consommé ces ions en solution.

5.3.4. Analyse ionique par chromatographie sur les biocomposites traités à 6 mois de vieillissement accéléré

Cette approche ionique a pour objectif de mettre en évidence l'effet des additifs antimicrobiens (la poudre de cuivre et le sulfate de cuivre II), sur la composition ionique des biocomposites ayant subi le traitement par ces additifs, après 6 mois d'exposition aux conditions de vieillissement accéléré.

Le Tableau 5. 5 présente les concentrations de Ca^{2+} , Na^{2+} et K^+ et le taux de carbonatation des biocomposites non-traités et traités à 6 mois de vieillissement microbien accéléré.

Tableau 5. 5 : Concentration de Ca^{2+} , Na^{2+} et K^+ (moyenne \pm std, $n=3$) et taux de carbonatation des biocomposites non-traités et traités à 6 mois de vieillissement microbien accéléré

| Biocomposites | [Ca^{2+}] (mg/L) | [Na^{2+}] (mg/L) | [K^+] (mg/L) |
|---------------|------------------------|----------------------|-----------------------|
| WL6M | 27,43 ($\pm 0,54$) | 5,28 ($\pm 0,75$) | 49,58 ($\pm 0,97$) |
| WL1 | 320,21 ($\pm 12,31$) | 15,3 ($\pm 0,29$) | 190,15 ($\pm 0,16$) |
| WL3 | 470,57 ($\pm 7,2$) | 18,9 ($\pm 0,19$) | 247,85 ($\pm 2,85$) |
| WaL6M | 23,4 ($\pm 0,62$) | 3,37 ($\pm 0,21$) | 53,77 ($\pm 0,24$) |
| WaL1 | 365,09 ($\pm 36,3$) | 16,4 ($\pm 0,24$) | 209,07 ($\pm 1,26$) |
| WaL3 | 459,36 (± 9) | 20,7 ($\pm 0,11$) | 231,76 ($\pm 1,28$) |
| RL6M | 268 ($\pm 17,74$) | 4,55 ($\pm 0,35$) | 46,25 ($\pm 0,43$) |
| RL1 | 617,92 ($\pm 2,29$) | 8,88 ($\pm 0,1$) | 132,12 ($\pm 0,26$) |
| RL3 | 247,14 ($\pm 21,6$) | 9,69 ($\pm 0,17$) | 161,75 ($\pm 3,2$) |
| SL6M | 40,04 ($\pm 20,06$) | 5,28 ($\pm 0,06$) | 141,24 ($\pm 31,6$) |
| SL1 | 126,17 ($\pm 6,63$) | 4,93 ($\pm 0,09$) | 72,26 ($\pm 1,65$) |
| SL3 | 340,48 (± 15) | 15,7 ($\pm 0,09$) | 226,82 ($\pm 0,42$) |

À 6 mois, les concentrations des ions calcium, sodium et potassium étaient plus élevées pour les matériaux traités avec des additifs antimicrobiens (poudre de cuivre ou sulfate de cuivre (II)) que pour les matériaux non traités. L'ajout de ces additifs antimicrobiens a permis d'inhiber le développement des microorganismes sur le matériau, comme démontré précédemment par le test de dénombrement. Dans les matériaux traités, aucun microorganisme n'était présent pour consommer les ions calcium Ca^{2+} , potassium K^+ et sodium Na^{2+} , ce qui a certainement conduit à des concentrations plus élevées de ces ions après le traitement.

5.3.5. Analyse thermogravimétrique et mesures des pH et des conductivités électriques

La Figure 5. 7 présente les courbes de thermogravimétrie (TG) et de dérivée thermogravimétrique (DTG) des matériaux non-traités ainsi que de deux matériaux correspondants comportant des additifs antimicrobiens (avec la plus faible concentration d'additif pour chaque formulation c'est à dire 3 g/L pour la poudre de cuivre et 4,2 g/L pour le sulfate de cuivre (II)) après 6 mois de vieillissement microbien.

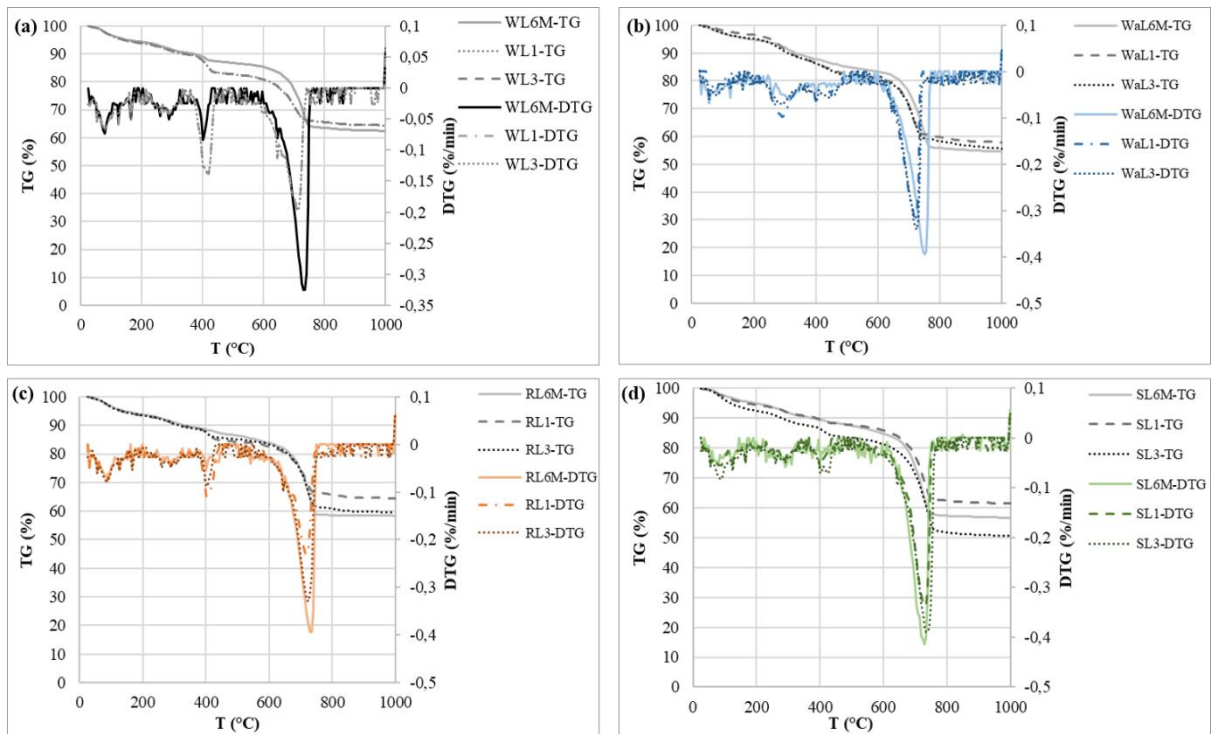


Figure 5. 7 : Analyse thermogravimétrique de (a) WL6M, WL1 et WL3, (b) WaL6M, WaL1 et WaL3, (c) RL6M, RL1 et RL3 et (d) SL6M, SL1 et SL3 à 6 mois de vieillissement accéléré

Trois phases de perte de masse ont été détectées dans les quatre cas des matériaux étudiés : (1) la première phase, entre 0°C et 200°C, correspond à l'évaporation de l'eau libre ; (2) la deuxième, entre 200°C et 500°C, correspond à la déshydroxylation de l'hydroxyde de calcium selon la réaction chimique suivante : $\text{Ca}(\text{OH})_2 \rightarrow \text{CaO} + \text{H}_2\text{O}$, ainsi qu'à la décomposition des additifs (hémoglobine et caséine) dans le cas de WaL [27] ; (3) la troisième, entre 500°C et 850°C, correspond à la décarbonatation de la calcite (carbonate de calcium) selon la réaction chimique suivante : $\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaO} + \text{CO}_2$.

Le Tableau 5. 6 présentent le taux de carbonatation, le pH et la conductivité électrique (EC) des matériaux non-traités (WL6M, WaL6M, RL6M et SL6M) et traités avec la poudre de cuivre (3 g/L et 6 g/L) et le sulfate de cuivre (4,2 g/L et 11 g/L).

Chapitre 5 : Identification des microorganismes et traitement des biocomposites

Tableau 5. 6 : Taux de carbonatation, pH (moyenne \pm std, n=3) et conductivité électrique (moyenne \pm std, n=3) des matériaux non-traités et traités à 6 mois de vieillissement accéléré. (-) : non-déterminé

| Biocomposites | Taux de carbonatation (%) | pH | EC (μ S/cm) |
|---------------|---------------------------|-----------------------|-----------------------|
| WL6M | 69,65 | 11,96 (\pm 0,02) | 971 (\pm 45) |
| WL1 | 28,94 | 11,33 (\pm 0,022) | 582,6 (\pm 32,4) |
| WL2 | - | 10,54 (\pm 0,09) | 584,6 (\pm 38,22) |
| WL3 | 28,9 | 12,01 (\pm 0,026) | 1536 (\pm 102) |
| WL4 | - | 11,94 (\pm 0,044) | 1215 (\pm 26) |
| WaL6M | 71,58 | 10,86 (\pm 0,008) | 207 (\pm 2) |
| WaL1 | 30,22 | 11,43 (\pm 0,057) | 825,6 (\pm 45,7) |
| WaL2 | - | 11,61 (\pm 0,0288) | 1041,6 (\pm 33,11) |
| WaL3 | 27,42 | 11,35 (\pm 0,033) | 653,6 (\pm 35,5) |
| WaL4 | - | 11,92 (\pm 0,0288) | 1360 (\pm 80,66) |
| RL6M | 71,58 | 10,99 (\pm 0,32) | 247,8 (\pm 1,16) |
| RL1 | 30,22 | 11,56 (\pm 0,02) | 853,6 (\pm 27,1) |
| RL2 | - | 11,37 (\pm 0,004) | 680,66 (\pm 7,11) |
| RL3 | 44,16 | 11,64 (\pm 0,02) | 1086 (\pm 15,11) |
| RL4 | - | 11,16 (\pm 0,066) | 485,33 (\pm 3,77) |
| SL6M | 65,27 | 11,2 (\pm 0,32) | 226 (\pm 0,66) |
| SL1 | 48,27 | 11,05 (\pm 0,12) | 298,5 (\pm 12,6) |
| SL2 | - | 10,9 (\pm 0,046) | 278,46 (\pm 21,68) |
| SL3 | 50,52 | 11,51 (\pm 0,04) | 756,3 (\pm 35,7) |
| SL4 | - | 11,31 (\pm 0,026) | 605 (\pm 13,33) |

Le taux de carbonatation des différents matériaux non-traités a montré une diminution après l'addition des additifs antimicrobiens à base de cuivre. L'ajout de poudre de cuivre ou du sulfate de cuivre (II) a probablement entraîné une réaction de ces additifs avec les ions calcium présents dans la chaux, ainsi qu'une réaction de décarbonatation de la calcite CaCO_3 , formant ainsi des précipités insolubles. En effet, (Conway et al., 2015) [250] ont étudié la dissolution et la transformation des nanoparticules de cuivre dans les eaux naturelles. Ils ont mentionné que le cuivre se transforme en un précipité insoluble de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ après sa réaction avec l'eau. Le sulfate de cuivre (II), quant à lui, réagissait avec les ions calcium pour former du CaSO_4 , se présentant également sous la forme d'un précipité insoluble. (Pickering, 1904) [251] a exploré les différentes formes de carbonate de cuivre, ainsi que leurs propriétés chimiques. L'ajout de carbonate au sulfate de cuivre conduit probablement à sa transformation en un précipité insoluble de CaSO_4 . Après l'ajout de deux additifs antimicrobiens, le taux de réaction de carbonatation diminue probablement en raison de la faible concentration d'ions calcium en solution suite à leur présence en précipité insoluble. En conséquence, l'ajout des deux additifs antimicrobiens a retardé le phénomène de carbonatation et a par conséquent réduit le taux de carbonatation.

Le pH de WL a montré une diminution de 11,96 à 11,33 (-5,26%) et 10,54 (-11,87%) après l'ajout de la poudre de cuivre aux concentrations 3 et 6 g/L respectivement. Cependant, l'ajout du sulfate de cuivre n'a pas montré une variation de pH (12,01 pour WL1 et 11,94 pour WL3). Cependant, le pH de WaL et de SL a montré une augmentation après l'ajout des deux additifs antimicrobiens. Le pH de WaL6M est passé de 10,86 à 11,43 (+5,24%) pour WaL1, et 11,35 (+4,5%) pour WaL3. De même pour le pH de RL6M qui a également augmenté de 10,99 à 11,56 (+5,18%) pour RL1, et 11,64 (+5,9%) pour RL3. Par contre, le pH de SL6M n'a pas varié après l'ajout des deux additifs. Le pH de SL6M est de 11,2 ($\pm 0,32$) et est resté relativement constant (11,05 ($\pm 0,12$) pour SL1, et 11,51 ($\pm 0,04$) pour SL3. (Xu et al., 2020) [223] ont étudié le comportement de carbonatation dans le sol stabilisé à la chaux. Ils ont constaté que le pH diminue pendant le processus de carbonatation. Ce comportement a également été observé dans cette étude : en effet, l'ajout des additifs antimicrobiens a influencé la réaction de carbonatation où le taux de carbonatation a diminué, et cela a été accompagné par une augmentation du pH des matériaux étudiés, sauf dans le cas de WL. En effet, le pH de WL a montré une diminution du pH. Un phénomène supplémentaire est probablement mis en place suite à l'ajout de additifs antimicrobiens aux biocomposites WaL, RL et SL.

La conductivité électrique (CE) a montré une augmentation après l'ajout des additifs antimicrobiens sauf dans le cas de WL1 et WL2 pour lesquels une diminution de 40% et 39,8% respectivement a été mesurée. La CE de WaL6M est passée de 207 W/(m.K) à 825,6 W/(m.K) (+298,8%) pour WaL1, et 653,6 W/(m.K) (+215,75%) pour WaL3. Il en était de même pour la CE de RL6M qui a également augmenté de 247,8 W/(m.K) à 853,6 W/(m.K) (+244%) pour RL1, et 1086 W/(m.K) (+338,25%) pour RL3. La CE de SL6M a également augmenté de 226 W/(m.K) à 298,5 W/(m.K) (+32,1%) pour SL1, et à 756,3 W/(m.K) (+234,65%) pour SL3. Selon (Kontrec et al., 2011) [252], la conductivité électrique augmente avec l'augmentation du taux de carbonatation. Cela est contradictoire avec nos résultats qui montrent une augmentation significative de la conductivité électrique après l'ajout d'additifs antimicrobiens qui a favorisé une diminution du taux de carbonatation sauf pour le cas de WL1 et WL3. En fait, le cuivre est un excellent conducteur électrique en raison de sa structure cristalline et de sa faible résistance électrique. Lorsque du cuivre est ajouté à un matériau, il crée un réseau de conducteurs électriques à travers celui-ci. Les particules de cuivre se connectent les unes aux autres, formant des voies de conduction électrique qui permettent un flux facile d'électrons à travers le matériau [253]. L'inclusion de cuivre, connue pour son excellente conductivité électrique, a dominé l'impact de la carbonatation sur la conductivité électrique des matériaux.

5.3.6. Résistance mécanique

La Figure 5. 8 présente les variations de la résistance mécanique et de la densité apparente des matériaux non traités et traités, à l'âge de 6 mois d'exposition au vieillissement.

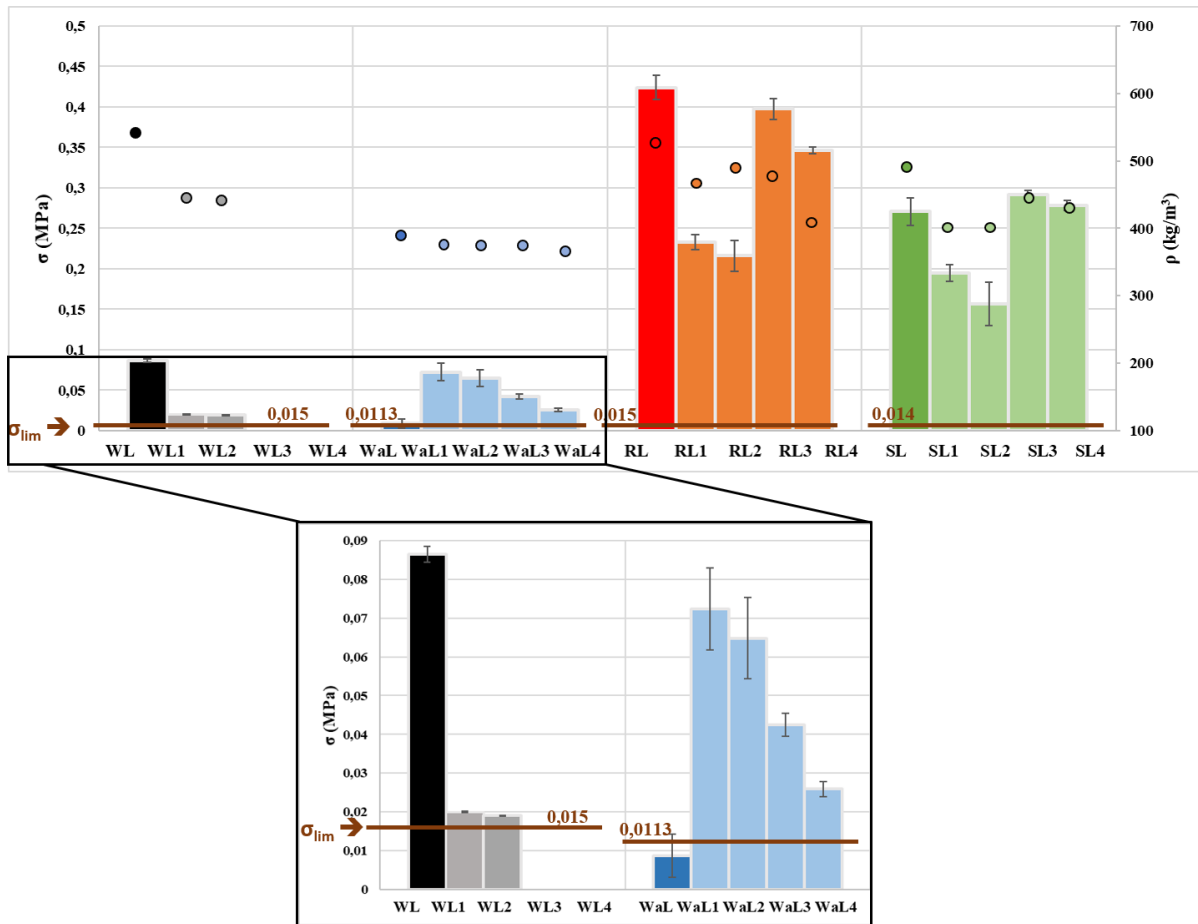


Figure 5. 8 : Comparaison de la résistance mécanique (moyenne \pm std, $n=3$) (en histogrammes) et de la densité apparente (en points) entre les matériaux non-traités et traités à 6 mois de vieillissement accéléré

La résistance mécanique du biocomposite WL à base de paille de blé et de chaux sans additifs est de 0,0865 MPa à 6 mois. Toutefois, l'ajout des deux additifs antimicrobiens a influencé fortement la résistance mécanique des matériaux traités. En effet, les résistances mécaniques de deux matériaux traités par la poudre de cuivre, WaL1 et WaL2, sont 0,02 MPa et 0,019 MPa, qui correspond à une diminution de 76,87% et 78,03% respectivement. Malgré ces diminutions importantes, la résistance mécanique de ces deux matériaux traités est restée plus grande que la résistance mécanique limite, de valeur 0,015MPa. Cependant, les deux autres matériaux traités par le sulfate de cuivre (II), WL3 et WL4, ont été quasiment détruits et de ce fait rendus inexploitable pour un test de résistance mécanique.

Concernant le biocomposite WaL à base de paille de blé, de chaux et de deux additifs d'origine animale (hémoglobine et caséine), sans additifs antimicrobiens, la résistance mécanique est de 0,0087 MPa à 6 mois. Après l'ajout des deux additifs, la résistance mécanique s'est améliorée : la résistance mécanique de WaL1 est de 0,0723 MPa, de 0,0648 MPa pour WaL2, de 0,0425 MPa pour WaL3 et enfin de 0,0259 MPa pour WaL4. L'incorporation des additifs antimicrobiens a inhibé la croissance des microorganismes, tandis que sur le matériau non traité, leur développement a conduit à sa dégradation après six mois de vieillissement accéléré, provoquant ainsi une diminution de sa résistance mécanique.

La résistance mécanique du biocomposite à base de paille de colza et de chaux RL est de 0,424 MPa à 6 mois. L'ajout de poudre de cuivre a considérablement diminué sa résistance mécanique, avec RL1 à 0,2329 MPa et RL2 à 0,2159 MPa. D'autre part, pour RL3 et RL4 avec l'ajout de sulfate de cuivre (II), leur résistance a également diminué, mais pas avec la même tendance que RL1 et RL2 ; en effet, les résistances de RL3 et RL4 sont respectivement de 0,3978 MPa et 0,3464 MPa. De même, pour RL, l'ajout des deux additifs a eu le même effet sur le biocomposites à base de moelle et d'écorce de tournesol et de chaux (SL).

Pour résumer, les quatre matériaux traités WL, WaL, RL et SL ont montré des comportements mécaniques distincts. Pour WaL, l'ajout des deux additifs à différentes concentrations a augmenté la résistance mécanique en raison de l'inhibition du développement microbien. Ce développement est responsable de la biodégradation du matériau WaL et de la diminution de ses performances mécaniques. En comparant les deux matériaux à base de paille de blé, WL et WaL, les additifs antimicrobiens ont eu le même effet par l'inhibition de développement microbien. Cependant du côté mécanique, WL a perdu sa résistance mécanique après les traitements. Pour cela, la présence de la caséine a amélioré les résistances mécaniques de WaL1, WaL2, WaL3 et WaL4 par rapport à celles de WL1 ; WL2, WL3 et WL4 [39]. Pour RL et SL, on peut noter que l'ajout de la poudre de cuivre a conduit à une importante diminution de la résistance mécanique, par rapport à l'ajout de sulfate de cuivre (II) qui n'a pas montré de variation importante, malgré l'inhibition de la croissance microbienne, responsable de la biodégradation du matériau.

En effet, les biocomposites étudiés sont à base de chaux Tradical contenant 75% de chaux aérienne, 15% de la chaux hydraulique et 10% de pouzzolane. Ces biocomposites sont conservés durant le vieillissement accéléré dans des boîtes hermétiques sans contact direct avec le CO₂ de l'air à une humidité de 90%, ce qui peut influencer la diffusion de la quantité faible de CO₂ disponible. L'absence de dioxyde de carbone peut entraîner le retard de carbonatation de la chaux aérienne [64]. Les travaux menés par (Walker et al., 2014) [34], ont démontré que lorsque le taux de carbonatation augmente, la résistance mécanique du matériau s'améliore en raison de la formation de calcite. Comme expliqué précédemment, il semble que l'ajout d'additifs antimicrobiens a également retardé la réaction de carbonatation. Cela justifie la diminution de la résistance mécanique des matériaux traités WL, RL et SL qui était plus faible à 6 mois après le traitement, bien que les matériaux non-traités WL, RL et SL n'ont montré aucune dégradation suite au développement microbien.

Dans le cas du biocomposite WaL à 6 mois de vieillissement accéléré, le taux de carbonatation est également plus faible pour les matériaux traités (WaL1 et WaL3) par rapport au matériau non traité (WaL6M). Néanmoins, la résistance mécanique de WaL6M a présenté la plus faible valeur, par comparaison aux valeurs des résistances mécaniques des matériaux traités, à cause de la dégradation induite par les microorganismes développés après 6 mois de vieillissement accéléré.

De plus, même s'il n'y a pas d'augmentation significative de la résistance, les valeurs de résistance mécanique de WaL1 et WaL3 sont significativement supérieures à la valeur limite qui est le critère de résistance au poids propre selon la norme NF-EN 1992-1-1 [254].

Par ailleurs, d'autres études menées par (Perez, 2015) [255], ont montré la possibilité d'avoir une réaction entre le sulfate de cuivre hydraté, ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) et de lait de chaux $\text{Ca}(\text{OH})_2$ pour former la bouillie bordelaise qui est un fongicide commercialisé.

Par conséquent, il y a probablement une compétition entre deux phénomènes : d'une part, le retard de la réaction de carbonatation de la chaux aérienne et d'autre part la réaction du sulfate de cuivre avec la chaux hydratée. Cela peut être à l'origine de la perturbation de la carbonatation conduisant ainsi à la diminution de la résistance mécanique des biocomposites étudiés.

5.3.7. Conductivité thermique

La Figure 5. 9 présente les variations d'une part de la conductivité thermique et d'autre part de la densité apparente des matériaux non-traités et traités, à l'âge de 6 mois, suite à l'exposition au vieillissement microbien accéléré.

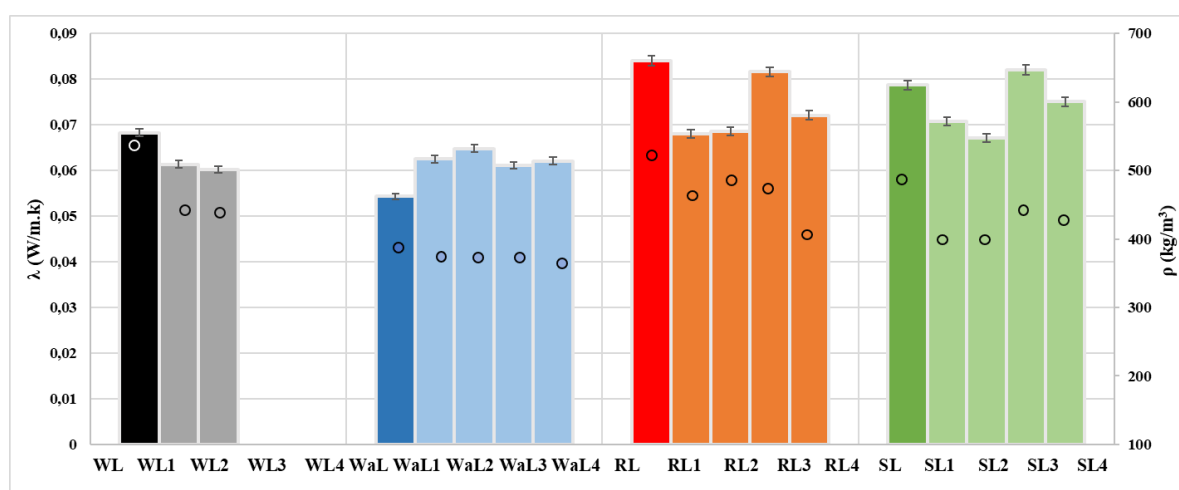


Figure 5. 9 : Comparaison de la conductivité thermique (moyenne \pm std, $n=3$) (en histogrammes) et de la densité apparente (en points) entre les matériaux non-traités et traités à 6 mois de vieillissement accéléré

La conductivité thermique de WaL sans additifs est de 0,0543 W/(m.K) à 6 mois. Après l'incorporation des additifs antimicrobiens, la conductivité thermique a augmenté. En effet, la conductivité thermique est de 0,0625 W/(m.K) pour WaL1, de 0,0648 W/(m.K) pour WaL2, de 0,0611 W/(m.K) pour WaL3 et de 0,0621 W/(m.K) pour WaL4. Cette augmentation de la conductivité thermique est due probablement à l'absence de biodégradation du fait de l'inhibition du développement microbien par le traitement en masse utilisé.

En ce qui concerne WL, RL et SL, la même tendance que pour la résistance mécanique a été observée sur la conductivité thermique. L'ajout de poudre de cuivre a considérablement réduit la conductivité thermique de WL1, WL2, RL1, RL2, SL1 et SL2. Cependant, l'ajout de sulfate de cuivre (II), a eu un impact limité sur la conductivité thermique, sans provoquer une réduction significative de cette conductivité, comme observé dans les cas de RL3, RL4, SL3 et SL4. Cependant, les deux biocomposites WL3, WL4 sont inexploitable pour une mesure de la conductivité thermique car comme mentionné avant, ils sont pratiquement détruits.

En croisant les résultats du dénombrement des bactéries et des champignons avec ceux mécaniques et thermiques, il ressort que le traitement contre le développement des

microorganismes, en utilisant la poudre de cuivre à une concentration de 3 g/L (correspondant à un dosage de 1,83 kg/m³ pour WL, 1,11 kg/m³ pour WaL, et 1,34 kg/m³ pour RL ou SL) s'avère être la solution la plus efficace. Cette concentration garantit à la fois une action antimicrobienne notable et une préservation optimale des propriétés fonctionnelles des biocomposites étudiés.

Conclusion

Dans ce chapitre, l'identification de certaines souches bactériennes cultivables ont permis de désigner trois genres bactériens à partir des quatre biocomposites étudiés. *Nocardiosis* est le premier genre identifié, présent sur les quatre biocomposites. Les deux autres genres bactériens identifiés sont *Bacillus* et *Roseomonas*. Ces deux genres ont été présents uniquement sur le biocomposite WaL, formé de paille de blé, de chaux et de deux additifs d'origine animale que sont l'hémoglobine et la caséine, et qui a présenté la plus forte contamination microbienne, démontrée par les tests de dénombrement des microorganismes. Concernant la pathogénicité humaine de ces trois genres identifiés, *Roseomonas* peut être considéré comme un genre pathogène pour certaines personnes de faible immunité. Cependant, *Nocardiosis* et *Bacillus* ne sont pas classés comme des substances ou des mélanges dangereux.

Après le traitement des biocomposites étudiés par les deux additifs antimicrobiens, à savoir la poudre de cuivre (Cu) à deux concentrations 3 et 6 g/L et le sulfate de cuivre (CuSO₄) à deux concentrations 4,2 et 11 g/L, les essais de dénombrement ont montré une efficacité importante de ces additifs contre le développement des bactéries et des champignons sur une période allant jusqu'à 6 mois, correspondant à l'échéance où les quatre biocomposites non-traités ont été contaminés par des microorganismes. L'analyse ionique par chromatographie a montré d'une part des diminutions des concentrations des ions (par exemple Ca²⁺, Na²⁺ et Mg²⁺, ...) due probablement à leur utilisation par les microorganismes dont leur présence a été démontré par les essais de dénombrement. De plus, la diminution des ions Ca²⁺ peut être due également au phénomène de carbonatation de chaux présente dans les biocomposites. D'autre part, l'augmentation de certains ions (par exemple PO₄⁻, K⁺ et Na²⁺) peut être due à des microorganismes, notamment des champignons, capables de libérer ces ions. Par ailleurs, des concentrations ioniques n'ont pas montré des variations, en raison de l'absence des microorganismes qui étaient à l'origine de consommation de ces ions. L'impact de ce traitement a été évalué sur les propriétés mécaniques (compression uniaxiale), thermiques (conductivité thermique), physico-chimiques (pH, conductivité électrique et analyses thermogravimétriques et ioniques par chromatographie). Après une classification basée sur l'agrégation des données obtenues par ces propriétés, l'utilisation de la poudre de cuivre à une concentration de 3 g/L est la plus efficace pour garantir d'une part un effet antimicrobien et d'autre part une préservation des propriétés fonctionnelles des biocomposites étudiés.

Conclusions générales et perspectives

Le développement des matériaux biosourcés à base de granulats végétaux dans le domaine des bâtiments confère de nombreux avantages. Il contribue notamment à améliorer les performances énergétiques par le biais de la réduction de l'émission des gaz à effet de serre, leur abondance, leur caractère renouvelable, leur confort thermique ainsi que leur renfort mécanique. Cependant, le manque de normes spécifiques, de règles d'application, ainsi que la compréhension et la maîtrise des propriétés de ces matériaux face aux fortes humidités, limite considérablement leur utilisation et leur industrialisation. Leur présence dans des conditions d'utilisation ou de stockage, environnementales ou accidentelles caractérisées par une humidité excessive ainsi que leur nature biologique, peuvent favoriser le développement des microorganismes.

Le travail de recherche rapporté dans ce manuscrit consiste à l'évaluation de l'impact du développement des microorganismes sur quatre granulats végétaux (paille de blé (WS), paille de colza (RS), écorce de tournesol (SB) et moelle de tournesol (SP)) et quatre biocomposites à base de ces granulats (WL : paille de blé + chaux, WaL : paille de blé + chaux + hémoglobine + caséine, RL : paille de colza + chaux et SL : tournesol + chaux). Cette étude permet également de comprendre des mécanismes microstructuraux à l'origine du comportement macroscopique, suite à leur exposition à un vieillissement microbien accéléré (une humidité de 90% et une température de 30°C). Par ailleurs, ce travail consiste à étudier des traitements en masse préventifs des biocomposites en incorporant, durant la phase de préparation des biocomposites, deux additifs antimicrobiens que sont la poudre de cuivre et le sulfate de cuivre. Pour répondre à ces objectifs, une méthodologie d'étude a été mise en place, constituée d'un vaste programme expérimental de caractérisations microbiologiques, mécaniques, thermiques et physico-chimiques des matériaux suivis pendant une année d'exposition au vieillissement accéléré. Cette méthodologie comporte également une approche analytique en utilisant deux modèles analytiques qui sont le modèle biohygrothermal et le modèle VTT, permettant de prédire la croissance microbienne sur les matériaux biosourcés par une estimation du pourcentage de contamination microbienne de la surface de ces matériaux.

La caractérisation microbiologique réalisée par des tests de dénombrement des microorganismes a démontré que les quatre granulats végétaux examinés étaient à l'origine contaminés par des microorganismes, principalement des champignons, c'est-à-dire avant leur exposition au vieillissement microbien accéléré. Cette contamination initiale peut probablement être attribuée aux conditions de stockage des granulats chez les agriculteurs et ensuite dans l'unité de transformation de ISOCHAMP. Par ailleurs, les observations réalisées par Cryo-HRSEM ont corroboré ces constatations, montrant ainsi que les granulats étaient affectés par des champignons avant leur exposition aux conditions de vieillissement accéléré. Il convient de noter que la moelle de tournesol a présenté une quantité moindre des microorganismes que les autres granulats malgré son absorption d'eau importante. Cependant, tous les matériaux ont montré une croissance significative des microorganismes après une exposition de six mois au vieillissement microbien. Enfin, du point de vue de la caractérisation physique, présentée par

Conclusions générales et perspectives

un suivi de conductivité thermique et de masse volumique, une légère biodégradation a été observée sur les quatre granulats après trois mois d'exposition au vieillissement accéléré. Ces deux paramètres sont restés constants jusqu'à 12 mois. Cette légère diminution des propriétés physiques peut être expliquée par la dégradation de la microstructure du matériau à cause de l'activité des microorganismes.

En ce qui concerne le liant à base de chaux, les tests de dénombrement des microorganismes réalisés sur les quatre mélanges de liant, n'ont pas permis la culture des bactéries et des champignons après une exposition de 6 mois au vieillissement accéléré. Cette absence de développement microbien peut s'expliquer par l'alcalinité du liant minéral, ainsi que par sa forte conductivité électrique qui ont entravé la croissance microbienne sur les quatre formulations du liant. Une perte de masse a été observée pour les quatre liants durant le vieillissement accéléré. Cela est attribuable au processus de carbonatation de la chaux, principale composant des liants.

Concernant les quatre biocomposites, les tests de dénombrement de microorganismes ont montré qu'à 0 mois de vieillissement accéléré, aucun des biocomposites n'étaient contaminés par des bactéries ou des champignons. Cela suggère que la présence de la chaux, a temporairement inhibé le développement des microorganismes déjà présents sur les granulats. Cependant, le vieillissement accéléré, a conduit à un développement de microorganismes à partir de 6 mois. En particulier, le biocomposite WaL a montré un développement des microorganismes plus important que les trois autres biocomposites WL, RL et SL. Cela peut être attribué à la présence de l'hémoglobine et de la caséine, deux additifs d'origine animale susceptibles d'assurer un environnement favorable au développement microbien. En effet, une étude comparative de l'effet de la caséine et de l'hémoglobine sur la croissance microbienne, a montré que l'hémoglobine est à l'origine de cette forte contamination microbienne et en particulier des champignons. Par ailleurs, les observations par Cryo-HRSEM ont confirmé la faible présence de microorganismes sur les quatre biocomposites avant l'exposition au vieillissement accéléré microbien. Cependant, tous les matériaux ont montré une croissance importante des microorganismes, notamment des champignons, après une exposition de six mois au vieillissement microbien.

L'analyse ionique par chromatographie a révélé des variations significatives dans les concentrations ioniques. D'une part, il y a eu une réduction notable des concentrations d'ions tels que Ca^{2+} , Na^{2+} et Mg^{2+} , probablement en raison de leur utilisation par les microorganismes, dont la présence a été confirmée par des essais de dénombrement. De plus, la diminution des concentrations d'ions Ca^{2+} peut être attribuée au phénomène de carbonatation de la chaux présente dans les biocomposites. D'autre part, on a observé une augmentation des concentrations de certains ions, notamment PO_4^- , K^+ et Na^{2+} , pouvant être attribuée aux microorganismes, notamment les champignons, capables de libérer ces ions. Par ailleurs, certaines concentrations ioniques sont restées constantes, ce qui est probablement dû à l'absence de microorganismes responsables de la consommation de ces ions.

La résistance mécanique des quatre biocomposites, a diminué progressivement entre 0 et 12 mois, avec des tendances distinctes. Les biocomposites WL, RL et SL ont enregistré respectivement une diminution de 10,68%, 25,88% et 22,5%, sans dépasser la contrainte limite

minimale. Cependant, le biocomposite WaL a connu une chute significative de sa résistance mécanique, en marquant une perte de 90,9% après 6 mois de vieillissement accéléré, dépassant ainsi la contrainte limite. Cette perte importante de résistance mécanique a rendu le biocomposite WaL incapable de supporter son poids propre et par conséquent, il ne respecte plus le critère de mise en œuvre et d'utilisation. Par ailleurs, la conductivité thermique des quatre biocomposites a également présenté une diminution progressive durant les 12 mois de vieillissement accéléré avec des réductions de 17,9%, 26,8%, 12,5% et 4,6% pour les biocomposites WL, WaL, RL et SL respectivement. Cette diminution des propriétés physiques de ces matériaux peut être attribuée à la dégradation de leur microstructure induite par les microorganismes développés.

Pour l'étude analytique, les deux modèles ont permis de déterminer le pourcentage de contamination de la surface des biocomposites. Cette quantification a ensuite été comparée à la croissance microbienne réelle observée sur les matériaux biosourcés, exprimée également par le pourcentage expérimental de contamination de leur surface. Le modèle biohygrothermal a sous-estimé la prédiction de la croissance microbienne sur les quatre biocomposites étudiés. Cependant, le modèle VTT a réussi à prédire la croissance microbienne du biocomposite WaL. Néanmoins, ce modèle a sous-estimé la croissance microbienne sur les trois autres biocomposites étudiés WL, RL et SL à cause de la mauvaise description du type de matériaux et la restriction des classes sensibles au développement microbien. Pour améliorer ces prédictions, une analyse inverse a été réalisée afin d'ajuster les estimations du modèle VTT en utilisant les données de croissances mesurées sur WL, RL et SL par la proposition de prise en compte de pourcentage des classes sensibles pour mieux représenter les matériaux hétérogènes étudiés. Ces ajustements ont conduit à la création de trois sous-classes correspondant à ces trois biocomposites, permettant ainsi une meilleure concordance entre les prédictions du modèle VTT et les observations expérimentales.

Enfin, ce travail de recherche a permis l'identification de certaines souches bactériennes cultivables présentes dans les quatre biocomposites étudiés. Trois genres bactériens ont été identifiés à partir de ces matériaux. *Nocardiopsis* d'une part, présent sur les quatre biocomposites ; *Bacillus*, d'autre part, présent uniquement sur le biocomposite WaL, formé de paille de blé, de chaux et de deux additifs d'origine animal que sont l'hémoglobine et la caséine. Ce biocomposite a présenté la plus forte contamination microbienne, démontrée par les tests de dénombrement des microorganismes. Conformément aux informations fournies par l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) [234], la fiche de données de sécurité de *Nocardiopsis* et de *Bacillus* indiquent qu'ils ne sont pas considérés dangereux selon le règlement (EC) N°1272/2008 [235]. Le troisième genre bactérien identifié est *Roseomonas* qui a également été trouvé sur le biocomposite WaL. Il convient de noter que ce genre bactérien est principalement associé à des infections chez les patients immunodéprimés, ceux atteints de maladies sous-jacentes, et/ou ceux présentant des infections préexistantes, selon des informations issues de la littérature.

Pour éviter ou réduire le développement et la prolifération des microorganismes présents dans les quatre matériaux biosourcés étudiés, des traitements ont été évalués, en impliquant l'utilisation de deux additifs antimicrobiens : la poudre de cuivre (Cu) à deux concentrations 3

Conclusions générales et perspectives

g/L et 6 g/L et le sulfate de cuivre (CuSO₄) à deux concentrations 4,2 g/L et 11 g/L. Les tests de dénombrement des microorganismes ont montré une efficacité significative de ces additifs contre le développement des bactéries et des champignons sur une période allant jusqu'à 6 mois, correspondant à l'échéance où les quatre biocomposites non-traités ont été contaminés par des microorganismes. Le traitement n'a pas montré d'influence significative sur les propriétés fonctionnelles des quatre biocomposites. Cependant, une classification basée sur l'agrégation des données obtenues à partir de ces propriétés, a permis de constater que la poudre de cuivre à une concentration de 3 g/L est la plus efficace, offrant une solution prometteuse pour prévenir la contamination microbienne tout en maintenant les caractéristiques souhaitées des matériaux biosourcés.

Le caractère pluridisciplinaire et les résultats de ce travail de recherche ouvrent quelques perspectives pour faire avancer l'état de nos connaissances sur la durabilité des matériaux biosourcés vis-à-vis des microorganismes :

- Les variations de microstructure mise en évidence dans ce travail de recherche suggèrent que des altérations des propriétés hygrothermiques pourraient se produire. Il est donc essentiel de considérer la caractérisation des propriétés hydriques comme la perméabilité à la vapeur d'eau et l'isotherme de sorption-désorption, afin de mieux appréhender les propriétés des matériaux biosourcés pour la conception des parois multicouches dans le cas d'une isolation de bâtiments neufs ou la réhabilitation de bâtiments anciens.
- Les matériaux étudiés à base de granulats végétaux sont composés essentiellement de lignine, de cellulose et d'hémicellulose en lien direct avec leur absorption d'eau. Il serait intéressant de suivre l'évolution de ces trois composants en fonction du développement des microorganismes pour évaluer l'impact des microorganismes sur la composition biochimique des granulats végétaux.
- L'utilisation d'autres types de liants, tels que l'argile (terre-crue) ou des éco-liants provenant de la biomasse comme les biopolymères, ou provenant de déchets industriels (fines de déconstruction, boues de lavage des granulats...), en substitution partielle ou totale de la chaux, ouvre la voie à une compréhension plus approfondie des avantages et des inconvénients de chaque option et élargit ainsi le champ des applications potentielles de ces matériaux écologiques.
- L'effet des conditions différentes de vieillissement accéléré sur le comportement des biocomposites étudiés, en exposant ces matériaux à une large gamme d'humidité et de température, ou à des conditions réelles climatiques à l'extérieur en utilisant une expérimentation à l'échelle réelle, serait pertinent.
- L'utilisation d'autres types de milieux de culture de bactéries et de champignons, permet de cultiver d'autres types de microorganismes, non-cultivables par les deux milieux de culture utilisés dans cette étude.
- L'étude de l'impact des types particuliers de microorganismes, connus par leur présence fréquentes et leur abondance sur les matériaux de génie civil, serait réalisée par inoculation directe des souches bactériennes ou fongiques, sur les matériaux étudiés.

Conclusions générales et perspectives

- L'identification de certaines souches fongiques cultivables présentes sur les matériaux étudiés, constitue une continuité de la partie identification des bactéries déjà réalisée dans cette étude. La tolérance de champignons identifiés à l'égard des additifs antimicrobiens à base de cuivre serait ainsi évaluée.
- L'extraction et la purification de l'ensemble de l'ADN des microorganismes présents dans ces matériaux en vue de mener une approche métagénomique permettant d'identifier les genres bactériens et fongiques correspondant.

Références

- [1] UNEP, « 2020 Global Status Report for Buildings and Construction: Towards a Zero-emissions, Efficient and Resilient Buildings and Construction Sector - Executive Summary. » 2020. [En ligne]. Disponible sur: <https://wedocs.unep.org/20.500.11822/34572>.
- [2] P. A. Saussay, G. L. Rivera, P. Malliet, et F. Reynés, « Changer de mix : Urgence et opportunité de la transition énergétique en France », *OFCE*, 2016.
- [3] E. H. Yung et E. H. Chan, « Implementation challenges to the adaptive reuse of heritage buildings: Towards the goals of sustainable, low carbon cities », *Habitat Int.*, vol. 36, n° 3, p. 352-361, 2012.
- [4] S. Amziane, L. Arnaud, et N. Challamel, *Bio-aggregate-based building materials.*, Application of hemp concrete., vol. 1. Ediia, 2013.
- [5] M. Glavind, « Sustainability of cement, concrete and cement replacement materials in construction », in *Sustainability of construction materials*, Elsevier, 2009, p. 120-147.
- [6] F. Pacheco-Torgal et S. Jalali, « Cementitious building materials reinforced with vegetable fibres: A review », *Constr. Build. Mater.*, vol. 25, n° 2, p. 575-581, 2011.
- [7] G. Y. Koga, « Comportement à la corrosion de renfort en acier noyé dans des matrices de ciment sulfo-alumineux bélitique en fonction de l'hydratation », Université Grenoble Alpes, 2017.
- [8] M. Chabannes, E. Garcia-Diaz, L. Clerc, et J.-C. Bénézet, « Effect of curing conditions and Ca (OH) 2-treated aggregates on mechanical properties of rice husk and hemp concretes using a lime-based binder », *Constr. Build. Mater.*, vol. 102, p. 821-833, 2016.
- [9] P. Peduzzi, « Sand, rarer than one thinks », *Environ. Dev.*, vol. 11, n° 208-218, p. 682, 2014.
- [10] OECD., *Global Material Resources Outlook to 2060 Economic Drivers and Environmental Consequences*. OECD publishing, 2019.
- [11] E. Prud'Homme, « Valorisation de matières premières alternatives dans les matériaux pour la construction durable », Institut National des Sciences Appliquées de Lyon; Université Lyon 1-Claude Bernard., 2022.
- [12] S. Amziane et L. Arnaud, *Bio-aggregate-based Building Materials: Applications to Hemp Concretes*. John Wiley & Sons, 2013.
- [13] NF EN 350, « Durabilité du bois et des matériaux dérivés du bois - Méthodes d'essai et de classification de la durabilité vis-à-vis des agents biologiques du bois et des matériaux dérivés du bois ». octobre 2016.
- [14] ASTM D3273-21, « Standard Test Method for Resistance to Growth of Mold on the Surface of Interior Coatings in an Environmental Chamber ». 2021.
- [15] ASTM D 6329:1998, « Standard Guide for Developing Methodology for Evaluating the Ability of Indoor Materials to Support Microbial Growth Using Static Environmental Chambers ». 1998.
- [16] F. Bennai, « Étude des mécanismes de transferts couplés de chaleur et d'humidité dans les matériaux poreux de construction en régime insaturé », Université Abderrahmane Mira-Bejaïa (Bejaïa, Algérie), 2017.
- [17] G. Delannoy, « Durabilité d'isolants à base de granulats végétaux », Université Paris-Est, 2018.
- [18] J. L. Tallec, « L'émergence des matériaux biosourcés dans le bâtiment: historique de leur évolution à travers l'exemple de la filière chanvre », p. 277, 2017.
- [19] A. M. Almusawi, « Mise en œuvre et optimisation des propriétés d'une structure sandwich en matériaux biosourcés (fibres et bois de chanvre) avec une matrice en polystyrène expansé pour le bâtiment », Université Bourgogne Franche-Comté, 2017.
- [20] T. Jami et al., « A review of the properties of hemp concrete for green building applications », *J. Clean. Prod.*, vol. 239, p. 117852, déc. 2019, doi: 10.1016/j.jclepro.2019.117852.
- [21] V. Cerezo, « Propriétés mécaniques, thermiques et acoustiques d'un matériau à base de particules végétales : approche expérimentale et modélisation théorique », Ecole Nationale des travaux publics de l'Etat, 2005.
- [22] K. Abahri, R. Belarbi, et C. E. Hachem, « Caractérisation macro-hydriques des matériaux biosourcés », *Rencontres Univ. Génie Civ.*, p. 7, 2015.
- [23] A. Sennouni et A. Labdouni, « XXIIèmes Journées Nationales Microondes 8-10 juin 2022 – Limoges », p. 5, 2022.

- [24] A. P. Nelson, « Etude de Matériaux Biosourcés pour l'Isolation Thermique des Bâtiments en Climat Tropical Humide », Antilles, 2020.
- [25] Y. Brouard, « Caractérisation et optimisation d'un composite biosourcé pour l'habitat », Université de Tours, 2018.
- [26] N. Belayachi, K. Beck, et C. Sghaier, « Comportement d'enduits à porosité contrôlée vis-à-vis de l'attaque au sel », vol. 38, p. 4, 2020.
- [27] B. Ismail et al., « Optimizing performance of insulation materials based on wheat straw, lime and gypsum plaster composites using natural additives », *Constr. Build. Mater.*, vol. 254, p. 118959, sept. 2020, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2020.118959.
- [28] N. Belayachi, M. Bouasker, D. Hoxha, et M. Al-Mukhtar, « Thermo-Mechanical Behaviour of an Innovant Straw Lime Composite for Thermal Insulation Applications », *Appl. Mech. Mater.*, vol. 390, p. 542-546, août 2013, doi: 10.4028/www.scientific.net/AMM.390.542.
- [29] M. Bouasker, N. Belayachi, D. Hoxha, et M. Al-Mukhtar, « Physical Characterization of Natural Straw Fibers as Aggregates for Construction Materials Applications », *Materials*, vol. 7, n° 4, p. 3034-3048, avr. 2014, doi: 10.3390/ma7043034.
- [30] N. Belayachi, D. Hoxha, et I. Redikultseva, « Etude Comparative du comportement hygrothermique des matériaux à base de fibres végétales », p. 8, 2015.
- [31] A. Achour, F. Ghomari, et N. Belayachi, « Properties of cementitious mortars reinforced with natural fibers », *J. Adhes. Sci. Technol.*, vol. 31, n° 17, p. 1938-1962, 2017.
- [32] G. H. D. Tonoli, H. Savastano Jr, E. Fuente, C. Negro, A. Blanco, et F. R. Lahr, « Eucalyptus pulp fibres as alternative reinforcement to engineered cement-based composites », *Ind. Crops Prod.*, vol. 31, n° 2, p. 225-232, 2010.
- [33] R. D. Tolêdo Filho, K. Scrivener, G. L. England, et K. Ghavami, « Durability of alkali-sensitive sisal and coconut fibres in cement mortar composites », *Cem. Concr. Compos.*, vol. 22, n° 2, p. 127-143, 2000.
- [34] R. Walker, S. Pavia, et R. Mitchell, « Mechanical properties and durability of hemp-lime concretes », *Constr. Build. Mater.*, vol. 61, p. 340-348, juin 2014, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2014.02.065.
- [35] H. Rabii, « Étude du vieillissement de composites renforcés par des fibres naturelles: application bâtiment », Paris Est, 2016.
- [36] F. Collet, S. Prétot, et C. Lanos, « Hemp-straw composites: thermal and hygric performances », *Energy Procedia*, vol. 139, p. 294-300, 2017.
- [37] N. El Hajj, R. Dheilily, A. Goullieux, Z. Aboura, M. Benzeggagh, et M. Quéneudec, « Innovant agromaterials formulated with flax shaves and proteinic binder: Process and characterization », *Compos. Part B Eng.*, vol. 43, n° 2, p. 381-390, 2012.
- [38] F. Collet et S. Prétot, « Thermal conductivity of hemp concretes: Variation with formulation, density and water content », *Constr. Build. Mater.*, vol. 65, p. 612-619, août 2014, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2014.05.039.
- [39] B. Ismail, « Contribution au développement et optimisation d'un système composite biosourcé-enduit de protection pour l'isolation thermique de bâtiment », Université d'Orléans, 2020.
- [40] N. Mati-Baouche, « Conception d'isolants thermiques à base de broyats de tiges de tournesol et de liants polysaccharidiques », 2015.
- [41] S. Kourtaa, « Contribution au développement d'un nouvel éco-liant chaux-sédiment marin en vue d'applications pour bétons agrosourcés », 2022.
- [42] B. Ismail, N. Belayachi, et D. Hoxha, « Hygric properties of wheat straw biocomposite containing natural additives intended for thermal insulation of buildings », *Constr. Build. Mater.*, vol. 317, p. 126049, janv. 2022, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2021.126049.
- [43] P. J. Sereda et R. F. Feldman, « Humidification et séchage des matériaux poreux », *Digeste de la Construction au Canada*, p. CBD 130F-8p, 1973.
- [44] A. Ledhem, R. Dheilily, M. Benmalek, et M. Quéneudec, « Properties of wood-based composites formulated with aggregate industry waste », *Constr. Build. Mater.*, vol. 14, n° 6-7, p. 341-350, 2000.
- [45] N. Belayachi, D. Hoxha, et B. Ismail, « Impact of fiber treatment on the fire reaction and thermal degradation of building insulation straw composite », *Energy Procedia*, vol. 139, p. 544-549, 2017.

- [46] N. Belayachi, D. Hoxha, et B. Ismail, « Effet du traitement sur les propriétés thermomécaniques et hydriques de la paille céréalière utilisée pour un matériau d'isolation thermique », *Acad. J. Civ. Eng.*, vol. 34, n° 1, p. 269-276, 2016.
- [47] N. Belayachi, D. Hoxha, et M. Slaimia, « Impact of accelerated climatic aging on the behavior of gypsum plaster-straw material for building thermal insulation », *Constr. Build. Mater.*, vol. 125, p. 912-918, 2016.
- [48] J. J. Ortega-Calvo et M. Hernandez-Marine, « Biodeterioration of Building Materials by Cyanobacteria and AJgae », *Int. Biodeterior.*, vol. 28, n° 1-4, p. 165-185, 1991.
- [49] D. Vasiliauskienė, G. Balčiūnas, R. Boris, A. Kairytė, et J. Urbonavičius, « The Impact of Microorganisms on the Performance of Linseed Oil and Tung Tree Oil Impregnated Composites Made of Hemp Shives and Corn Starch », *Microorganisms*, vol. 11, n° 2, p. 477, févr. 2023, doi: 10.3390/microorganisms11020477.
- [50] R. Siddique et al., « Effect of ureolytic bacteria on concrete properties », *Constr. Build. Mater.*, vol. 25, n° 10, p. 3791-3801, oct. 2011, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2011.04.010.
- [51] A. Perrichet, « Développement de microorganismes à la surface des bétons et enduits », *Matériaux et construction*, p. 173-177, 1984.
- [52] J. Page, « Formulation et caractérisation d'un composite cimentaire biofibré pour des procédés de construction préfabriquée », Normandie Université, 2017.
- [53] P. Monreal, L. Mboumba-Mamboundou, R. Dheilily, et M. Quéneudec, « Effects of aggregate coating on the hygral properties of lignocellulosic composites », *Cem. Concr. Compos.*, vol. 33, n° 2, p. 301-308, 2011.
- [54] J. Vincent *et al.*, « La biocalcification bactérienne en milieu marin et ses applications », *Matér. Tech.*, vol. 110, n° 6, p. 606, 2022.
- [55] M. G. Minerbe, H. M. Hernandez, I. Nour, Y. Pechaud, et T. Sedran, « Impact de la biocarbonatation multicouche sur l'absorption d'eau d'un mortier », *Acad. J. Civ. Eng.*, vol. 40, n° 3, p. 69-81, 2022.
- [56] K. Al Rim, A. Ledhem, O. Douzane, R. M. Dheilily, et M. Queneudec, « Influence of the proportion of wood on the thermal and mechanical performances of clay-cement-wood composites », *Cem. Concr. Compos.*, vol. 21, n° 4, p. 269-276, août 1999, doi: 10.1016/S0958-9465(99)00008-6.
- [57] A. D. Tran Le, « Etude des transferts hygrothermiques dans le béton de chanvre et leur application au bâtiment », Université de Reims Champagne-Ardenne, 2010.
- [58] S. Marceau *et al.*, « Influence of accelerated aging on the properties of hemp concretes », *Constr. Build. Mater.*, vol. 139, p. 524-530, mai 2017, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2016.11.129.
- [59] N. Lago, J. L. Legido, M. I. Paz Andrade, I. Arias, et L. M. Casás, « Microcalorimetric study on the growth and metabolism of *Pseudomonas aeruginosa* », *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 105, n° 2, p. 651-655, août 2011, doi: 10.1007/s10973-010-1175-0.
- [60] M. Bederina, B. Laidoudi, A. Goullieux, M. Khenfer, A. Bali, et M. Quéneudec, « Effect of the treatment of wood shavings on the physico-mechanical characteristics of wood sand concretes », *Constr. Build. Mater.*, vol. 23, n° 3, p. 1311-1315, 2009.
- [61] V. Nozahic, « Vers une nouvelle démarche de conception des bétons de végétaux lignocellulosiques basée sur la compréhension et l'amélioration de l'interface liant/végétal: application à des granulats de chenevotte et de tige de tournesol associés à un liant ponce/chaux », Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II, 2012.
- [62] M. Khazma, A. Goullieux, R. M. Dheilily, B. Laidoudi, et M. Queneudec, « Impact of aggregate coating with a PEC elastomer on properties of lightweight flax shive concrete », *Ind. Crops Prod.*, vol. 33, n° 1, p. 49-56, 2011.
- [63] J. Lanás, J. P. Bernal, M. Bello, et J. A. Galindo, « Mechanical properties of natural hydraulic lime-based mortars », *Cem. Concr. Res.*, vol. 34, n° 12, p. 2191-2201, 2004.
- [64] M. Chabannes, « Formulation et étude des propriétés mécaniques d'agrobétons légers isolants à base de balles de riz et de chenevotte pour l'éco-construction », Université Montpellier, 2015.
- [65] L. Loulou, « Durabilité d'un assemblage mixte bois-béton collé sous chargement hydrique », Université Paris-Est, 2013.
- [66] A. Ceccotti et al., « Long-term and collapse tests on a timber-concrete composite beam with glued-in connection », *Mater. Struct.*, vol. 40, n° 1, p. 15-25, janv. 2007, doi: 10.1617/s11527-006-9094-z.

Références

- [67] P. Faucon, « Durabilité du béton : physico-chimie de l'altération par l'eau », Cergy-Pontoise, 1997.
- [68] J. P. Benneton, « Durabilité des géomembranes: Vieillesse physico-chimique et endommagement mécanique », Laboratoire central des ponts et chaussées (LCPC)., p. 251, 2008.
- [69] M. Crozatier, « Étude de la durabilité d'un matériau composite bobiné sous chargements sévères », Paris, ENSAM, 2017.
- [70] M. Sall, « Amélioration de la durabilité du béton sable pour revêtement routier climat chaud et sec », 2011.
- [71] ASTM, « Standard Test Methods for Wetting and Drying Compacted Soil-Cement Mixtures », 2015.
- [72] N. Kouta, J. Saliba, et N. Saiyouri, « Effet des cycles humidification/séchage sur le comportement mécanique des bétons de terre », vol. 38, 2021.
- [73] A. Fabbri, « Physico-mécanique des matériaux cimentaires soumis au gel-dégel », Université de Marne la Vallée, 2006.
- [74] EN ISO. 15304 :2010., « Détermination de la résistance au gel/dégel du béton cellulaire Autoclavé ». 2010.
- [75] NF EN 12370, « Méthodes d'essai pour pierres naturelles - Détermination de la résistance à la cristallisation des sels ». 1999.
- [76] K. Beck et M. Al-Mukhtar, « Evaluation of the compatibility of building limestones from salt crystallization experiments », *Geol. Soc. Lond. Spec. Publ.*, vol. 333, n° 1, p. 111-118, janv. 2010, doi: 10.1144/SP333.11.
- [77] ASTM C 267-96, « American Society for Testing and Materials », 1996.
- [78] A. Kareche, « Corrosion inhibition of Fe-19Cr stainless steel by glutamic acid in 1M HCl », *Chem. Data Collect.*, vol. 28, p. 100455, août 2020, doi: 10.1016/j.cdc.2020.100455.
- [79] A. Hakimi, H. Ouissi, M. El Kortbi, et N. Yamani, « Un test d'humidification-séchage pour les blocs de terre comprimée et stabilisée au ciment », Laboratoire public d'essais et d'études (LPEE), Casablanca, Maroc, 1998.
- [80] J. Lu *et al.*, « Experimental investigation on the mechanical properties and pore structure deterioration of fiber-reinforced concrete in different freeze-thaw media », *Constr. Build. Mater.*, vol. 350, p. 128887, 2022.
- [81] L. B. Traoré, C. Ouellet-Plamondon, A. Fabbri, F. McGregor, et F. Rojat, « Experimental assessment of freezing-thawing resistance of rammed earth buildings », *Constr. Build. Mater.*, vol. 274, p. 121917, 2021.
- [82] S. Marceau, S. Caré, et P. Lesage, « Matériaux biosourcés et naturels pour une construction durable », *Séminaire Mabionat*, 2016.
- [83] S. Marceau, S. Caré, et P. Lesage, « Matériaux biosourcés et naturels pour une construction durable », MABIONAT, 2016.
- [84] A. M. Waldum et O. Anda, « Durability of lime-based mortars in a severe climate-Results from field and artificial ageing tests », *Int. RILEM Workshop Hist. Mortars Charact. Tests Rilem Publ. SARL*, p. 297-306, 1999.
- [85] A. Mohamed, « Influence de la valorisation de microfibres végétales sur la formation et la résistance aux cycles de gel-dégel de BAP », Cergy-Pontoise, 2011.
- [86] I. Khay, « Etude physico-chimique des interfaces chaux/chanvre/argile : Impact sur la rhéologie des mortiers et sur les propriétés mécaniques, thermiques et hydriques du matériau composite », Limoges, 2012.
- [87] O. Ouazz, « Etude de la dégradation des grains sous les conditions climatiques : calcul de leur dimension fractale », Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, 2014.
- [88] G. Blanc, « Développement de nouveaux composites cimentaires à bas module d'élasticité : propriétés mécaniques et durabilité vis-à-vis des sollicitations environnementales », Université Paul Sabatier-Toulouse III, 2017.
- [89] M. R. Khelifa, « Effet de l'attaque sulfatique externe sur la durabilité des bétons autoplaçants », Université de Constantine, 2009.
- [90] D. Planel, « Les effets couplés de la précipitation d'espèces secondaires sur le comportement mécanique et la dégradation chimique des bétons », Université de Marne la Vallée, 2002.

Références

- [91] L. Steger, « Etude de l'accélération des ciments à haute teneur en laitier de haut-fourneaux par du chlorure de calcium », Université Paul Sabatier-Toulouse III, 2019.
- [92] M. Viel, « Développement de composites bio-sourcés destinés à l'isolation des bâtiments », Université Rennes 1, 2018.
- [93] J. Herisson, « Biodétérioration des matériaux cimentaires dans les ouvrages d'assainissement – Etude comparative du ciment d'aluminate de calcium et du ciment Portland », Université Paris Est, 2013.
- [94] A. Grandclerc, « Compréhension des mécanismes de biodétérioration des matériaux cimentaires dans les réseaux d'assainissement: étude expérimentale et modélisation », Université Paris-Est, 2017.
- [95] C. Gaüzère, M. Moletta-Denat, E. Robine, et J. Godon, « Caractérisation de la diversité microbienne de l'air des espaces clos. », *28ème Congrès Fr. Sur Aérosols*, p. 29, 2013.
- [96] V. Wiktor, « Biodétérioration d'une matrice cimentaire par des champignons: Mise au point d'un test accéléré de laboratoire », Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, 2008.
- [97] G. Escadeillas, A. Bertron, P. Blanc, et A. Dubosc, « Accelerated testing of biological stain growth on external concrete walls. Part 1: Development of the growth tests », *Mater. Struct.*, vol. 40, n° 10, p. 1061-1071, oct. 2007, doi: 10.1617/s11527-006-9205-x.
- [98] G. Escadeillas, A. Bertron, E. Ringot, P. J. Blanc, et A. Dubosc, « Accelerated testing of biological stain growth on external concrete walls. Part 2: Quantification of growths », *Mater. Struct.*, vol. 42, n° 7, p. 937-945, août 2009, doi: 10.1617/s11527-008-9433-3.
- [99] M. A. Shirakawa, I. B. Beech, R. Tapper, M. A. Cincotto, et W. Gambale, « The development of a method to evaluate bioreceptivity of indoor mortar plastering to fungal growth », *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 51, n° 2, p. 83-92, mars 2003, doi: 10.1016/S0964-8305(01)00129-9.
- [100] K. F. Nielsen, G. Holm, L. P. Uttrup, et P. A. Nielsen, « Mould growth on building materials under low water activities. Influence of humidity and temperature on fungal growth and secondary metabolism », *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 54, n° 4, p. 325-336, déc. 2004, doi: 10.1016/j.ibiod.2004.05.002.
- [101] M. G. Minerbe *et al.*, « Impact d'un vieillissement fongique sur la durabilité de composites PE/fibre de lin », *Acad. J. Civ. Eng.*, vol. 34, n° 1, 2016.
- [102] P. Hellebois, S. Marceau, M. Gueguen, et S. Amziane, « Influence of wetting-drying cycles on the mechanical, physico-chemical, and microstructural properties of hemp concretes », présenté à 7th International RILEM symposium on Self-Compacting Concrete, 2013, p. 2p.
- [103] Th. Warscheid et J. Braams, « Biodeterioration of stone: a review », *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 46, n° 4, p. 343-368, déc. 2000, doi: 10.1016/S0964-8305(00)00109-8.
- [104] A. Simons, « Caractérisation et maîtrise de la prolifération microbienne dans des produits biosourcés pour des bâtiments sains et durables », Université Paul Sabatier-Toulouse III, 2018.
- [105] N. Contet-Audonou, « Les onyxis à moisissures. », *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2005, n° 373, p. 35-44, 2005.
- [106] P. Boiron et E. Périlleux, *Organisation et biologie des champignons.*, Nathan. 1996.
- [107] H. Barberousse, « Etude de la diversité des algues et des cyanobactéries colonisant les revêtements de façade en France et recherche des facteurs favorisant leur implantation », Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS, 2006.
- [108] R. Willame et L. Hoffmann, « Les cyanobactéries (algues bleues) responsables d'efflorescences dans les eaux stagnantes », Rapport final du Centre de recherche public Gabriel Lippmann, 2005.
- [109] L. M. Prescott, J. M. Willey, et L. M. Sherwood, *Microbiologie*. De Boeck Supérieur, 2018.
- [110] R. Kumar et A. Kumar, *Biodeterioration of stone in tropical environments: an overview*. 1999.
- [111] C. Urzì et F. De Leo, « Evaluation of the efficiency of water-repellent and biocide compounds against microbial colonization of mortars », *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 60, n° 1, p. 25-34, juill. 2007, doi: 10.1016/j.ibiod.2006.11.003.
- [112] D. Lebeaux et J.-M. Ghigo, « Infections associées aux biofilms: Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale? », *médecine/sciences*, vol. 28, n° 8-9, p. 727-739, août 2012, doi: 10.1051/medsci/2012288015.
- [113] L. Tomaselli, « Biodeterioration processes on inorganic substrata. », *Coalition*, p. 5-9, 2003.

Références

- [114] W. J. Scotti', « Water relations of staphylococcus aureus at 30°C », *Australian journal of biological sciences*.
- [115] A. I. Kouadio, A. Lebrihi, G. N. Z. Agbo, F. Mathieu, A. Pfohl-Leszkowiz, et M. B. Dosso, « Influence de l'interaction de la température et de l'activité de l'eau sur la croissance et la production de l'ochratoxine A par *Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonarius* et *Aspergillus ochraceus* sur un milieu de base café », *Can. J. Microbiol.*, vol. 53, n° 7, p. 852-859, juill. 2007, doi: 10.1139/W06-143.
- [116] F. Semboung Lang, J. Destain, P. Druart, M. Ongena, et P. Thonart, « Les microorganismes dans le maintien de l'équilibre et la réhabilitation des écosystèmes de mangrove pollués par les hydrocarbures. Revue bibliographique », *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, vol. 10, n° 5, p. 2268, mars 2017, doi: 10.4314/ijbcs.v10i5.26.
- [117] Y. Richard, N. Laflamme, et G. Moreau, « Colonisation par les micro-organismes, evolution chimique des feuilles de differentes especes d'arbres (peuplier, aulne, myrique) dans des eaux oligotrophes du Bouclier canadien et incidence sur leur utilisation par les macro-invertébrés », *Hydrobiologia*, n° 96, p. 65-75, 1982.
- [118] M. Durand, P. Beaumatin, et C. Dumay, « Estimation in vitro à l'aide du phosphore radioactif des besoins en phosphore des microorganismes du rumen », *Reprod. Nutr. Dév.*, vol. 23, n° 4, p. 727-739, 1983, doi: 10.1051/rnd:19830506.
- [119] S. Komisarczuk-Bony, M. Carcelen, et C. Huc, « Influence de la dose de soufre élémentaire sur l'activité fermentaire des microbes du rumen dans un système de fermentation semi-continu », *Ann. Zootech.*, vol. 42, n° 2, p. 172-173, 1993.
- [120] H. Chemani, « Nouvelle formulation d'éléments de construction, bioclimatiques par ajout d'eau rejetée d'abattoir », *CFM 2017-23ème Congrès Fr. Mécanique AFM Maison Mécanique*, n° 39/41, 2017.
- [121] M. F. Roquebert, « Les moisissures: nature, biologie et contamination », *Documentation Muséum d'Histoire Naturelle, Laboratoire de Cryptogamie.*, 1997.
- [122] T. Verdier, M. Coutand, A. Bertron, et C. Roques, « A review of indoor microbial growth across building materials and sampling and analysis methods », *Build. Environ.*, vol. 80, p. 136-149, oct. 2014, doi: 10.1016/j.buildenv.2014.05.030.
- [123] K. Pedersen, « Biofilm development on stainless steel and pvc surfaces in drinking water », *Water Res.*, vol. 24, n° 2, p. 239-243, févr. 1990, doi: 10.1016/0043-1354(90)90109-J.
- [124] E. Vanhaecke, J. P. Remon, M. Moors, F. Raes, D. De Rudder, et A. Van Peteghem, « Kinetics of *Pseudomonas aeruginosa* adhesion to 304 and 316-L stainless steel: role of cell surface hydrophobicity », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 56, n° 3, p. 788-795, mars 1990, doi: 10.1128/aem.56.3.788-795.1990.
- [125] L. R. Hilbert, D. Bagge-Ravn, J. Kold, et L. Gram, « Influence of surface roughness of stainless steel on microbial adhesion and corrosion resistance », *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 52, n° 3, p. 175-185, oct. 2003, doi: 10.1016/S0964-8305(03)00104-5.
- [126] S. Eick, E. Glockmann, B. Brandl, et W. Pfister, « Adherence of *Streptococcus mutans* to various restorative materials in a continuous flow system », *J. Oral Rehabil.*, vol. 31, n° 3, p. 278-285, mars 2004, doi: 10.1046/j.0305-182X.2003.01233.x.
- [127] N. Bur, S. Roux, L. Delmas, Y. Géraud, et F. Feugeas, « Porosité des mortiers et bioréceptivité », *Matér. Tech.*, vol. 98, n° 1, p. 31-40, 2010, doi: 10.1051/mattech/2009047.
- [128] R. Sébastien, « Evaluation des risques de biodégradation des bétons en contact avec une eau douce naturelle », Université Louis Pasteur, Strasbourg I, 2008.
- [129] E. Dalod, « Influence de la composition chimique de mortiers sur leur biodétérioration par les algues », Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, Saint-Etienne, 2015.
- [130] M. Labat, C. Magniont, N. Oudhof, et J.-E. Aubert, « From the experimental characterization of the hygrothermal properties of straw-clay mixtures to the numerical assessment of their buffering potential », *Build. Environ.*, vol. 97, p. 69-81, 2016.
- [131] C. Grant, C. A. Hunter, B. Flannigan, et A. F. Bravery, « The moisture requirements of moulds isolated from domestic dwellings », *Int. Biodeterior.*, vol. 25, n° 4, p. 259-284, janv. 1989, doi: 10.1016/0265-3036(89)90002-X.
- [132] M. A. Andersson *et al.*, « Bacteria, molds, and toxins in water-damaged building materials », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 63, n° 2, p. 387-393, févr. 1997, doi: 10.1128/aem.63.2.387-393.1997.

Références

- [133] H. Yuan, P. Dangla, P. Chatellier, et T. Chaussadent, « Degradation modeling of concrete submitted to biogenic acid attack », *Cem. Concr. Res.*, vol. 70, p. 29-38, avr. 2015, doi: 10.1016/j.cemconres.2015.01.002.
- [134] T. Verdier, « Elaboration de revêtements pour matériaux de construction visant à lutter contre la prolifération microbienne à l'intérieur des bâtiments: efficacité et mode d'action », Université Paul Sabatier-Toulouse III, 2015.
- [135] C. Rubio, « Compréhension des mécanismes d'adhésion des biofilms en milieu marin en vue de la conception de nouveaux moyens de prévention », Université Paris 6, 2002.
- [136] M. P. Buttner, P. Cruz, L. D. Stetzenbach, et T. Cronin, « Evaluation of Two Surface Sampling Methods for Detection of *Erwinia herbicola* on a Variety of Materials by Culture and Quantitative PCR », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 73, n° 11, p. 3505-3510, juin 2007, doi: 10.1128/AEM.01825-06.
- [137] R. Santucci, O. Meunier, M. Ott, F. Herrmann, A. Freyd, et F. de Blay, « Contamination fongique des habitations : bilan de 10 années d'analyses », *Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin.*, vol. 47, n° 6, p. 402-408, oct. 2007, doi: 10.1016/j.allerg.2007.02.105.
- [138] A.-P. Bellanger *et al.*, « Indoor fungal contamination of moisture-damaged and allergic patient housing analysed using real-time PCR », *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 49, n° 2, p. 260-266, août 2009, doi: 10.1111/j.1472-765X.2009.02653.x.
- [139] L. Rose, B. Jensen, A. Peterson, S. N. Banerjee, et M. J. Arduino, « Swab Materials and *Bacillus anthracis* Spore Recovery from Nonporous Surfaces », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 10, n° 6, p. 1023-1029, juin 2004, doi: 10.3201/eid1006.030716.
- [140] J. M. Edmonds, P. J. Collett, E. R. Valdes, E. W. Skowronski, G. J. Pellar, et P. A. Emanuel, « Surface Sampling of Spores in Dry-Deposition Aerosols », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 75, n° 1, p. 39-44, janv. 2009, doi: 10.1128/AEM.01563-08.
- [141] C. N. Haas, « Microorganisms in home and indoor work environments: diversity, health impacts, investigation and control edited by Brian Flannigan, Robert A. Samson, and J. David Miller. », *Risk Analysis*, p. 1327-1327, 2011.
- [142] S. Roux, F. Feugeas, et A. Cornet, « Biodégradation des bétons : analyse des bétons et mortiers en contact avec une eau douce naturelle », *Matér. Tech.*, vol. 93, p. s.123-s.135, 2005, doi: 10.1051/mattech:2006011.
- [143] F. Roubinet, G. Cassar, et B. Gleizes, « Principes de la cytométrie en flux », *Ann. Rech. Vét.*, vol. 20, n° 2, p. 221-222, 1989.
- [144] A. S. A. Ashoor, « Impact des éléments trace métalliques sur le milieu et apport de la cytométrie en flux dans l'étude du fonctionnement des lagunes de la décharge d'Etueffont (Territoire de Belfort, France) », Université de Franche-Comté, 2016.
- [145] V. Georges, « Comportement de matériaux cimentaires en eau douce naturelle: analyse de l'influence des micro-organismes », Université de Lorraine, 2017.
- [146] J. Ducasse-Lapeyrusse, C. Lors, R. Gagné, et D. Damidot, « Biocicatrisation : application à la réparation de mortiers âgés », *Matér. Tech.*, vol. 103, n° 2, p. 207, 2015, doi: 10.1051/mattech/2015010.
- [147] O. Holm-Hansen et C. R. Booth, « The measurement of adenosine triphosphate in the ocean and its ecological significance : adenosine triphosphate in the ocean », *Limnol. Oceanogr.*, vol. 11, n° 4, p. 510-519, avr. 1966, doi: 10.4319/lo.1966.11.4.0510.
- [148] M. L. Kent, « Characteristics and Identification of *Pasteurella* and *Vibrio* Species Pathogenic to Fishes using API-20E (Analytab Products) Multitube Test Strips », *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, vol. 39, n° 12, p. 1725-1729, déc. 1982, doi: 10.1139/f82-229.
- [149] R. Bocquentin et G. Duvallet, « Amélioration de la reproductibilité du test ELISA adapté à la détection d'anticorps anti-Trypanosoma congolense chez les bovins », *Rev. D'élevage Médecine Vét. Pays Trop.*, vol. 43, n° 2, p. 179-186, févr. 1990, doi: 10.19182/remvt.8844.
- [150] Biomérieux, « API Reference Guide », www.biomerieuxDIRECT.com.
- [151] N. Singhal, M. Kumar, P. K. Kanaujia, et J. S. Virdi, « MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis », *Front. Microbiol.*, vol. 6, août 2015, doi: 10.3389/fmicb.2015.00791.
- [152] C. Gaüzere, « Caractérisation de la diversité microbienne de l'air des espaces clos », *Sci. Tech.*, p. 291, 2012.

- [153] A. Nocker, M. Burr, et A. K. Camper, « Genotypic Microbial Community Profiling: A Critical Technical Review », *Microb. Ecol.*, vol. 54, n° 2, p. 276-289, juill. 2007, doi: 10.1007/s00248-006-9199-5.
- [154] S. A. F. Duarte, F. Cássio, et C. Pascoal, « Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology: insights from freshwaters », 2012.
- [155] T. D. Bruns et R. P. Shefferson, « Evolutionary studies of ectomycorrhizal fungi: recent advances and future directions », *Can. J. Bot.*, vol. 82, n° 8, p. 1122-1132, août 2004, doi: 10.1139/b04-021.
- [156] M. S. Mirza, J. L. W. Rademaker, J. D. Janse, et A. D. L. Akkermans, « Specific 16S ribosomal RNA targeted oligonucleotide probe against *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* », *Can. J. Microbiol.*, vol. 39, n° 11, p. 1029-1034, nov. 1993, doi: 10.1139/m93-156.
- [157] J. Weissenbach et A. Sghir, « Microbiotes et métagénomique », *médecine/sciences*, vol. 32, n° 11, p. 937-943, nov. 2016, doi: 10.1051/medsci/20163211008.
- [158] K. Andersen *et al.*, « Meta-barcoding of 'dirt' DNA from soil reflects vertebrate biodiversity: META-BARCODING OF 'DIRT' DNA FROM SOIL », *Mol. Ecol.*, vol. 21, n° 8, p. 1966-1979, avr. 2012, doi: 10.1111/j.1365-294X.2011.05261.x.
- [159] S. Wang *et al.*, « Microbial richness of marine biofilms revealed by sequencing full-length 16S rRNA genes », *Genes*, vol. 13, n° 6, p. 1050, 2022.
- [160] B. Maude et D. Schorderet, « Cost comparison of molecular diagnosis of retinitis pigmentosa between Sanger and high-throughput sequencing », p. 2012.
- [161] A. Marceau-Renaut *et al.*, « New-generation sequencing (NGS) in hematologic oncology laboratories », *Hématologie*, vol. 19, n° 2, p. 112-122, mars 2013, doi: 10.1684/hma.2013.0792.
- [162] T. Malausa *et al.*, « High-throughput microsatellite isolation through 454 GS-FLX Titanium pyrosequencing of enriched DNA libraries », *Mol. Ecol. Resour.*, vol. 11, n° 4, p. 638-644, juill. 2011, doi: 10.1111/j.1755-0998.2011.02992.x.
- [163] M. Meyer et M. Kircher, « Illumina Sequencing Library Preparation for Highly Multiplexed Target Capture and Sequencing », *Cold Spring Harb. Protoc.*, vol. 2010, n° 6, p. pdb.prot5448, juin 2010, doi: 10.1101/pdb.prot5448.
- [164] B. Merriman, I. T. R&D Team, et J. M. Rothberg, « Progress in Ion Torrent semiconductor chip based sequencing: Nanoanalysis », *ELECTROPHORESIS*, vol. 33, n° 23, p. 3397-3417, déc. 2012, doi: 10.1002/elps.201200424.
- [165] A. Valentini, F. Pompanon, et P. Taberlet, « DNA barcoding for ecologists », *Trends Ecol. Evol.*, vol. 24, n° 2, p. 110-117, févr. 2009, doi: 10.1016/j.tree.2008.09.011.
- [166] P. Besnard, J. E. Christensen, A. Bernard, X. Collet, B. Verges, et R. Burcelin, « Variabilité de la perception oléosensorielle des lipides chez les sujets obèses : l'hypothèse du microbiote buccal », *Cah. Nutr. Diététique*, vol. 56, n° 5, p. 292-299, oct. 2021, doi: 10.1016/j.cnd.2021.08.002.
- [167] H. Falentin *et al.*, « Guide pratique à destination des biologistes, bioinformaticiens et statisticiens qui souhaitent s'initier aux analyses métabarcoding », *Cah. Tech. INRA*, 2019.
- [168] M. Tarfa, « Towards a metranscriptomic comparison of two alpine soils under contrasted snow cover », Université Grenoble, 2011.
- [169] T. Wells et R. E. Melchers, « An observation-based model for corrosion of concrete sewers under aggressive conditions », *Cem. Concr. Res.*, vol. 61-62, p. 1-10, juill. 2014, doi: 10.1016/j.cemconres.2014.03.013.
- [170] R. D. Pomeroy, « The problem of hydrogen sulphide in sewers », *Clay Pipe Dev. Assoc. Ltd Lond. 2 Nd Ed. G Boon 1990 24*, 1990.
- [171] A. 14 IEA, « IEA-Annex 14. Condensation and Energy. Guidelines and practice. 1990 ». Catalogue of material properties, 1990.
- [172] H. Hens, « Mold in dwellings: field studies in a moderate climate », *Proc. 24th AIVC Conf. BETEC Conf. Vent. Humidity Control Energy*, p. 8, 2006.
- [173] O. C. Adan et R. A. Samson, *Fungal disfigurement of interior finishes*. London: Chapman & Hall, 1994.
- [174] S. Johansson, L. Wadsö, et K. Sandin, « Estimation of mould growth levels on rendered façades based on surface relative humidity and surface temperature measurements », *Build. Environ.*, vol. 45, n° 5, p. 1153-1160, mai 2010, doi: 10.1016/j.buildenv.2009.10.022.

- [175] G. Ayerst, « The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi », *J. Stored Prod. Res.*, vol. 5, n° 2, p. 127-141, août 1969, doi: 10.1016/0022-474X(69)90055-1.
- [176] S. L. Smith et S. T. Hill, « Influence of temperature and water activity on germination and growth of *Aspergillus restrictus* and *A. versicolor* », *Trans. Br. Mycol. Soc.*, vol. 79, n° 3, p. 558-560, janv. 1982, doi: 10.1016/S0007-1536(82)80058-2.
- [177] K. Sedlbauer, « Prediction of mould fungus formation on the surface of and inside building components. », Fraunhofer Institute for Building Physics, 2001.
- [178] K. Sedlbauer, « Prediction of Mould Growth by Hygrothermal Calculation », *J. Therm. Envel. Build. Sci.*, vol. 25, n° 4, p. 321-336, avr. 2002, doi: 10.1177/0075424202025004093.
- [179] A. Hukka et H. A. Viitanen, « A mathematical model of mould growth on wooden material », *Wood Sci. Technol.*, vol. 33, n° 6, p. 475-485, déc. 1999, doi: 10.1007/s002260050131.
- [180] H. Viitanen *et al.*, « Moisture and Bio-deterioration Risk of Building Materials and Structures », *J. Build. Phys.*, vol. 33, n° 3, p. 201-224, janv. 2010, doi: 10.1177/1744259109343511.
- [181] O. Salimi, « Impact sanitaire des moisissures de l'environnement domestique dans la wilaya de Rabat-Salé-Zemmour-Zaër », 2011.
- [182] C. Molina, « Qualité de l'air et allergie. », *Rev. Fr. Lab.*, vol. 2003, n° 349, p. 35-42, 2003.
- [183] D. Fouquet, « Les termites dans les Dom-Tom: principales espèces attaquant les bois oeuvrés », 2000.
- [184] J. Vallet, A. Govin, C. Lors, P. Grosseau, et D. Damidot, « Développement d'un traitement préventif contre la biocolonisation algale des matériaux cimentaires », présenté à XIII^{ème} Forum Biodétérioration des Matériaux, © EDP Sciences, 2016.
- [185] G. Fronteau, M. Gommeaux, et C. Thomachot-Schneider, « Estimation de l'efficacité et de la durabilité par vieillissement naturel des produits protecteurs de la pierre: le programme... », *Matér. Tech.*, vol. 99, p. 547-553, 2011.
- [186] Y. Cètre et J. Goudiakas, « Les matériaux et la corrosion dans les industries chimiques et parachimiques », *Matér. Tech.*, vol. 89, n° 5-6, p. 51-56, 2001.
- [187] L. Tamayo, M. Azócar, M. Kogan, A. Riveros, et M. Páez, « Copper-polymer nanocomposites: An excellent and cost-effective biocide for use on antibacterial surfaces », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 69, p. 1391-1409, déc. 2016, doi: 10.1016/j.msec.2016.08.041.
- [188] M. Talantikit, « Effet antibactériens des nanoparticules de cuivre, oxyde de cuivre », École Polytechnique de Montréal, 2014.
- [189] M. Vlad, M. Drouin, et V. Landry, « Améliorer la stabilité dimensionnelle et la résistance aux moisissures par des stratégies d'imprégnation de surface », p. 62, 2012.
- [190] J. L. P. Santos, « Estimation of growth parameters of six different fungal species for selection of strains to be used in challenge tests of bakery products », *Food Biosci.*, vol. 20, p. 62-66, déc. 2017, doi: 10.1016/j.fbio.2017.08.006.
- [191] K. Fog Nielsen, « Mycotoxin production by indoor molds », *Fungal Genet. Biol.*, vol. 39, n° 2, p. 103-117, juill. 2003, doi: 10.1016/S1087-1845(03)00026-4.
- [192] P. Krijgsheld *et al.*, « Development in *Aspergillus* », *Stud. Mycol.*, vol. 74, p. 1-29, mars 2013, doi: 10.3114/sim0006.
- [193] L. Greenspan, « Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions », *J. Res. Natl. Bur. Stand. Sect. Phys. Chem.*, vol. 81A, n° 1, p. 89, janv. 1977, doi: 10.6028/jres.081A.011.
- [194] S. Amziane, F. Collet, M. Lawrence, C. Magniont, V. Picandet, et M. Sonebi, « Recommendation of the RILEM TC 236-BBM: characterisation testing of hemp shiv to determine the initial water content, water absorption, dry density, particle size distribution and thermal conductivity », *Mater. Struct.*, vol. 50, n° 3, p. 167, juin 2017, doi: 10.1617/s11527-017-1029-3.
- [195] B. D. Ripley, « The R Project in Statistical Computing », *MSOR Connect.*, vol. 1, n° 1, p. 23-25, févr. 2001, doi: 10.11120/msor.2001.01010023.
- [196] J. R. Marchesi *et al.*, « Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 64, n° 2, p. 795-799, 1998.
- [197] A. Gargas et J. W. Taylor, « Polymerase Chain Reaction (PCR) Primers for Amplifying and Sequencing Nuclear 18S rDNA from Lichenized Fungi », *Mycologia*, vol. 84, n° 4, p. 589-592, juill. 1992, doi: 10.1080/00275514.1992.12026182.

Références

- [198] NF X31-103, « Qualité des sols. Mesure du pH dans l'eau. Méthode électrométrique. » 1988.
- [199] R. Apkarian, « Cryo-temperature stages in nanostructural research », *Scanning Microscopy for Nanotechnology*, 2006.
- [200] C. Défarge et al., « Apports du cryo-microscope électronique à balayage à émission de champ à l'étude des matières organiques et des relations organo-minérales naturelles. Application aux croutes microbiotiques des sols », p. 7, 1999.
- [201] M. Krus et K. Sedlbauer, « Mould growth prediction by computational simulation », *Fraunhofer Inst. Build. Phys.*, p. 8, 2001.
- [202] C. Magniont, G. Escadeillas, et M. Coutand, « Use of plant aggregates in building ecomaterials », *Eur. J. Environ. Civ. Eng.*, 2012.
- [203] H. H. Ratsimbazafy, « Évaluation du potentiel de co-produits agricoles locaux valorisables dans le domaine des matériaux de construction (PALOMAC) », Université Paul Sabatier-Toulouse III, 2022.
- [204] T. A. Phung, « Formulation et caractérisation d'un composite terre-fibres végétales: la bauge », Normandie Université, 2018.
- [205] H. Lenormand, A. Mahieu, N. Leblanc, et A. Vivet, « Nouvelles agroressources pour panneaux de particules 100% biosourcés », *Conférence Matér. 2014-Colloq. Ecomatériau*, 2014.
- [206] M. Lagouin, C. Magniont, P. Sénéchal, P. Moonen, et J.-E. Aubert, « c », présenté à 36èmes Rencontres de l'AUGC, 2018, p. 30-34.
- [207] C. Haroun, « Etude du vieillissement de nouvelles formulations de polypropylène oxo dégradables dans le sol », 2021.
- [208] K. Chaiche, M. K. M. Abdelmalek, M. H.-A. Baelhadj, et M. K. Mokhtar, « Caractérisation microbiologique des poussières sahariennes transportées en surface du sol du bas Sahara », 2018.
- [209] I. Saeed *et al.*, « Assessment of mold and yeast in some bakery products of Lahore, Pakistan based on LM and SEM », *Microsc. Res. Tech.*, vol. 82, n° 2, p. 85-91, févr. 2019, doi: 10.1002/jemt.23103.
- [210] G. Mainelis *et al.*, « Electrical charges on airborne microorganisms », *J. Aerosol Sci.*, vol. 32, n° 9, p. 1087-1110, sept. 2001, doi: 10.1016/S0021-8502(01)00039-8.
- [211] A. Dellal et A. Halitim, « Activités microbiologiques en conditions salines: cas de quelques sols salés de la région de Relizane (Algérie) », *Cah. Agric.*, vol. 1, n° 5, p. 335-340, 1992.
- [212] F. Pennec *et al.*, « A combined finite-discrete element method for calculating the effective thermal conductivity of bio-aggregates based materials », *Int. J. Heat Mass Transf.*, vol. 60, p. 274-283, mai 2013, doi: 10.1016/j.ijheatmasstransfer.2013.01.002.
- [213] A. Laborel-Préneron, J. E. Aubert, C. Magniont, C. Tribout, et A. Bertron, « Plant aggregates and fibers in earth construction materials: A review », *Constr. Build. Mater.*, vol. 111, p. 719-734, mai 2016, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2016.02.119.
- [214] G. Oriol, F. Bousta, A. François, I. Pallot-Frossard, et T. Warscheid, « Gestion des activités biologiques à Lascaux: identification des microorganismes, contrôles, traitements », *LRMH Fr. LBW Bioconsult Allem.*, p. 29, 2009.
- [215] W. Kamdem et A. Joel, « Stabilisation et hygiénisation alcaline des biosolides issus de la déshydratation des boues de vidange dans une perspective de valorisation agricole dans la ville de Yaoundé, Cameroun », 2022, [En ligne]. Disponible sur: <http://hdl.handle.net/2268.2/15627>
- [216] L. Arnaud et E. Gourlay, « Experimental study of parameters influencing mechanical properties of hemp concretes », *Constr. Build. Mater.*, vol. 28, n° 1, p. 50-56, 2012.
- [217] C. Chabrouillet, « Étude de la remobilisation d'éléments traces à partir d'un sol de surface contaminé: Influence du vieillissement des composés », Laboratoire de Radioécologie et d'Ecotoxicologie, Nanterre, 2007.
- [218] H. Mokrane, « Valorisation de l'hémoglobine bovine par hydrolyse enzymatique », 1997.
- [219] A. Mosset, J. Bonnet, et Y. Jeannin, « Structure moléculaire et cristalline du diaquabis [acide diamino-2, 3-propionique (N₂, O)] diperchloratocuvivre (II)—exemple d'un acide aminé coordonné sous forme de zwitterion », *Acta Crystallogr. B*, vol. 32, n° 2, p. 591-596, 1976.
- [220] H. COO, H. H&C, et N. COO, « LES ACIDES AMINÉS α -L LIÉS PAR DES LIAISONS PEPTIDIQUES FORMENT LES PEPTIDES », *Biochim. Harper*, p. 37, 2002.
- [221] S. Bahou, N. Nadjemi, et Y. Chergui, « Synthèse organique de quelque nucléosides à partir d'un acide aminé », Université Ahmed Draia-Adrar, 2022.

- [222] M. Desmazeaud, « L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques », *Le lait*, vol. 63, n° 629-630, p. 267-316, 1983.
- [223] L. Xu, F. Zha, C. Liu, B. Kang, J. Liu, et C. Yu, « Experimental Investigation on Carbonation Behavior in Lime-Stabilized Expansive Soil », *Adv. Civ. Eng.*, vol. 2020, p. 1-14, févr. 2020, doi: 10.1155/2020/7865469.
- [224] S. M. Rao et P. Shivananda, « Role of curing temperature in progress of lime-soil reactions », *Geotech. Geol. Eng.*, vol. 23, p. 79-85, 2005.
- [225] H. C. Flemming, « Relevance of biofilms for the biodeterioration of surfaces of polymeric materials », *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 59, n° 1-3, p. 309-315, janv. 1998, doi: 10.1016/S0141-3910(97)00189-4.
- [226] S. Leznicka, A. Strzelczyk, D. Wandrychowska, et J. Ciabach, « Removing of fungal stains from stone-works », présenté à VIth International Congress on deterioration and conservation of stone. Supplement.= VIe Congrès International sur l'altération et la conservation de la pierre. Torun, 12-14.09. 1988, 1988, p. 102-110.
- [227] C. E. Urzi, W. E. Krumbein, et T. Warscheid, « On the question of biogenic colour changes of Mediterranean monuments (coating, crust, microstromatolite, patina, scialbatura, skin, rock varnish) », présenté à La conservation des monuments dans le bassin méditerranéen. Actes du 2ème symposium international. Genève, 19-21 novembre 1991= The conservation of monuments in the Mediterranean Basin. Proceedings of the 2nd international symposium. Genève, 19-21 Novembre 1991, 1992, p. 397-420.
- [228] A. M. T. Monroy, « Etude de la potentialité du développement de micro-organismes sur des matériaux d'isolation bio-sourcés et conventionnels utilisés dans la rénovation de bâtiments: impacts sur la qualité de l'air intérieur », Ecole nationale supérieure Mines-Télécom Atlantique, 2020.
- [229] M. C. Shearer, P. M. Colman, et C. H. Nash III, « Nocardiosis mutabilis, a new species of nocardioform bacteria isolated from soil », *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 33, n° 2, p. 369-374, 1983.
- [230] J. Schäfer, U. Jäckel, et P. Kämpfer, « Analysis of Actinobacteria from mould-colonized water damaged building material », *Syst. Appl. Microbiol.*, vol. 33, n° 5, p. 260-268, août 2010, doi: 10.1016/j.syapm.2010.04.006.
- [231] B. M. Souza *et al.*, « σ ECF factors of gram-positive bacteria: a focus on *Bacillus subtilis* and the CMNR group », *Virulence*, vol. 5, n° 5, p. 587-600, 2014.
- [232] M. Sharma, N. Satyam, et K. R. Reddy, « Investigation of various gram-positive bacteria for MICP in Narmada Sand, India », *Int. J. Geotech. Eng.*, vol. 15, n° 2, p. 220-234, 2021.
- [233] T. Rosado *et al.*, « Assessment of microbiota present on a Portuguese historical stone convent using high-throughput sequencing approaches », *MicrobiologyOpen*, vol. 9, n° 6, p. 1067-1084, juin 2020, doi: 10.1002/mbo3.1030.
- [234] ECHA, « Agence européenne des produits chimiques (ECHA) — Comment l'Union européenne réglemente les produits chimiques ». 2006.
- [235] (EC) No 1272/2008, « Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006 (Text with EEA relevance) ». 2008.
- [236] S. Romano-Bertrand *et al.*, « Skin microbiota is the main reservoir of *Roseomonas mucosa*, an emerging opportunistic pathogen so far assumed to be environmental », *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 22, n° 8, p. 737-e1, 2016.
- [237] N. Diesendorf, S. Köhler, W. Geißdörfer, T. Grobecker-Karl, M. Karl, et A. Burkovski, « Characterisation of *Roseomonas mucosa* isolated from the root canal of an infected tooth », *BMC Res. Notes*, vol. 10, n° 1, p. 1-6, 2017.
- [238] S. Shao, X. Guo, P. Guo, Y. Cui, et Y. Chen, « *Roseomonas mucosa* infective endocarditis in patient with systemic lupus erythematosus: case report and review of literature », *BMC Infect. Dis.*, vol. 19, n° 1, p. 1-6, 2019.
- [239] J. L. Sagripanti, L. B. Routson, et C. D. Lytle, « Virus inactivation by copper or iron ions alone and in the presence of peroxide », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 59, n° 12, p. 4374-4376, déc. 1993, doi: 10.1128/aem.59.12.4374-4376.1993.

Références

- [240] C. E. Santo *et al.*, « Bacterial Killing by Dry Metallic Copper Surfaces », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 77, n° 3, p. 794-802, févr. 2011, doi: 10.1128/AEM.01599-10.
- [241] M. Horie *et al.*, « Inactivation and morphological changes of avian influenza virus by copper ions », *Arch. Virol.*, vol. 153, n° 8, p. 1467-1472, août 2008, doi: 10.1007/s00705-008-0154-2.
- [242] A. Sharma, D. Shankhdhar, et S. C. Shankhdhar, « Potassium-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in potassium solubilization and uptake », *Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture*, p. 203-219, 2016.
- [243] T. C. Setiawati et L. Mutmainnah, « Solubilization of Potassium Containing Mineral by Microorganisms From Sugarcane Rhizosphere », *Agric. Agric. Sci. Procedia*, vol. 9, p. 108-117, 2016, doi: 10.1016/j.aaspro.2016.02.134.
- [244] A. Mekkaoui, « Influence de l'apport de la matière organique végétale (*Vicia faba*), sur l'évolution des micro-organismes dans le sol », 2004.
- [245] A. S. Ouattara, « Contribution à l'étude des bactéries réductrices du fer et du sulfate dans les sols de rizière de la vallée du Kou (Burkina Faso) », Université Aix-Marseille 1, 1992.
- [246] S. Guergazi et S. Achour, « Caractéristiques physico-chimiques des eaux d'alimentation de la ville de Biskra. Pratique de la chloration », *Larhyss J.*, vol. 4, p. 119-127, 2005.
- [247] A. M. Müller, F. Heim, et C. Folberth, « Les micro-organismes—une contribution à la fumure de demain », *Rech. Agron. Suisse*, p. 356, 2013.
- [248] A. M. Marini, « Des transporteurs d'ammonium de levure aux facteurs rhésus humains », *Bull. Académie R. Belg.*, vol. 20, n° 1, p. 47-48, 2009.
- [249] D. Bouaoun et J. Aoun, « Élimination du phosphore, de l'ammonium et des nitrates par alternance de phases dans des réacteurs biologiques », *Environ. Ingénierie Dév.*, 2004.
- [250] J. R. Conway, A. S. Adeleye, J. Gardea-Torresdey, et A. A. Keller, « Aggregation, Dissolution, and Transformation of Copper Nanoparticles in Natural Waters », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 49, n° 5, p. 2749-2756, mars 2015, doi: 10.1021/es504918q.
- [251] S. U. Pickering, « The carbonates of copper and the cupricarbonates. », *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 95, 1409-1429., 1904.
- [252] J. Kontrec, M. Ukrainczyk, V. Babić-Ivančić, et D. Kralj, « Synthesis of Calcium Carbonate by Semicontinuous Carbonation Method in the Presence of Dextrans », *Croat. Chem. Acta*, p. 25-32, 2011, doi: 10.5562/cca1746.
- [253] J. L. Vignes, A. Khodan, P. Ailloud, et D. Grass, « Une vie de cuivre Expériences de chimie sur l'élaboration et les propriétés d'un matériau », vol. 91, n° 790, 1997.
- [254] NF EN 1992-1-1, « Eurocode 2 - Calcul des structures en béton - Partie 1-1 : règles générales et règles pour les bâtiments ». 1992.
- [255] M. Perez, « Développement de capteurs passifs pour le diagnostic et la gestion environnementale du cuivre en zone viticole », 2015.
- [256] S. Leznicka, « Antimicrobial protection of stone monuments with p-hydroxybenzoic acid esters and silicone resin. », *Proceedings of the 7th International Congress on Deterioration and Conservation of Stone*, Lisbon, Portugal, p. 481-490, 1992.
- [257] A. M. Essa et M. K. Khallaf, « Biological nanosilver particles for the protection of archaeological stones against microbial colonization », *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 94, p. 31-37, 2014.
- [258] F. Ley, « The control of microorganisms using ionising radiation », in *Biodeterioration 7*, Springer, 1988, p. 523-528.
- [259] J. M. Van Der Molen, J. Garty, B. W. Aardema, et W. E. Krumbein, « Growth control of algae and cyanobacteria on historical monuments by a mobile UV unit (MUVU) », *Stud. Conserv.*, vol. 25, n° 2, p. 71-77, 1980.
- [260] K. Elmer, E. Rose, B. Fitzner, W. E. Krumbein, et T. Warscheid, « 71. Sterilisation of cultural objects by ethylene oxide--application for conservation practice by laboratory-based or mobile treatments », présenté à Conservation of stone and other materials: proceedings of the international RILEM/UNESCO congress held at the UNESCO headquarters, Paris, June 29-July 1, 1993, p. 581-588.
- [261] S. Spilimbergo, N. Elvassore, et A. Bertucco, « Microbial inactivation by high-pressure », *J. Supercrit. Fluids*, vol. 22, n° 1, p. 55-63, 2002.

Références

- [262] N. E. H. Nechnech et S. Ribah, « Impact des traitements thermiques sur la stabilité physico-chimique de la crème dessert au niveau de la laiterie HODNA-Lait, M'sila », Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, 2019.
- [263] G. Leyral et E. Vierling, « Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaire. », *Biosci Technol*, 2007.
- [264] J. Crovadore et F. Lefort, « Suivi métatranscriptomique de l'évolution du microbiote du sol après traitement thermique », Saint-Julien-en-Genevois, France. Végét'Action, 2022.

Annexe A1

Le Tableau A1. 1 regroupe quelques normes existantes sur des essais de croissance microbienne au laboratoire

Tableau A1. 1 : Quelques normes sur la croissance microbienne [46]

| Normes | Type d'essai | Matériaux | Micro-organismes | Inoculation | T°C, %HR | Durée |
|------------------------|--|--|--|--------------------------------------|--------------|---------------|
| JIS Z 2801 (136) | Activité antibactérienne | Matériaux antibactérien (plastiques, métaux, céramiques, etc.) | <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> | Dépôt de goutte | 35°C, 90% | 24 h |
| ISO 27447 (135) | Activité antibactérienne | Céramiques : semi-conducteurs photocatalytiques | <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Dépôt de goutte | - | 4h-8h |
| NF EN ISO 846 (202) | Bio-détérioration, effet fongistatique | Plastiques | <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>P. funiculosum</i> , <i>P. ochloron</i> , <i>Paecilomyces variotii</i> , <i>Glocladium virens</i> , <i>C. globosus</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (bactérie) | Dépôt de goutte ou vaporisation | 20-35°C, 95% | ≥ 4 semaines |
| ASTM D 3273 (14) | Effet fongistatique | Revêtements intérieurs | Sol terreux, contaminé avec : <i>A. pullulans</i> , <i>A. niger</i> , <i>Penicillium</i> sp. | Aérienne (chambre environnementale) | 32°C, 95% | 4 semaines |
| ASTM D 6329 (15) | Bio-détérioration, effet fongistatique | Matériaux de construction intérieurs | Sol terreux, contaminé avec : <i>Aspergillus</i> spp., <i>Stachybotrys chartarum</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Cladosporium</i> spp. | Aérienne (chambre environnementale) | 32°C, 95% | 4 semaines |
| EUROCAE ED-14E (84) | Bio-détérioration, effet fongistatique | Aéronautique : équipements embarqués | <i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>Penicillium funiculosum</i> , <i>Chaetomium globosum</i> | Vaporisation | 30°C, 97% | 4 semaines |
| XP ENV 807 (305) | Résistance aux micro-organismes | Produits de préservation de bois (lasures, peintures, etc.) | Sol naturel, terreaux horticole | Enfouissement dans un sol contaminé | 27°C, 70% | 8-32 semaines |
| XP ENV 12404 (304) | Effets fongistatique, fongicide | Produits de préservation de mortier (lasures, peintures...) | <i>Serpula lacrymans</i> (ou autre mermle selon région) | Contact direct sur géluse contaminée | 22°C, 70% | 12 semaines |

Annexe A2

A2. Traitements curatifs en surface des matériaux contre les microorganismes

La réparation des ouvrages, dû à la biodégradation, est un processus important pour la vie de l'ouvrage d'où la nécessité de bien sélectionner le traitement résistant aux microorganismes. Dans la plupart des cas, le traitement se fait sur une courte durée et le développement des microorganismes peut reprendre après traitement ou bien augmenter le risque de la contamination microbienne à long terme. (Wiktor, 2008) [96] a présenté quelques traitements qui sont résumés ci-dessous.

A2.1. Nettoyage

Le nettoyage de la surface du matériau peut se faire à l'aide de plusieurs produits. Par exemple, le nettoyage simple à l'eau qui sert à enlever les traces induites par les microorganismes. Ce nettoyage est à court terme, tandis que à long terme, cela conduit à un développement plus important des microorganismes à cause de l'augmentation de l'humidité dans le matériau apportée par l'eau de nettoyage. Des études menées par (Oriol et al., 2009) [214] sur la conservation des peintures et des gravures des sites naturels comme les grottes de Lascaux, contre le développement des algues vertes, des bactéries et des moisissures. Malgré les différents traitements utilisés comme le traitement à la chaux vive grâce à son alcalinité, l'usage des fongicides applicable en spray, le gazage au bromure de méthyle pour lutter contre le développement microbien, ces traitements ont des conséquences graves sur le matériau comme une décoloration et des dommages de la surface traitée. Pour cela, des compresses et des éponges sont utilisées sur les surfaces pour éliminer les microorganismes (Figure A2. 1).

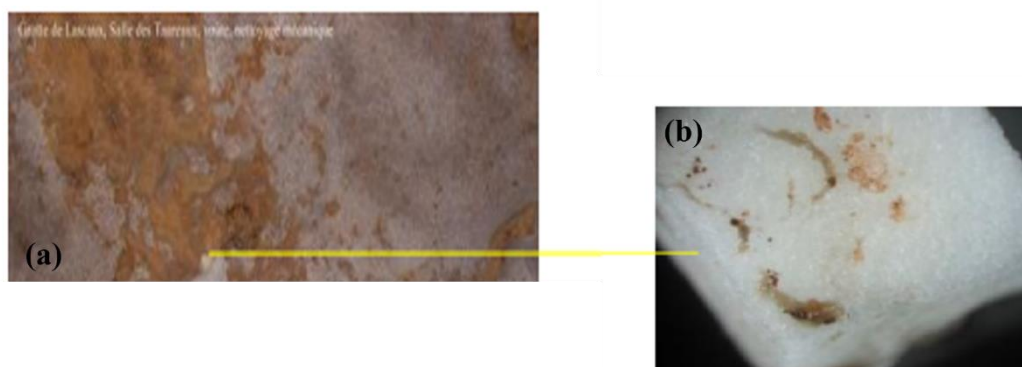


Figure A2. 1 : (a) élimination des colonisations noires à l'éponge, (b) aspect des mycéliums éliminés [202]

A2.2 Méthodes chimiques

Le traitement chimique d'un ouvrage se fait généralement par des biocides, en particulier des algicides et fongicides, contenus déjà dans les produits de peinture. Il s'agit d'une modification de propriétés de la surface par une couche de peinture ou de vernis, qui contient des produits antibactériens, rend la surface lisse et diminue l'attachement des microorganismes provenant d'une contamination par des agents extérieurs. (Wiktor, 2008) [96] a reporté quelques biocides

commerciaux et des substances actives antimicrobiennes comme les alcools, les aldéhydes, les acides organiques, les esters, les phénols, les métaux et d'autres. Ces biocides, à part leur rôle antimicrobien, ont souvent un impact négatif sur l'environnement. Ils ont de plus des effets allergènes pour la santé humaine. L'usage de ce biocide a permis de traiter des surfaces de roches de monuments historiques après une biodétérioration causée par des algues et des champignons. A titre d'exemple, on peut citer la recherche, réalisée par (Leznicka, 1992) [256] sur un traitement moins agressif que les autres biocides, qui a été menée en utilisant l'éthyle ester p-hydroxy benzoïque (PHB, Aseptine A), combiné avec des résines de silicones. La Figure A2. 2 issue des travaux de (Essa et al., 2014) [257] montre également le traitement des calcaires par des polymères de silicone fonctionnalisés.

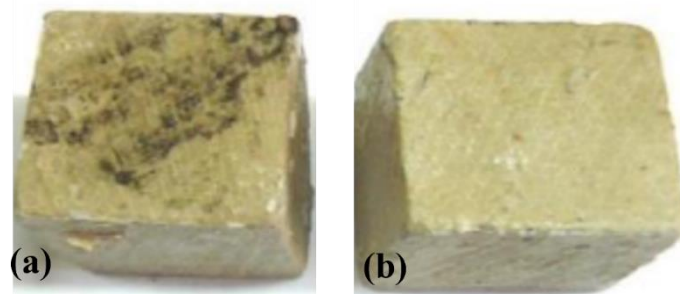


Figure A2. 2 : (a) calcaire non traité et (b) calcaire traité par des polymères de silicone fonctionnalisés [244]

A2.3. Méthodes physiques

Le traitement physique des matériaux contre la contamination microbienne peut se faire par plusieurs méthodes distinctes [103]. Par exemple, l'emploi de rayonnements ionisants par (Ley, 1988) [258], s'est avéré efficace pour la stérilisation des produits médicaux ainsi que pour la maîtrise des microorganismes dans les matières premières destinées aux industries pharmaceutiques et cosmétiques. Ensuite, la méthode d'irradiation sous des rayons ultra-violet (UV), a été appliquée par (Van Der Molen et al., 1980) [259], sur les murs intérieurs de l'église Saint-Etienne de Pilsum dans le nord de l'Allemagne, recouverts par des algues et des cyanobactéries. Enfin, la méthode de fumigation au gaz dans des enceintes contrôlées par ordinateur, a été utilisée par (Elmer et al., 1993) [260]. Cette méthode consiste à stériliser des objets à caractères culturels, par l'oxyde d'éthylène. Elle s'avère particulièrement pertinente dans le contexte de la préservation et se prête aux traitements en laboratoire, notamment pour des objets de petite taille et de surface limitée.

A2.4. Méthodes thermiques

Le traitement thermique des microorganismes est la méthode la plus courante et en particulier dans le domaine de l'agroalimentaire. Il consiste à exposer le matériau contaminé à une température bien déterminée. En effet, un excès de chauffage réduit les qualités organoleptiques et nutritionnelles et produit des composés toxiques [261]. D'autre part, un chauffage insuffisant peut ne pas détruire les organismes. Dans la suite, nous allons présenter différents types de traitements thermiques [262].

A2.4.1. Stérilisation

La stérilisation est un traitement thermique servant à atteindre l'état de stérilité, c'est-à-dire arriver à l'absence des microorganismes. Ce traitement est réalisé à haute température (supérieure à 100°C), dans un stérilisateur.

A2.4.2. Pasteurisation

La pasteurisation est aussi une méthode de traitement thermique, mais à température inférieure à 100°C pour une durée, de quelques secondes à quelques minutes, dans un pasteurisateur, couramment utilisé dans le domaine de l'alimentation. La température et la durée du traitement diffèrent en fonction du produit [263]. Ce processus est suivi d'un brusque refroidissement afin de ralentir le développement des germes présents.

A2.4.3. Technique UHT (Ultra-haute température)

Il s'agit d'un traitement à la vapeur par une injection d'eau à la température de 140°C sous pression pendant 4 à 5 secondes, suivie d'un refroidissement immédiat sous vide du matériau. Le matériau est ensuite enrobé dans un emballage aseptique pour garantir une atmosphère non contaminée par les microorganismes [262].

(Cradovre et al., 2022) [264] ont réalisé un suivi méta transcriptomique de l'évolution du microbiote de sol après traitement thermique par UHT sur des sols contaminés par des microorganismes. Ce type d'analyse méta transcriptomique permet de détecter l'ARNm des microorganismes présents à un instant t. Cette analyse a mis en évidence un effet immédiat de ce traitement sur la diversité du microbiote du sol. Un an après le traitement, les microorganismes sont retournés dans le sol. Le traitement par vapeur a donc permis un effet curatif sur une relative courte durée.

Annexe A3

Deux exemples des résultats du séquençage de la région V1V9 du gène codant l'ARNr 16S sont présentés (Figure A3. 1a et b) ; cela correspond aux électrophorégrammes obtenus par le séquenceur.

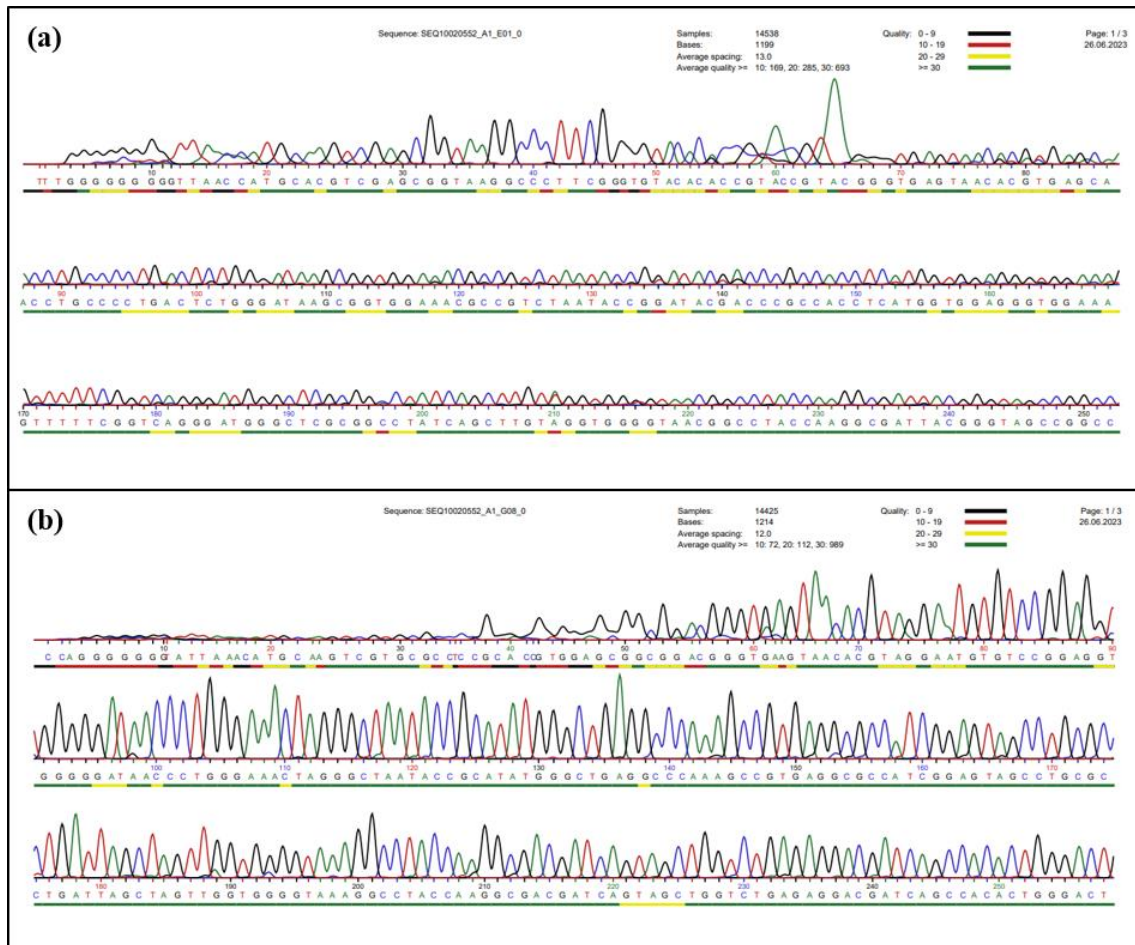


Figure A3. 1 : Electrophorégrammes obtenus après séquençage de la région VIV9 du gène ARNr 16S des souches 3 (a) et 7 (b).

Les résultats de séquençage des isolats des bactéries présentes sur les quatre biocomposites sont présentés ci-dessous :

>WL6 = 3 - 16S-F

GGTGTACACACCGTACCGTACGGGTGAGTAACACGTGAGCAACCTGCCCTGACTCTGGG
 ATAAGCGGTGGAAACGCCGTCTAATACCGGATACGACCCGCCACCTCATGGTGGAGGGT
 GGAAAGTTTTTCGGTCAGGGATGGGCTCGCGGCCTATCAGCTTGTAGGTGGGGTAACGGC
 CTACCAAGGCGATTACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAG
 ACACGGCCCAGACTCCTGCGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGC
 CTGACGCAGCGACGCCGCGAGGGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTACCAC
 CAACGCAGGCTTCCAGTTCTCTGGGGTTGACGGTAGGTGGGGAATAAGGACCGGTTAAC
 TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGTGCGT
 AAAGAGCTCGTAGGCGGCGTGTGCGTCTGCTGTGAAAGACCGGGGCTTAACCTCCGGTTC
 TGCAGTGGATACGGGCATGCTAGAGGTAGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCG
 GTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCTTAC
 CTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCAT
 GCCGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACTTCCACGGTTTCCGCGCCGTAGCTAACG
 CATTAAAGCGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAGACTCA

> WL7 = 4 - 16S-F

CTACGTAGGGGTGAGTAACACGTGCAGCAACCTGCCCTGACTCTGGGATAAGCGGTGG
AAACGCCGTCTAATAACGGATACGACCCGCCACCTCATGGTGGAGGGTGGAAAGTTTTTC
GGTCAGGGATGGGCTCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGA
TTACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGA
CTCCTGCGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCGA
CGCCGCGTGGGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTACCACCAACGCAGGCTT
CCAGTTCTCTGGGGGTTGACGGTAGGTGGGGAATAAGGACCGGCTAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGT
AGGCGGCGTGTGCGCTCTGCTGTGAAAGACCGGGGCTTAACTCCGGTTCTGCAGTGGATA
CGGGCATGCTAGAGGTAGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGC
AGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCTTACCTGACGCTGAG
GAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGT
TGGGCGCTAGGTGTGGGGACTTTCCACGGTTTCCGCGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCC
CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACA
AGCGGCGGAGCATGTTGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGTTTGACAT
CACCCGTGGACTCGCAGAGATGTGAGGTCATTTAGTTGGCGGGTGACAGGTGGTGCATGG
CTGTGCTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGGGCAACCCTTGT
TCCATGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGGACTCAT

> **WaL5 = 5 - 16S-F**

GGCGGGAATTTCCACGTTGTTAGGCGGGTGAACAATGGCGTTAGAAGAATGTGGGAGG
GAAAC

> **WaL6 = 6 - 16S-F**

GACTGAGACACGGCCCAGACTCCTGCGGAAGGCAGCAGTGGGAAATATTGCTACAATGG
GCGAAAGCCTGACGCAGCGACGCCGCGTGGGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTC
TTTTACCACCAACGCAGGCTTCCAGTTCTCTGGGGGTTGACGGTAGGTGGGGGAATAAGG
ACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCCGGAAT
TATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCGTGTGCGCTCTGCTGTGAAAGACCGGGGCTTA
ACTCCGGTTCTGCAGTGGATACGGGCATGCTAGAGGTAGGTAGGGGAGACTGGAATTCCT
GGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCT
GGGCCTTACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCATGCCGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACTTTCCACGGTTTCCGCGCCG
TAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAACTCAAAGG
AATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTTGCTTAATTCGACGCAACGCGAAG
AACCTTACCAAGGTTTGACATCACCCGTGGACTCGCAGAGATGTGAGGTCATTTAGTTGG
CGGGTGAA

> **WaL7 = 7 - 16S-F**

TGGAGCGGCGGACGGGTGAAGTAACACGTAGGAATGTGTCCGGAGGTGGGGGATAACCC
TGGGAAACTAGGGCTAATAACGCATATGGGCTGAGGCCCAAAGCCGTGAGGCGCCATCG
GAGTAGCCTGCGCCTGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCA
GTAGCTGGTCTGAGAGGACGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTA
CGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCGC
GTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATCGTAAAGCACTTTCGGCGGGGACGATGATGACGGTAC
CCGCAGAAGAAGCCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCTA
GCGTTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGCGTTCCAAGTTAGGCGTGA

AAGTCCTGGGCTCAACCTGGGAACCTGCGCTTAAGACTGGAGTGCTTGAGGATGGAAGAG
GGTTGTGGAATTCCCAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTGGGAAGAACACCGGTGGC
GAAGGCGGCAACCTGGTCCATTACTGACGCTGAGGCGCGATAGCGTGGGGAGCAAACAG
GATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGCGCTGGATGTTGGGGGTCTAG
ACCTTCAGTGTCTAGCTAACGCGATAAGCGCACCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTT
GAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGA
AGCAACGCGCAGAACCCTACCAGCTCTTGACATGGGTAGGACCGGTGCAGAGATGCACTT
TTCCCGCAGGGACCTACCGCACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGAT
GTTGGGTAAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTCGCCTTTAGTTGCCAGCATGTTTGGGTG
GGCACTCTAAAGGAACCTGCCGGTGAAAAGCCG

> **RL5 = 10 - 16S-F**

GGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATTACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACA
CTGGGACTGAGACACGGCCCACTCCTGCGGAAGGCAGCAGTGGGAAATATTGTGCAA
TGGGCGAAAGCCTGACGCAGCGACGCCGCGTGGGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAAC
CTCTTTTACCACCAACGCAGGCTTCCAGTTCTCTGGGGGTTGACGGTAGGTGGGGAATAA
GGACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCCGG
AATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCGTGTGCGCTCTGCTGTGAAAGACCGGGG
TTAACTCCGGTTCTGCAGTGGATACGGGCATGCTAGAGGTAGGTAGGGGAGACTGGAATT
CCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTC
TCTGGGCCTTACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACC
CTGGTAGTCCATGCCGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACTTTCACGGTTTCCGCG
CCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAA
AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTTGCTTAATTCGACGCAACGCG
AAGAACCTTACCAAGGTTTGACATCACCCGTGGACTCGCAGAGATGTGAGGTCATTTAGT
TGGCGGGTGACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAG
TCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCATGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGGACTCATGG
GAGAATTGCCGGGGTCAACTCGG

> **RL6 = 11 - 16S-F**

GGGAAAGTTTTTCGGTCAGGGATGGGCTCGCGCCTATCAGCTTGTAGGTGGGGTAACGG
CCTACCAAGGCGATTACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCCACTGGGACTGA
GACACGGCCCAGACTCCTGCGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAG
CCTGACGCAGCGACGCCGCGTGGGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTACCA
CCAACGCAGGCTTCCAGTTCTCTGGGGGTTGACGGTAGGTGGGGAATAAGGACCGGCTA
ACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGC
GTAAAGAGCTCGTAGGCGGCGTGTGCGCTCTGCTGTGAAAGACCGGGGCTTAACTCCGGT
TCTGCAGTGGATACGGGCATGCTAGAGGTAGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAG
CGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCTT
ACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC
ATGCCGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACTTTCACGGTTTCCGCGCCGTAGCTAA
CGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTTGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTA
CCAAGGTTTGACATCACCCGTGGACTCGCAGAGATGTGAGGTCATTTAGTTGGCGGGTGA
CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGAAAGTTGGGTAAAGTCCCAGCAACG
AGGGCAACCCTTGTTCATGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGGACTCATGGGAAAATGCCG
GGTCAACT

> **RL7 = 12 - 16S-F**

GCTACCGTACGGGTGAGTAACACGCTGCAGCAACCTGCCCCTGACTCTGGGATAAGCGGT
GGAAACGCCGTCCAATACCGGATACGACCCGCCACCTCATGGTGGAGGGTGGAAAGTTTT
TCGGTCAGGGATGGGCTCGCGGCCATCAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGC
GATTACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTGCGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGC
GACGCCGCGTGGGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAACCTCTTTTACCACCAACGCAGGC
TTCCTGTTCTCTGGGGGTTGACGGTAGGTGGGGAATAAGGACCGGCTAACTACGTGCCAG
CAGCCGCGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCG
TAGGCGGCGTGTGCGTCTGCTGTGAAAGACCGGGCTTAACTCCGGTTCTGCAGTGGAT
ACGGGCATGCTAGAGGTAGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCG
CAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCTTACCTGACGCTGA
GGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACG
TTGGGCGCTAGGTGTGGGGACTTTCCACGGTTTCCGCGCCGTAACCTAACGCATTAAGCGC
CCCGCCTGGGGAGTACGGCCGC

> **SL4= 13 - 16S-F**

GTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATTACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCA
CACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTGCGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCTA
AATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCGACGCCGCGTGGGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAA
ACCTCTTTTACCACCAACGCAGGCTTCCAGTTCTCTGGGGGTTGACGGTAGGTGGGGAAT
AAGGACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCC
GGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCGTGTGCGTCTGCTGTGAAAGACCGG
GGCTTAACTCCGGTTCTGCAGTGGATACGGGCATGCTAGAGGTAGGTAGGGGAGACTGG
AATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCG
GGTCTCTGGGCCTTACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGA
TACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACTTTCCACGGTTTC
CGCGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAAC
TCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTTGCTTAAATTCGACGCAA
CGGAAGAACCTTACCAAGGTTTGACATCACCCGTGGACTCGCAGAGATGTGAGGTCATT
TAGTTGGCGGGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGT
TAAGTCCCACAACGAGCGCAACCCTTGTTCATGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGGACTC
ATGGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA

> **SL5= 14 - 16S-F**

GAGGGTGGAAAGTTTTTCGGTCAGGGATGGGCTCGCGGCCATCAGCTTGTGGTGGGGT
AACGGCCTACCAAGGCGATTACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGG
ACTGAGACACGGCCCAGACTCCTGCGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCGAAATGGGC
GAAAGCCTGACGCAGCGACGCCGCGTGGGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTT
TACCACCAACGCAGGCTTCCAGTTCTCTGGGGGTTGACGGTAGGTGGGGAATAAGGACCG
GCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCCGGAATTATT
GGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCGTGTGCGTCTGCTGTGAAAGACCGGGGCTTAACTC
CGGTTCTGCAGTGGATACGGGCATGCTAGAGGTAGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGT
GTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGG
CCTTACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTA
GTCCATGCCGTAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGACTTTCCACGGTTTCCGCGCCGTAG
CTAACGCATTAAGCGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAAT

Annexes

TGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGGCGGAGCATGTTGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAAC
CTTACCAAGGTTTGACATCACCCGTGGACTCGCAGAGATGTGAGGTCATTTAGTTGGCGG
GTGAAAAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGAAGTTGGGTAAAGTCCCG
CAACGAGGGCAACCCTTGTTCCATGTTGCCAGCCCGTAATGGTGGGGACTCATGGGAGAA
TGCCGGGGTCAACT

> **SL6 = 15 - 16S-F**

GGATGGGATCGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATTACGG
GTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTG
CGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCGACGCCG
GTGGGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTACCACCAACGCAGGCTTCCAGTT
CTCTGGGGGTTGACGGTAGGTGGGGAATAAGGACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGGTCCGAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGG
CGTGTCGCGTCTGCTGTGAAAGACCGGGGCTTAACTCCGGTTCTGCAGTGGATACGGGCA
TGCTAGAGGTAGGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATAT
CAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGGTCTCTGGGCCTTACCTGACGCTGAGGAGCGA
AAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGTTGGGCG
CTAGGTGTGGGGACTTTCCACGGTTTCCGCGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCGCCT
GGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGC
GGAGCATGTTGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGTTTGACATCACCCG
TGGACTCGCAGAGATGTGAGGTCATTTAGTTGGCGGGTGACAGGTGGTGCATGGCTGTCG
TCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTCCATG
TTGCCAGCACGTAATGGTGGGGACTCATGGGAAAATGCCGGGGTCAACTCGG

Mohamad EL HAJJAR

Impact des microorganismes sur le comportement des matériaux biosourcés pour le bâtiment

Résumé : Le développement des matériaux biosourcés à base de granulats végétaux est une solution alliant performance technique et environnementale. Cependant, leur comportement vis-à-vis de l'eau et plus particulièrement du développement des microorganismes est encore mal connu. Afin d'apporter les réponses nécessaires pour les intégrer dans le bâtiment, la recherche actuelle vise à comprendre et maîtriser leurs propriétés face aux fortes humidités et le risque de développement microbien. Dans ce contexte, cette thèse inscrite dans le cadre du projet région Centre Val de Loire, MATBIO, porte sur l'étude de l'impact du développement microbien sur les matériaux biosourcés à base de granulats végétaux utilisés dans l'isolation thermique et la réhabilitation énergétique des bâtiments. Les objectifs de cette recherche incluent l'évaluation des effets du développement microbien sur ces matériaux, la compréhension des mécanismes microstructuraux à l'origine du comportement macroscopique, ainsi que l'étude de traitements préventifs pour éviter ou réduire le développement microbien sur ces matériaux. L'étude a été menée sur quatre types de granulats végétaux et quatre biocomposites à base de ces granulats. Ces matériaux ont été soumis à un vieillissement accéléré dans des conditions favorisant le développement microbien. Tout d'abord, différentes caractérisations ont été réalisées sur ces matériaux pour évaluer l'effet du développement microbien sur les propriétés fonctionnelles des matériaux. Les caractérisations ont inclus des évaluations microbiologiques, mécaniques, thermiques, et physico-chimiques. Les tests de dénombrement ont montré que les granulats étaient initialement contaminés par des microorganismes avant le vieillissement, probablement en raison des conditions de stockage chez l'agriculteur. Pour les biocomposites, aucune contamination n'a été observée avant le vieillissement accéléré, probablement en raison de la présence de chaux, ayant une forte alcalinité. Cependant, tous les matériaux ont présenté une croissance microbienne significative après 12 mois de vieillissement. Par ailleurs, les observations cryo-HRSEM ont corroboré les constatations tirées des résultats obtenus pour les granulats et les biocomposites. La conductivité thermique et la masse volumique des granulats étudiés ont montré une légère diminution entre 0 et 3 mois et sont restés constantes jusqu'à 12 mois. De plus, la résistance mécanique, la conductivité thermique et la masse volumique des biocomposites ont montré des diminutions entre 0 et 12 mois et en particulier WaL, le biocomposite à base de paille de blé, de chaux, et d'additifs. Cette diminution des propriétés physiques des matériaux biosourcés étudiés est probablement attribuée à la dégradation de leur microstructure par les microorganismes. Ensuite, l'identification des souches bactériennes cultivables sur les biocomposites étudiés, a révélé trois genres bactériens : *Nocardiopsis* (présent sur tous les biocomposites), *Bacillus* et *Roseomonas* (présents sur le biocomposite WaL). Enfin, pour éviter les microorganismes, des traitements aux additifs antimicrobiens tels que la poudre de cuivre et le sulfate de cuivre ont été évalués à différentes concentrations. Ces traitements se sont avérés efficaces contre le développement microbien sans altérer significativement les propriétés fonctionnelles des biocomposites. Le traitement des biocomposites par la poudre de cuivre à une concentration de 3g/L constitue la solution la plus efficace pour prévenir de la contamination microbienne tout en maintenant les caractéristiques souhaitées des biocomposites.

Mots clés : matériaux biosourcés, durabilité, microorganismes, biodégradation, microstructure, granulats végétaux, vieillissement microbien, dénombrement, bactéries, champignons, conductivité thermique, résistance mécanique, identification microbiologique, traitement, additifs antimicrobiens.

Impact of microorganisms on the behavior of bio-based materials for building

Abstract: The development of bio-based materials using plant aggregates is a solution that combines technical performance and environmental benefits. However, their behavior towards water, especially concerning the growth of microorganisms, is still not well understood. In order to provide the necessary answers to integrate them into the construction sector, current research aims to understand and control their properties faced with high humidity and the risk of microbial growth. In this context, this thesis, conducted as part of the MATBIO project funded by Centre Val de Loire region, focuses on studying the impact of microbial development on bio-based materials using plant aggregates for thermal insulation and energy-efficient building rehabilitation. The objectives of this research include evaluating the effects of microbial growth on these materials, understanding the microstructural mechanisms underlying macroscopic behavior, and studying preventive treatments to avoid or reduce microbial growth on these materials. The study was conducted on four types of plant aggregates and four biocomposites based on these aggregates. These materials underwent accelerated aging in conditions conducive to microbial growth. First, various characterizations were performed on these materials to assess the effect of microbial growth on their functional properties. These characterizations included microbiological, mechanical, thermal, and physico-chemical evaluations. Enumeration tests showed that the aggregates were initially contaminated with microorganisms before aging, possibly due to storage conditions on the farm. For the biocomposites, no contamination was observed before accelerated aging, probably due to the presence of lime, which has high alkalinity. However, all materials exhibited significant microbial growth after 12 months of aging. Furthermore, cryo-HRSEM observations supported the findings obtained for the aggregates and biocomposites. The thermal conductivity and bulk density of the studied aggregates showed a slight decrease between 0 and 3 months, remaining constant up to 12 months. In addition, the mechanical strength, thermal conductivity, and bulk density of the biocomposites exhibited decreases between 0 and 12 months, especially for WaL, the biocomposite based on wheat straw, lime, and additives. This decrease in the physical properties of the studied bio-based materials is probably attributed to the degradation of their microstructure by microorganisms. Next, the identification of cultivable bacterial strains on the studied biocomposites revealed three bacterial genera: Nocardiosis (present on all biocomposites), Bacillus, and Roseomonas (present on the WaL biocomposite). Finally, to prevent microbial growth, treatments with antimicrobial additives such as copper powder and copper sulfate were evaluated at various concentrations. These treatments proved to be effective against microbial development without significantly altering the functional properties of the biocomposites. Treating the biocomposites with a copper powder concentration of 3 g/L proved to be the most effective solution for preventing microbial contamination while maintaining the desired characteristics of the biocomposites.

Keywords: bio-based materials, durability, microorganisms, biodegradation, microstructure, vegetable aggregates, microbial aging, enumeration, bacteria, fungi, thermal conductivity, mechanical strength, microbiological identification, treatment, antimicrobial additives.



Laboratoire de mécanique Gabriel Lamé, Site Vinci,
8 rue Léonard de Vinci,
45072 Orléans Cedex 1