

MINISTERE DE LA CULTURE

DIRECTION DU PATRIMOINE

RAPPORT N° 898A

09.92

La biominéralisation : un nouveau procédé  
de protection des pierres calcaires.  
Application aux monuments historiques

ORIGINAL

**LRMH**

LABORATOIRE DE RECHERCHE  
DES MONUMENTS HISTORIQUES

29, rue de Paris  
77420 Champs-sur-Marne  
Tél : (1) 60 05 01 45 - Fax. (1) 64 68 46 87

Ministère de la Culture  
et de la Francophonie  
*Direction du Patrimoine*  
**Laboratoire de Recherche  
des Monuments Historiques**  
29 rue de Paris  
77420 Champs-sur-Marne  
Tél. 60.05.01.45  
Fax. 64.68.46.87

**LA BIOMINERALISATION :**  
**UN NOUVEAU PROCEDE DE PROTECTION DES PIERRES CALCAIRES**  
**APPLICATION AUX MONUMENTS HISTORIQUES**

*Geneviève ORIAL*  
*Laboratoire de Recherche des Monuments Historiques*

*Sabine CASTANIER*  
*Gaële LE METAYER*  
*Université de Nantes, Service de microbiogéologie*

*Jean François LOUBIERE*  
*Responsable Recherche Développement Société CALCITE*

Mots-clés : biominéralisation  
bactéries  
calcite  
monuments historiques

## **I - INTRODUCTION**

Dans leur environnement d'origine et suivant un processus naturel, les roches se dégradent. L'extraction des matériaux géologiques et leur utilisation dans le bâtiment induisent de nouveaux changements.

L'eau atmosphérique (pluie, neige, brouillard...) est un vecteur déterminant de pénétration des pollutions environnementales, dans les micropores des roches.

Ces phénomènes physico-chimiques et mécaniques d'altération se cumulent parfois avec l'action de certaines bactéries, nuisibles pour la pierre. La nécessité d'un traitement préventif ou curatif à la surface des pierres soumises à ces agressions extérieures est une priorité pour arrêter la désagrégation de tout édifice bâti, et en particulier des Monuments Historiques.

Les solutions actuelles préconisent l'emploi de résines synthétiques qui se polymérisent à l'intérieur des pores de la roche. Ce type de traitement, basé sur l'utilisation de produits chimiques, se dégrade dans le temps et nécessite donc un entretien régulier.

La technique décrite se différencie par son caractère naturel et écologique et, contrairement aux méthodes classiques, la protection acquise aurait plutôt tendance à s'accroître.

Il faut rappeler que Jean-Pierre ADOLPHE et Cécile BILLY avaient déjà réalisé la biosynthèse de la calcite par une association bactérienne aérobie (1974), parallèlement avec E. BOQUET, A. BORONAT et A. RAMOS-CARMENZANA de l'Université de Barcelone.

Dans sa thèse, quelques années plus tard (1981), J.P. ADOLPHE avait démontré toute l'importance des bactéries dans la genèse des carbonates, en produisant des concrétionnements calcaires, en laboratoire, dans des milieux nutritifs favorables.

De ces travaux fondamentaux, auxquels ont été associés J. PARADAS, F. SOLEILHAVOUP et J.F. LOUBIERE, a découlé une application industrielle, avec le dépôt d'un brevet, n° 8503517 en 1989, par l'Université Pierre et Marie Curie de Paris.

A l'instigation des inventeurs et en association avec des industriels, une société, la société CALCITE, a été créée pour valoriser le procédé.

En 1991, celle-ci acquiert, auprès de l'Université, la licence exclusive. Afin d'optimiser et de mettre au point industriellement la partie microbiologique, CALCITE a établi un protocole de recherche.

Deux laboratoires, en collaboration avec le Professeur GASSER, de l'Institut Pasteur, sont concernés par ce projet :

- Le Laboratoire de microbiogéologie de l'Université de Nantes ( S.CASTANIER et G. LE METAYER ) spécialisé dans la biominéralisation
- Le Laboratoire de Recherche des Monuments Historiques. (G. ORIAL ) dont le rôle est, entre-autres, d'adapter les nouvelles technologies à la conservation des Monuments Historiques.

Si le pouvoir calcifiant de certaines bactéries a largement été décrit en laboratoire, il restait à le démontrer, à l'extérieur, en situation verticale tout en tenant compte des variations climatiques.

Pour quantifier cette capacité, plusieurs tests (essais d'absorption d'eau à la "pipe", essais de capillarité et observations en microscopie électronique à balayage) ont été nécessaires tant sur les éprouvettes que sur les murs traités.

## **II - METHODE DE TRAITEMENT : PROTOCOLE ET ESSAIS**

### **A) PROTOCOLE**

1ère phase : Pulvérisation pour ensemencement avec une culture pure de bactéries calcifiantes.

2ème phase : La nutrition consiste à effectuer durant dix jours un apport quotidien de la solution nutritive. La paroi doit être imprégnée de façon homogène en évitant le ruissellement (photo n° 1)

Il faut noter que l'identification précise des souches employées et la composition du bouillon nutritif sont, aujourd'hui encore, soumises à la confidentialité.

### **B) ESSAIS**

#### **1 - Sur éprouvettes**

Des cubes de 15 cm d'arêtes, taillés dans des blocs de deux types de calcaire de porosité et porométrie différentes ont été traités .

Les pierres de Tuffeau et Saint Vaast, fréquemment employées dans les Monuments Historiques français, ont été sélectionnées.

Parallèlement, un autre essai a été effectué sur de la brique réfractaire.

En effet, les calcaires étant majoritairement d'origine bactérienne, il est parfois difficile de distinguer le calcin néo-formé.

L'utilisation d'un support inerte, non calcaire, en facilite l'observation et atteste de la validité du procédé.

#### **2 - Sur murs "in situ"**

Les toutes premières expérimentations, in situ, ont été entreprises par J.P. ADOLPHE et son équipe, sur un mur dans le domaine du Château de Champs-sur-Marne (France), durant les étés 89 et 90.

Un développement anarchique d'algues et de champignons parasites à la surface du mur traité a obligé à repenser la composition du milieu de culture.

La Société CALCITE a donc confié au Laboratoire de microbiogéologie de Nantes (France), ce travail ainsi que l'optimisation du procédé.

Les résultats probants obtenus alors ont permis la réalisation d'un troisième essai, actuellement en cours depuis juin 92.

L'emplacement se situe sur un des murs des communs du Château de Champs-sur-Marne, où est installé le Laboratoire de Recherche des Monuments Historiques (L.R.M.H.).

La surface, orientée Sud, est composée de calcaire fin.

Volontairement et contrairement aux essais précédents, la zone traitée n'a été ni lavée ni brossée, afin de mieux suivre les effets du traitement sur certaines parties sales de la paroi.

Des traces noires, consécutives à des ruissellements préférentiels dus à un mauvais état de la gouttière supérieure, sont visibles sur l'espace traité (photo n° 2).

### **III - MESURES ET RESULTATS**

Les observations à l'oeil nu suivi d'examens plus approfondis en microscopie électronique à balayage donnent une appréciation globale pouvant parfois être considérée comme subjective. Les mesures physiques permettent de les valider.

#### **A) SUR EPROUVETTES**

##### **1 - Examen en microscopie électronique à balayage (M.E.B.)**

Des fragments de surface de pierre ont été métallisés Or-Palladium, sous vide, puis observés au M.E.B. (type JEOL) au service de microscopie électronique de l'Université de Nantes.

##### **- Sur brique réfractaire**

La photo n° 3 montre la structure ultra microscopique de la brique réfractaire avant tout bio-traitement.

Il est à noter, et l'on pouvait s'y attendre, l'absence de corps bactériens, tant dans la structure minérale qu'à la surface. Cette vue est donc une référence.

La photo n° 4 représente la colonisation et le comblement bactérien de la porosité, après dix jours de bio-traitement.

Sur les bactéries visibles dans la partie supérieure droite de la vue, les "boutons" et les excréments de calcaire sont parfaitement reconnaissables.

Sur la photo n°5, la brique présente un "coating" calcaire visible même à faible grossissement, après quinze jours de traitement.

Ce "coating" est encore fragile (calcite encore fortement hydratée); fragilité qui est mise en évidence par l'apparition de craquelures au moment de la préparation pour l'examen au M.E.B.

L'observation de ces cassures met en évidence la structure totalement microbienne du néo-calcin. Les bactéries qui apparaissent en relief dans le calcin sont parfaitement visibles dans les craquelures.

#### - **Sur Tuffeau**

Ce calcaire est, à l'origine, donc avant tout bio-traitement, un calcaire bactérien. De plus, il renferme des boules de cristobalite à aiguille. (photo n°6).

Après cinq jours de bio-traitement, les bactéries recouvrent uniformément les surfaces planes. La carbonatogénèse est bien implantée comme le montrent les excréments calcaires, observés dans la partie droite de la photo 7.

Après quinze jours de bio-traitement, la colonisation des boules de cristobalite est perceptible. Toutefois, la rugosité de la surface de la pierre limite la colonisation.(photo n°8)

#### - **Sur Saint Vaast**

L'observation de la structure fine du Saint Vaast montre de façon indiscutable son origine bactérienne.

Il est également possible de reconnaître les corps bactériens calcifiés qui constituent le ciment minéral lui-même (photo n°9).

Après dix jours de bio-traitement (photo n°10), les particules minérales lisses du Saint Vaast sont colonisées par les bactéries apportées lors du traitement. Sur le ciment bactérien initial, les germes du traitement se développent également, mais il semble que le "nourrissage" journalier stimule aussi le développement des bactéries initialement installées et responsables de la genèse de cette roche. La survie de ces bactéries initiales ou de leur progéniture, jusqu'à nos jours, s'explique par la grande porosité de cette roche.

En effet, cette porosité a maintenu, en totalité ou en partie, les transits d'eau, de gaz et de nourriture nécessaires à leur activité de maintenance.

Après quinze jours de bio-traitement, le "coating" de calcaire bactérien néo-formé est installé de manière homogène (photo n°11).

## 2 - Mesures physiques

La biominéralisation, en provoquant la formation d'un film de calcite naturelle doit entraîner l'amélioration des qualités du calcin pré-existant, en particulier face aux mouvements de l'eau.

Donc, après biocalcification, la pénétration de l'eau liquide, par perméabilité ou capillarité, devrait être réduite.

Par contre la perméabilité à la vapeur d'eau (perméance) doit être conservée sans trop de diminution.

Les mesures de perméabilité, capillarité et perméance, effectuées au Centre Expérimental des Bâtiments et des Travaux Publics (C.E.B.T.P), au service "Maçonneries et Monuments Historiques" ont pour but de quantifier les améliorations obtenues après traitement.

Un délai de quinze jours a été laissé entre la fin de la biominéralisation et le début des mesures.

### - Mesures de l'absorption d'eau à la "pipe" (perméabilité)

Elles correspondent au temps nécessaire à l'absorption d'un volume de quatre millilitres d'eau.

Elles ont été faites, sur des plaques de quinze sur quinze sur cinq centimètres, à raison de trois plaques par type de pierre et à l'aide d'une "pipe" à eau, petit réservoir surmonté d'une pipette graduée.

Sur chaque éprouvette, trois mesures, à trois emplacements différents ont été prises. (voir tableau n° 1)

Dans le cas du Tuffeau, le temps d'absorption des quatre millilitres d'eau passe de 2 à 3 minutes pour une pierre non traitée à au moins 11 minutes pour une pierre biominéralisée et parfois même à 30 minutes (pour cinq des mesures)

Cette augmentation du temps d'absorption de l'eau liquide équivaut à une diminution de la pénétration d'eau, par rapport au temps de contact.

Dans la réalité, cela signifie donc que pendant une période égale (par exemple la durée d'une pluie) un Tuffeau traité absorbera moins d'eau qu'un Tuffeau brut.

Pour la pierre de Saint Vaast, la durée d'absorption des quatre millilitres d'eau est doublée. elle passe de 40 secondes à 1 minute et 15 secondes.

Une amélioration certaine du pouvoir hydrofuge du calcin, pour les deux types de pierre est constatée.

- **Mesures du coefficient de capillarité**

Elles ont été effectuées suivant la norme N.F.10502, sur trois cubes de sept centimètres d'arêtes, et sur chaque nature de pierre. (voir tableau n°2).

La diminution de la capillarité la plus importante est observée sur la pierre de Tuffeau où elle atteint une moyenne de 61%.

Elle est seulement de 21% pour la pierre de Saint Vaast.

Ces valeurs confirment les résultats obtenus pour la perméabilité et attestent que la biocalcification est effective et entraîne une diminution du pouvoir d'absorption d'eau par la roche.

Les écarts entre les valeurs obtenues pour le Tuffeau et le Saint Vaast sont dus à une différence de taille de micropores : en effet, le Tuffeau présente essentiellement des pores de dimension capillaire ou de petites sections, tandis que la taille des pores du Saint Vaast peut atteindre un diamètre de 50 microns.

La colonisation bactérienne, à temps égal de biotraitement, est plus efficace dans le cas d'une microporosité capillaire.

- **Mesures de perméance**

Elles sont réalisées selon la norme N.F. 30.018 et consiste à déterminer à intervalles réguliers de 24 heures, la diminution de masse d'une cellule composée d'un cristalliseur en verre de 100 millimètres de diamètre intérieur, contenant 20 millilitres d'eau, obturé par l'éprouvette de pierre à tester.

L'ensemble est placé dans un dessiccateur dont l'atmosphère est desséchée par du chlorure de calcium en quantité suffisante pour maintenir constante son action desséchante. La température ambiante est maintenue à 23 °C. (voir tableau n°3)

Aucune diminution de la perméance n'est constatée pour la pierre de Saint Vaast. Pour le Tuffeau, elle est de l'ordre de 20%, ce qui est acceptable.

*B - SUR MUR "IN SITU"*

**1 - Examen à l'oeil nu**

Il n'y a eu aucun développement parasite même après trois mois d'une période particulièrement humide et chaude. L'aspect du mur n'a pas varié. On peut même observer que les traces noirâtres s'estompent.

Les joints, également traités, se comportent de manière identique, sans perturbation de la couleur d'origine.

## **2 - Observations au M.E.B**

Les observations réalisées un mois après le bio-traitement montrent que l'ensemble des surfaces planes des cristaux se colonisent, avec un colmatage de la porosité.

Les corps bactériens calcifiés sont nettement visibles sur l'échantillon de mur traité (photo n° 12 et 13).

## **3 - Mesures physiques**

Dans le cas d'un mur en place, seule l'absorption à la pipe peut être faite (photo n° 14).

Toutefois, cette mesure est un bon indicateur du pouvoir protecteur de la biocalcification contre la pénétration des eaux atmosphériques.

Les résultats consignés dans le tableau n°4 et reportés sur la figure ci-après, montrent une nette augmentation du temps d'absorption d'un même volume d'eau ( de 13 secondes 84 dixièmes à 1 minute 48 secondes pour le meilleur essai, hors salissures.)

Dans les zones sales, la biominéralisation s'est produite de façon plus lente, puisque le temps d'absorption passe de 13 secondes 84 dixièmes à 50 secondes, après traitement.

Il est intéressant d'observer qu'en situation réelle (mur soumis aux conditions météorologiques), les performances sont plus marquées.

## **IV - CONCLUSION**

L'ensemble des résultats permet de vérifier la validité du procédé de biominéralisation sur un mur en situation verticale, soumis aux conditions météorologiques.

Le calcin néo-formé confère à la pierre traitée une protection qui fait chuter de manière significative sa capacité d'absorption d'eau (rapport de 1 à 5), sans perturber son aspect esthétique et en lui conservant son pouvoir de perméabilité aux gaz.

Procédé naturel et écologique, il est tout à fait innovant dans le domaine du traitement de la pierre et donc du Monument.

Plus active, semble-t-il jusqu'à maintenant, sur pierres saines et propres, la biominéralisation doit donc être envisagée pour des pierres nettoyées.

Toutefois, les techniques de nettoyage préalables doivent exclure tout produit chimique susceptible d'être inhibiteur pour le développement bactérien.

L'application, aux Monuments Historiques, de la technique de nettoyage par désincrustation photonique (Laser) a été une des études prioritaires du Laboratoire de Recherche des Monuments Historiques.

Cette méthode est entrée dans sa phase de développement technologique, en juin dernier, grâce à la réalisation du premier prototype mondial.

L'innocuité du Laser sur le matériau pierreux permet de considérer cette technique comme l'étape préalable idéale à la mise en oeuvre de la biominéralisation.

Enfin, il est prévu d'élargir le champ d'investigation à des recherches sur l'application de la biominéralisation à la statuaire, tant dans le domaine de la protection que dans celui de la consolidation, voire du collage.

TABLEAU N°1 : MESURES D'ABSORPTION D'EAU A LA "PIPE"

Pierre	Eprouvette	Emplacement	Temps pour absorber 4 cm <sup>3</sup> d'eau	
			Avant	Après
Tuffeau	1	1	2' 09"	> 30' (2,5 cm <sup>3</sup> ) *
		2	3'	25'
		3	2' 30"	13'
	2	1	2'	> 30' (1,3 cm <sup>3</sup> ) *
		2	2' 34"	> 30' (2,1 cm <sup>3</sup> ) *
		3	3'	> 30' (3,3 cm <sup>3</sup> ) *
	3	1	2' 54"	> 30' (1,85 cm <sup>3</sup> ) *
		2	2' 40"	11' 11"
		3	3'	18' 42"
Saint-Vaast	1	1	0' 39"	1'
		2	0' 39"	1' 30"
		3	0' 49"	1' 15"
	2	1	0' 45"	1' 10"
		2	0' 36"	1' 07"
		3	0' 37"	1' 10"
	3	1	0' 40"	1' 15"
		2	0' 42"	0' 55"
		3	0' 45"	1' 30"

\* : volume d'eau absorbé en 30'

TABLEAU N° 2 : MESURES DU COEFFICIENT DE CAPILLARITE

Pierre	Eprouvette	Avant traitement	Après traitement	Amélioration	
				en %	Moy
Tuffeau	1	30,5	14	54%	61%
	2	23,5	8	66%	
	3	29,2	10,4	64%	
Saint-Vaast	1	36,6	26	29%	21%
	2	35,0	30,7	16%	
	3	34,3	28,5	17%	

TABLEAU N° 3 : MESURE DE LA PERMEANCE (PERMEABILITE A LA VAPEUR)

Pierre	Eprouvette	Perméance à la vapeur d'eau		Diminution en %
		gramme/m <sup>2</sup> /heure, mm Hg		
		Avant traitement	Après traitement	
Tuffeau	1	0,689	0,545	20,9
	2	0,713	0,545	23,6
	3	0,733	0,605	17,5
Saint-Vaast	1	0,521	0,537	-
	2	0,501	0,501	-
	3	0,501	0,501	-

**TABLEAU N° 4 : MESURES D'ABSORPTION D'EAU A LA PIPE SUR LE MUR "IN SITU"**

Eau absorbée en ml	TEMPS D'ABSORPTION D'EAU EXPRIME EN SECONDES ET CENTIEMES DE SECONDES					
	Zone non traitee	Zone traitée hors salissures essai N° 2	Zone traitée hors salissures essai N° 3	Zone traitée hors salissures essai N° 4	Zone traitée avec salissures essai N° 5	Zone traitée avec salissures essai N° 6
0,50	1,73	7,90	11,43	8,46	6,18	5,55
1,00	3,46	18,10	25,53	18,18	10,62	10,81
1,50	5,19	27,93	39,00	26,53	16,31	17,77
2,00	6,92	39,25	52,96	36,18	22,59	22,84
2,50	8,65	51,28	66,91	46,56	29,97	30,50
3,00	10,38	63,81	77,71	55,98	35,30	36,59
3,50	12,11	75,65	94,22	66,84	42,00	43,04
4,00	13,84	95,90	108,67	78,06	49,54	50,00

Pour chaque mesure, les temps exprimés correspondent à une moyenne de plusieurs essais.

**BIBLIOGRAPHIE**

**MAMILLAN M.** (1964) : Recherches récentes sur le nettoyage des façades en pierre calcaire. Suppl. Annales de l'Institut technique du bâtiment et des travaux publics, n° 199-200, p. 859-887.

**ADOLPHE J.P.** (1981) : Observations et expérimentations géomicrobiologiques et physico-chimiques des concrétionnements carbonatés continentaux actuels et fossiles. Thèse doctorat d'Etat ès sciences, p. 81-134. Mém. Sci. Terre. Univ. Paris VI.

**CASTANIER S.** (1987) : Microbiologie. Processus et modalités de la carbonatogénèse bactérienne. Thèse doctorat d'Etat, Univ. Nantes, 541 p.

**ADOLPHE J.P. and BILLY C.** (1974) : Biosynthèse de calcite par une association bactérienne aérobie. Compte rendu Académie des Sciences, Paris, 278, p. 2873-2875.

**BOQUET E., BORONAT A. and RAMOS-CORMENZANA A.** (1973) : Production of calcite (calcium carbonate) crystals by soil bacteria is a general phenomenon. Nature, London, n° 246, p. 527-529.

**CASTANIER S., MAURIN A., PERTHUISOT J.P.** (1989) : Production bactérienne expérimentale de corpuscules carbonatés sphéroïdaux à structure fibroradiaire. Réflexion sur la définition des ooïdes. Bull. Soc. Geol. V, n° 3, p. 589-595.



941397

Photo N° 1 : Vue de la culture bactérienne et des milieux nutritifs



941398

Photo N° 2 : Aspect du mur traité, lors de l'expérimentation du mois de juin 1992



Photo N°3 : Examen au M.E.B. de la structure de la brique réfractaire avant traitement

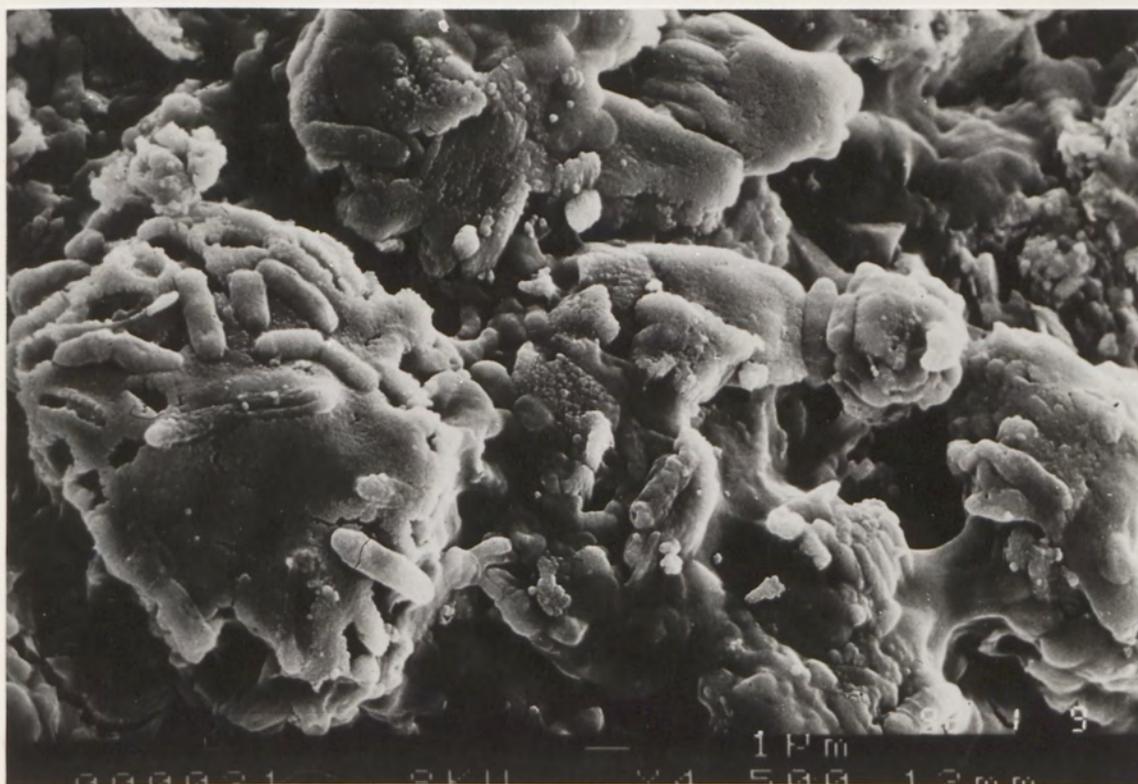


Photo N°4 : Examen M.E.B. de la brique réfractaire, après 10 jours de colonisation. Aspect du comblement de la porosité

NB 92 218

X



NB92219

Photo N° 5 : Examen M.E.B. de la brique réfractaire après 15 jours de bio-traitement.  
Présence de corps bactériens dans les craquelures



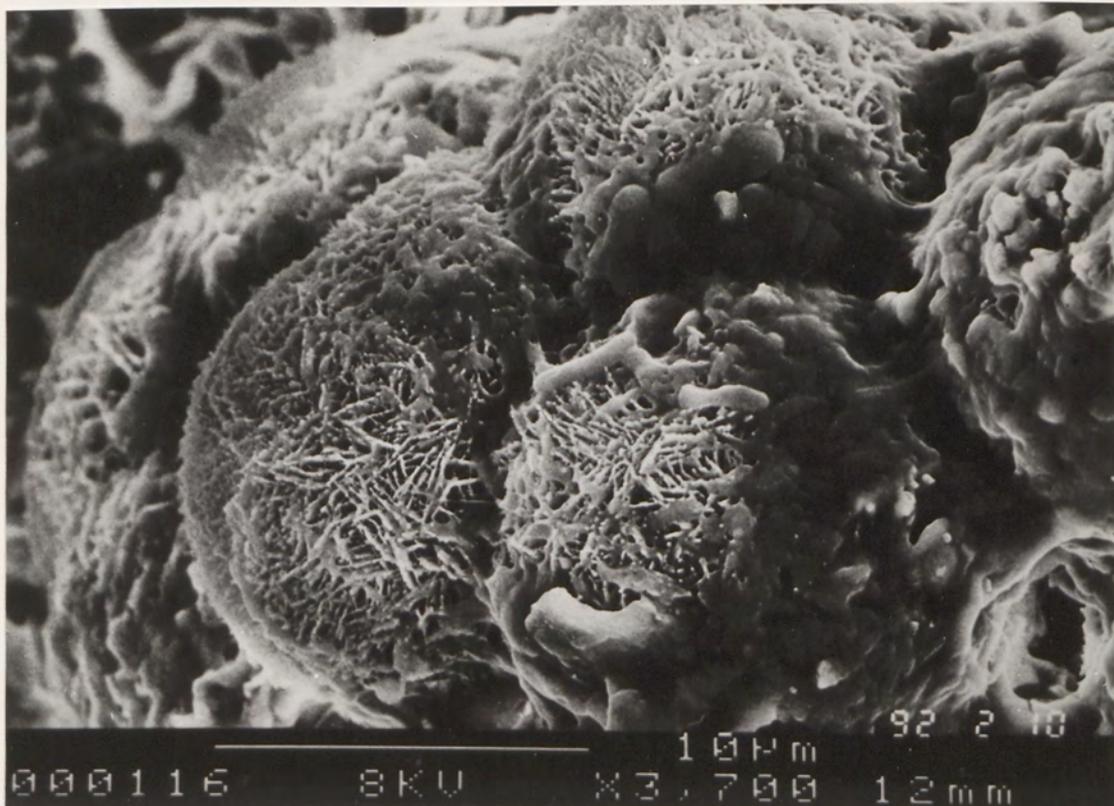
NB92216

Photo N° 6 : Examen M.E.B. de Tuffeau.  
Aspect avant traitement, présence de boules de cristobalites à aiguilles.



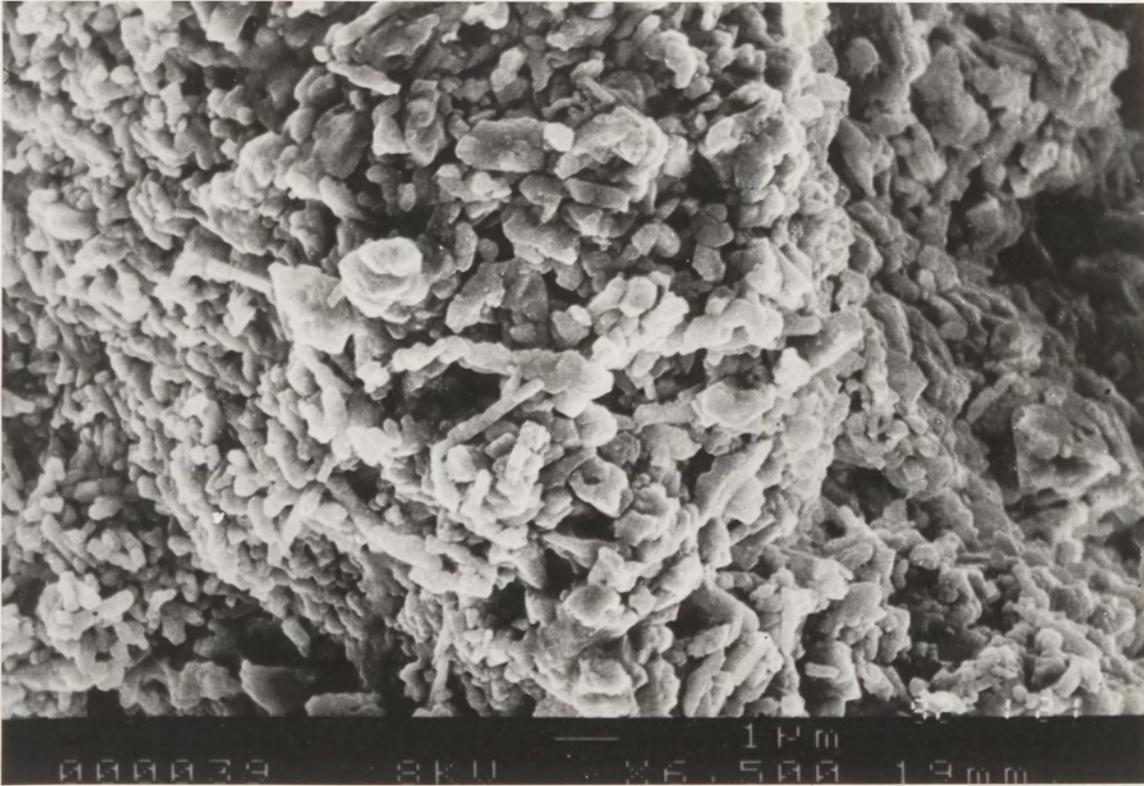
NB 92220

Photo N°7 : Exame M.E.B. de Tuffeau. Aspect après 5 jours de bio-traitement. Excrétats calcaires visibles.



NB 92217

Photo N°8 : Examen M.E.B. de Tuffeau après 15 jours de bio-traitement.  
Colonisation visible des boules de cristobalite.



NB 92225

Photo N°9 : Examen M.E.B. de Saint-Vaast avant bio-traitement



NB 92215

Photo N°10 : Examen M.E.B. de Saint-Vaast après 10 jours de traitement.  
Colonisation des parties lisses de la pierre

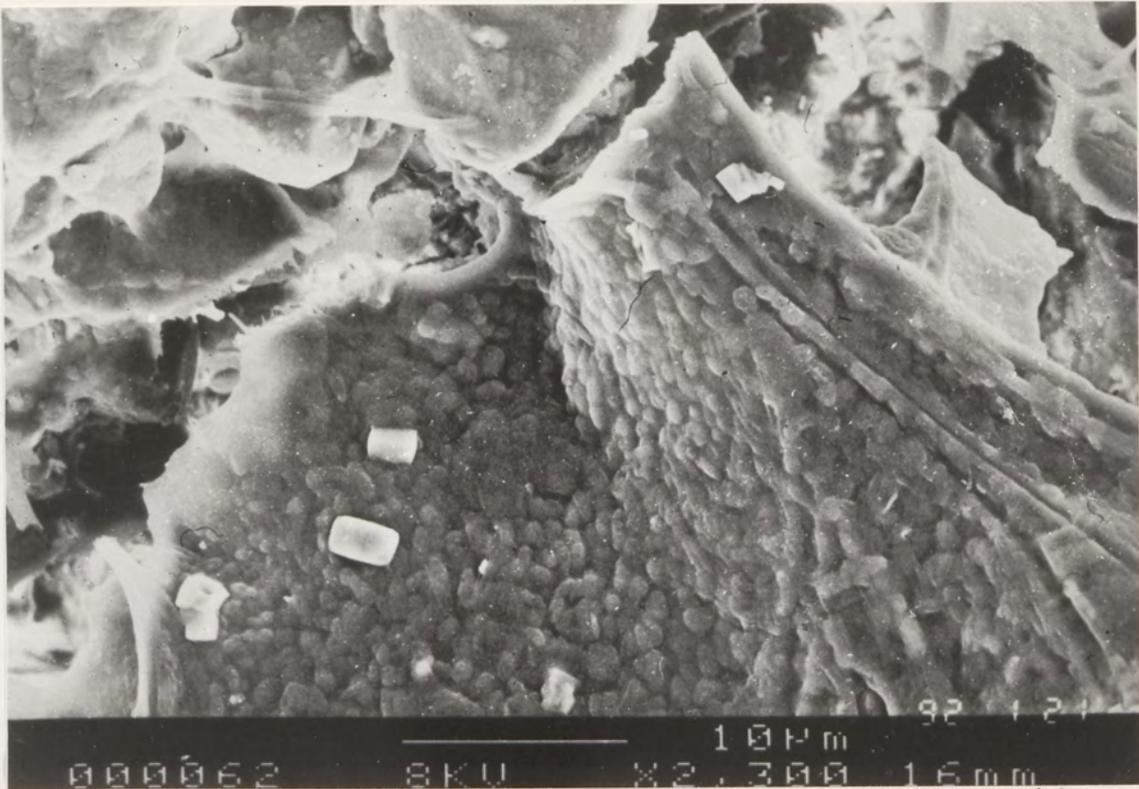


Photo N° 11 : Examen M.E.B. de Saint-Vaast après 15 jours de bio-traitement.  
La calcite bactérienne commence à recouvrir l'ensemble de façon homogène



Photo N° 12 : Examen M.E.B. du mur in situ avant traitement

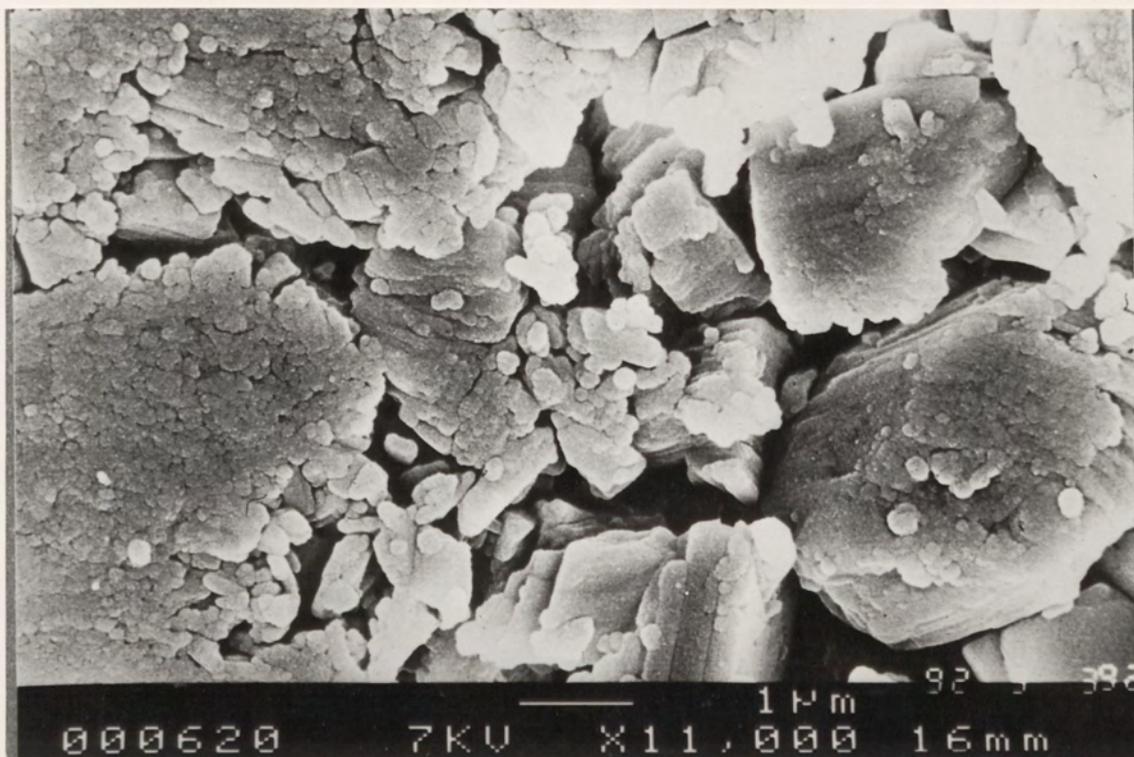


Photo N° 13 : Examen M.E.B. du mur *in situ* après 1 mois de traitement

NB92247



Photo N° 14 : Test de la "pipe à eau" *in situ*

941399