



HAL
open science

Influence de l'adhésion et de l'activité enzymatique du biofilm sur le comportement électrochimique des aciers inoxydables immergés en eaux de rivière

Cyril Marconnet

► **To cite this version:**

Cyril Marconnet. Influence de l'adhésion et de l'activité enzymatique du biofilm sur le comportement électrochimique des aciers inoxydables immergés en eaux de rivière. Matériaux. Ecole Centrale Paris, 2007. Français. NNT: . tel-00141130

HAL Id: tel-00141130

<https://theses.hal.science/tel-00141130>

Submitted on 11 Apr 2007

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THESE DE DOCTORAT DE L'ECOLE CENTRALE PARIS

**Spécialité
Electrochimie - Biocorrosion**

**Présentée par
Cyril MARCONNET**

**Pour obtenir le grade de
Docteur de l'Ecole Centrale Paris**

SUJET :

**Influence de l'adhésion et de l'activité enzymatique
du biofilm sur le comportement électrochimique
des aciers inoxydables immergés en eaux de rivière**

Soutenue le vendredi 30 Mars 2007, à 9h30

Jury :

Mme M-N. BELLON-FONTAINE, Professeur, ENSIA (Présidente du jury)
Mme C. DAGBERT, Maître de conférence, Ecole Centrale Paris (Directeur de thèse)
Mme I. DUPONT-MORRAL, MIRIADE, conseil régional B-Normandie (Membre invité)
M. D. FERON, Expert Senior Corrosion, CEA Saclay (Examinateur)
Mme M. LIBERT, Expert Senior Biochimie-Microbiologie, CEA Cadarache (Rapporteur)
Mme N. PEBERE, Directeur de recherche, CNRS Toulouse (Rapporteur)
M. B. TRIBOLLET, Directeur de recherche, CNRS Jussieu (Examinateur)

N° 2007-13

Remerciements

Les travaux présentés dans ce document ont été en grande partie réalisés au Laboratoire Génie des Procédés et Matériaux de l'Ecole Centrale Paris. Je tiens à remercier le professeur Jean-Bernard Guillot de m'avoir accueilli au sein de l'équipe du laboratoire.

Cette thèse était partie prenante du programme Biocorys Interrégional et a été financée par la MIATT-Bassin Parisien et par la région Ile de France. Que soient ici remerciées toutes les personnes qui ont permis la réalisation de ce travail.

Je remercie Marie-Noëlle Bellon-Fontaine (professeur à l'ENSIA) d'avoir accepté d'être présidente du jury de thèse, ainsi que pour la qualité de son accueil au sein de l'Unité Bioadhésion et Hygiène des Matériaux, pour les nombreuses discussions, toujours enrichissantes, que nous avons pu avoir durant ces trois années, et pour ses conseils judicieux lors de la rédaction du manuscrit.

Je souhaite aussi exprimer toute ma gratitude envers les rapporteurs de ce travail, Marie Libert (Expert Senior Biochimie-Microbiologie au CEA Cadarache) et Nadine Pébère (directeur de recherche CNRS à l'ENSIACET), dont les relectures attentives et les questions pertinentes ont permis d'améliorer la qualité du manuscrit et de mettre en perspective les résultats obtenus.

Je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance à Bernard Tribollet (directeur de recherche CNRS à l'Université Pierre et Marie Curie) pour sa disponibilité, sa passion d'électrochimiste et son aide indispensable à l'interprétation des résultats d'impédance électrochimique. Merci aussi à Isabelle Frateur (chargée de recherche à l'ENSCP) pour son aide précieuse et à Vincent Vivier (chargé de recherche à l'Université Pierre et Marie Curie) qui a beaucoup contribué aux mesures d'impédance locale.

J'adresse aussi de vifs remerciements à Isabelle Dupont (MIRIADE, conseil régional Basse-Normandie) pour sa volonté et son entrain à enseigner la microbiologie aux doctorants travaillant sur des sujets de biocorrosion. C'est grâce à elle et à l'ensemble du laboratoire Corrodys que la partie « Microbiologie » de cette thèse a pu voir le jour. J'associe à ces remerciements Sophie Malard pour le travail effectué sur les isollements de microorganismes sessiles de la Seine et les dénombrements bactériens.

Un grand merci à Damien Féron (Expert Senior Corrosion au CEA Saclay), qui a suivi ce projet tout au long des trois années et a su donner régulièrement des conseils, indiquer des pistes d'investigation et rendre possible matériellement certaines expérimentations. Je remercie également toute l'équipe du laboratoire LECA du CEA Saclay, et en particulier Olivier Raquet pour son accueil au sein du laboratoire et Marc Roy avec qui j'ai réalisé les immersions en eau de rivière naturelle. Ces moments passés « les pieds dans l'eau » resteront parmi les souvenirs les plus marquants de ces trois ans.

Les mesures de photoélectrochimie ont été réalisées au laboratoire LEPMI de l'ENSEEG grâce à Yves Wouters, que je remercie chaleureusement, ainsi qu'Alain Galerie et Jean-Pierre Petit pour l'intérêt qu'ils ont témoigné pour ce travail. Les analyses XPS ont été effectuées au laboratoire LRSI du CEA Saclay avec l'aide de Frédéric Miserque, que je remercie pour sa grande disponibilité et son enthousiasme.

Une des originalités de ce travail a été de réaliser des expériences d'immersion sur site en eau de rivière naturelle. J'adresse donc des remerciements à Brahim Benaïssa (CETMEF), Guénolé Chaussec (Concorde Chimie), Serge Richard (Renault Choisy-le-Roi), Venancio Frade (Renaud Flins), M. Méniszez (barrage de Poses-Amfreville), grâce à qui nous avons pu trouver les sites d'exposition et y travailler.

L'étude des phénomènes de bioadhésion et de leur influence sur le potentiel de corrosion libre a été menée au sein de l'UBHM de l'INRA (Massy). Cette collaboration m'a permis d'acquérir des connaissances théoriques et pratiques de microbiologie et de surmonter les difficultés liées à la pluridisciplinarité inhérente au sujet. Toutes les personnes de l'équipe ont contribué à la bonne réalisation de ce travail. Je tiens donc à remercier Jean-Marie, Thierry, Margareth, Julien, Gilles, Romain, Sabine, Karine, Florence, Muriel, Virginie, Laurent, aux côtés de qui j'ai passé de très bons moments.

Je remercie également l'ensemble de l'équipe du laboratoire LGPM, en particulier Annie, Arsène Isambert, Michel Jérôme, Carole, Sandra. Une pensée amicale pour tous les thésards que j'y ai rencontrés et avec qui j'ai sympathisé, Yannick, Catherine, Damien, Lenka, Cyril, et toute la petite « bande du midi » : Mourad, Nathalie, Monika, Céline, Amélie, Lucie, Fernando, Frédéric.

Je salue tout particulièrement les thésards du programme Biocorys interrégional, Emilie Dajoux-Malard, Jessem Landoulsi et Djamel Aouali. Ce fut un vrai plaisir de vous côtoyer et de travailler avec vous. Bonne chance à vous pour la suite !

Cette thèse n'aurait pu se faire sans le concours de ma directrice de thèse, Catherine Dagbert, dont l'encadrement fut exemplaire. Je te remercie donc, Catherine, pour la confiance que tu as su me témoigner dès le début, pour la motivation que tu sais engendrer chez les autres, pour ta gentillesse, pour ton soutien scientifique et moral qui fut indéfectible durant ces trois années passées ensemble. J'associe à ce remerciement Sylvie Levasseur, qui a beaucoup travaillé à la réalisation des échantillons de laboratoire. Nous avons formé tous les trois, dans la bonne humeur, une vraie équipe de travail.

Merci aussi aux copains, les Montbrisonnais bien sûr, ainsi que les « Parisiens » venus assister à la soutenance. Enfin, j'adresse tous mes remerciements, et bien plus que ça, à toute ma famille, et en particulier à mes parents Andrée et Georges, ainsi qu'à Nicolas et Anne-Sophie, pour le soutien permanent qu'ils représentent. Merci enfin à Claire pour sa présence à mes côtés, pour sa patience et le réconfort qu'elle m'a apporté durant la phase de rédaction de ce document.

Introduction	7
Chapitre 1 : Etude bibliographique	11
1.1 Le comportement électrochimique des aciers inoxydables	13
1.1.1 Evolution du potentiel de corrosion libre	13
1.1.2 Augmentation du courant cathodique.....	16
1.2 Mécanismes de l'augmentation du potentiel de corrosion libre	20
1.2.1 Modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase ».....	20
1.2.2 Biominéralisation	29
1.2.3 Synthèse	38
1.3 Le film passif des aciers inoxydables	38
1.3.1 La passivité.....	38
1.3.2 Rôle des éléments d'alliage.....	39
1.3.3 Formation de la couche passive.....	40
1.3.4 Propriétés électroniques et composition chimique du film passif	41
1.4 Le biofilm	46
1.4.1 Nature et formation du biofilm.....	46
1.4.2 L'adhésion bactérienne	47
1.4.3 Les exopolymères.....	51
1.4.4 Action corrosive des biofilms.....	52
2 Chapitre 2 : Matériels et Techniques	55
2.1 Matériaux	57
2.1.1 Echantillons de laboratoire	57
2.1.2 Echantillons pour les mesures <i>in situ</i>	57
2.2 Produits chimiques et solutions	58
2.2.1 Eau de rivière artificielle	58
2.2.2 « Réactifs enzymatiques ».....	58
2.2.3 Ajout ultérieur de catalase.....	58
2.2.4 « Produits enzymatiques ».....	58
2.3 Techniques expérimentales	58
2.3.1 Expériences réalisées dans l'eau de Seine	59
2.3.2 Techniques de caractérisation microbiologique	63
2.3.3 Technique de caractérisation physico-chimique de surface	63
2.3.4 Estimation de la biocontamination d'une surface en conditions statiques	68
2.3.5 Mesure de E_{corr} en présence d'un consortium microbien.....	71
2.3.6 Techniques d'analyse des couches d'oxydes	72
2.3.7 Techniques électrochimiques en laboratoire	82
2.3.8 Analyses physico-chimiques de l'eau de rivière artificielle	86
3 Chapitre 3 : Etude préliminaire : choix du protocole de traitement de surface	89
3.1 Préparation de surface des échantillons	91
3.2 Influence de la préparation de surface sur l'évolution de E_{corr} dans l'eau de rivière artificielle	92
3.2.1 Acier 304L	92
3.2.2 Acier 316L	93
3.2.3 Synthèse	94
3.3 Influence de la préparation de surface sur l'impédance électrochimique des aciers inoxydables dans l'eau de rivière artificielle	94
3.3.1 Spectroscopie d'impédance électrochimique globale.....	94
3.3.2 Distribution 2D et distribution 3D.....	96
3.3.3 Spectroscopie d'impédance électrochimique locale.....	97
3.3.4 Synthèse	98

3.4	Influence de la préparation de surface sur les propriétés de semi-conductivité	99
3.5	Influence de la préparation de surface sur les caractéristiques énergétiques de surface	100
3.6	Conclusion : choix du traitement de surface	102
4	<i>Chapitre 4 : Aciers inoxydables en eau de rivière naturelle.....</i>	103
4.1	Mesures électrochimiques	106
4.1.1	Evolution du potentiel de corrosion libre E_{corr} au cours du temps.....	106
4.1.2	Evolution du courant cathodique au cours du temps.....	112
4.1.3	Evolution du comportement anodique au cours du temps.....	116
4.1.4	Impédance électrochimique en eau de rivière naturelle	122
4.1.5	Synthèse : mesures électrochimiques	125
4.2	Observations et analyses de surface	126
4.2.1	Observations de surface (MEB)	126
4.2.2	Analyses de surface (MEB/EDS).....	130
4.2.3	Synthèse : observations et analyses de surface.....	135
4.3	Dénombrements bactériens.....	136
4.3.1	Dénombrements bactériens dans le milieu naturel.....	136
4.3.2	Dénombrements bactériens sur des échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de rivière naturelle	139
4.4	Caractérisation des films passifs en eau de rivière naturelle	140
4.4.1	Analyse des couches d'oxydes par spectrométrie de photoélectrons (XPS)	140
4.4.2	Détermination des propriétés de semi-conductivité des couches d'oxydes par la technique de Mott-Schottky.....	144
4.5	Synthèse générale	145
5	<i>Chapitre 5 : Modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase » - Production de peroxyde d'hydrogène</i>	147
5.1	Physico-chimie de la solution	149
5.1.1	Cinétique enzymatique dans la solution « réactifs enzymatiques ».....	149
5.1.2	Dismutation du peroxyde d'hydrogène	155
5.1.3	Synthèse : physico-chimie de la solution	158
5.2	Caractérisation des couches d'oxydes formées dans le modèle enzymatique.....	158
5.2.1	Caractérisation des couches d'oxydes par photoélectrochimie	159
5.2.2	Analyse des couches d'oxydes par spectrométrie de photoélectrons	167
5.2.3	Détermination des propriétés de semi-conductivité des couches d'oxydes par la technique de Mott-Schottky.....	180
5.2.4	Synthèse : caractérisation des couches d'oxydes	184
5.3	Evolution du potentiel de corrosion libre en eau de rivière artificielle	186
5.3.1	Evolution du potentiel de corrosion libre en présence des réactifs enzymatiques.....	186
5.3.2	Evolution du potentiel de corrosion libre en présence de peroxyde d'hydrogène	189
5.3.3	Evolution du potentiel de corrosion libre en présence d'acide gluconique	193
5.3.4	Evolution du potentiel de corrosion libre en présence des produits enzymatiques	196
5.3.5	Synthèse	197
5.3.6	Compléments : nature des instabilités de E_{corr} et rôle de la couche passive	197
5.3.7	Synthèse générale : évolution de E_{corr}	203
5.4	Réactions cathodiques en eau de rivière artificielle	204
5.4.1	Réactions cathodiques en présence des réactifs enzymatiques.....	204
5.4.2	Identification de la réduction n°1	210
5.4.3	Identification de la réduction n°2	218
5.4.4	Réactions cathodiques en présence des produits enzymatiques	222
5.4.5	Synthèse	222
5.4.6	Réactions cathodiques en eau de rivière artificielle avec électrode tournante.....	223
5.4.7	Synthèse générale : réactions cathodiques	225

5.5	Effet des réactifs enzymatiques sur le comportement anodique des aciers inoxydables	226
5.5.1	Courbes intensité-potentiel côté anodique en présence des réactifs enzymatiques	226
5.5.2	Courbes de polarisation galvanostatique en présence des réactifs enzymatiques	228
5.5.3	Effet de l'activité enzymatique	230
5.5.4	Synthèse	231
5.5.5	Effet des autres composés sur le comportement anodique des aciers inoxydables	232
5.5.6	Synthèse : comportement anodiques	233
5.6	Influence des réactifs enzymatiques sur l'impédance du système	234
5.6.1	Diagrammes d'impédance en présence des enzymes	234
5.6.2	Diagrammes d'impédance en présence des produits enzymatiques	247
5.6.3	Discussion	249
5.7	Mise en évidence du mécanisme de l'augmentation de E_{corr} sur le site de Choisy-le-Roi	250
5.7.1	Détermination de la présence de peroxyde d'hydrogène	250
5.7.2	Effet d'un ajout de catalase sur le courant cathodique	252
5.7.3	Synthèse	252
5.8	Synthèse générale : modèle enzymatique de production de H_2O_2	253
6	Chapitre 6 : Aptitude à la biocontamination de supports en acier inoxydable par des microorganismes isolés de l'eau de rivière naturelle - Influence sur le potentiel de corrosion libre	255
6.1	Isolement et sélection de microorganismes provenant de biofilms formés en eau de rivière naturelle	257
6.2	Caractérisations microbiologiques des trois isolats	258
6.2.1	Tests d'orientation et identification des isolats	258
6.2.2	Courbes de croissance en milieu de culture	259
6.3	Caractérisations physico-chimiques de surface des trois isolats	260
6.3.1	Hydrophilicité et caractère acide/base au sens de Lewis des microorganismes	260
6.3.2	Charge de surface des microorganismes	261
6.3.3	Synthèse	262
6.4	Caractérisations physico-chimiques de surface des supports	262
6.5	Adhésion des isolats sur supports en acier inoxydable en conditions statiques	263
6.5.1	Adhésion statique en eau de rivière artificielle	263
6.5.2	Adhésion statique en bouillon nutritif	267
6.5.3	Synthèse	271
6.6	Discussion	272
6.7	Evolution du potentiel de corrosion libre en présence des isolats	273
6.8	Synthèse	275
7	Discussion générale	277
8	Conclusions et Perspectives	283
9	Annexes	287

“Rust never sleeps.”

Neil Young

Introduction

Le coût annuel de la corrosion peut atteindre 3 à 5% du PNB d'un pays développé, ce qui explique la quantité importante de travaux de recherche consacrés à la prévention de la corrosion et au développement de techniques de protection des matériaux.

L'amélioration des propriétés mécaniques et de la résistance à la corrosion des aciers inoxydables a été à l'origine d'une extension de leur utilisation pour élaborer des structures immergées dans les eaux naturelles, dans de nombreux secteurs d'activité : transport de personnes ou de matériel, installations portuaires, exploitation des ressources naturelles, production d'énergie, approvisionnement en eau... Malgré la formation d'un film passif limitant la corrosion généralisée, des pièces en acier inoxydable peuvent subir des attaques de corrosion localisée : piqûres, effet de crevasse... De plus, dans les eaux naturelles, et plus généralement dans les milieux aqueux non stériles, la colonisation de la surface du matériau par des microorganismes peut initier ou accélérer un processus de corrosion et conduire à une dégradation importante de la structure. Ce phénomène est appelé biocorrosion, ou corrosion induite par les microorganismes, ou encore corrosion microbienne, et est défini comme suit : « corrosion associée à l'action de microorganismes présents dans le système de corrosion ». (norme NF EN ISO 8044, avril 2000).

Les phénomènes de biocorrosion résultent de la conjonction défavorable de trois paramètres : un électrolyte pouvant être peu agressif, un matériau pouvant présenter une bonne tenue à la corrosion, et des microorganismes produisant des métabolites dangereux pour le matériau. La formation d'un biofilm à la surface peut ainsi entraîner une détérioration dans un électrolyte a priori inoffensif pour le matériau considéré. Les phénomènes de biocorrosion pourraient représenter jusqu'à 20% du coût total annuel de la corrosion.

Les mécanismes de biocorrosion ne sont pas encore pleinement compris à l'heure actuelle. La communauté scientifique se heurte à plusieurs difficultés : complexité et hétérogénéité des biofilms naturels, interaction des microorganismes, diversité des métabolismes microbiens... Même si la découverte de l'action du biofilm sur le matériau date du début du XX^{ème} siècle, la nécessité d'une approche pluridisciplinaire a longtemps ralenti la progression des connaissances. En effet, les processus de biocorrosion mettent en jeu de nombreux domaines scientifiques, depuis la microbiologie jusqu'au génie des matériaux, depuis l'électrochimie jusqu'à l'enzymologie... D'importants progrès ont été effectués ces vingt dernières années grâce au développement de techniques d'investigation locale (électrochimie, analyse, observation).

Le comportement électrochimique des aciers inoxydables immergés en eau de mer naturelle se caractérise par une augmentation de leur potentiel de corrosion libre, qui peut provoquer l'amorçage de la corrosion par piqûres. Il a été démontré lors d'études précédentes que cette élévation de potentiel est liée à la formation du biofilm à la surface du matériau et à son impact sur les processus cathodiques. De nombreux cas de biocorrosion affectant les aciers inoxydables en eau de mer naturelle ont été reliés au métabolisme de certains microorganismes capables de synthétiser par voie enzymatique un milieu oxydant (production de peroxyde d'hydrogène) et acide. Un tel mécanisme a été validé en laboratoire lors d'études en eau de mer artificielle.

Le potentiel de corrosion libre suit fréquemment la même évolution dans les eaux naturelles à faible teneur en ions chlorures (eaux fluviales, lacustres, lagunaires...), toutefois son augmentation pourrait dépendre du milieu et ne pas être systématique. Par ailleurs, deux mécanismes sont souvent cités et opposés dans la littérature.

L'objectif de ce travail de thèse est de caractériser l'influence du biofilm sur le potentiel de corrosion libre, à partir de l'étude non seulement des réactions cathodiques mais aussi des processus anodiques et de l'impédance électrochimique, des aciers inoxydables immergés en eau de rivière naturelle, afin de mettre en évidence le principe du (ou des) mécanisme(s) induisant les modifications du comportement électrochimique.

Après la présentation d'une synthèse bibliographique, la démonstration s'appuie à la fois sur des mesures *in situ* réalisées dans la Seine et sur différentes méthodes de caractérisation du film passif. Un des mécanismes menant à l'augmentation du potentiel de corrosion libre est ensuite validé en eau de rivière artificielle. Enfin, l'adhésion de souches microbiennes sauvages provenant de la flore sessile prélevée dans la Seine est étudiée, ainsi que son influence sur le potentiel de corrosion libre. Avant de conclure ce travail, les résultats les plus importants sont mis en perspective lors d'une discussion critique.

A la fin du manuscrit, des annexes concernant plusieurs domaines scientifiques abordés dans cette thèse (bases de corrosion, notions sur les semi-conducteurs, brève description des bactéries...) sont données afin de faciliter la lecture à des non-spécialistes de ces domaines.

Tout au long de ce document, des synthèses indiquées par des encadrés permettent de résumer les points importants du raisonnement.

Chapitre 1 : Etude bibliographique

tel-00141130, version 1 - 11 Apr 2007

L'objet de cette étude est la corrosion microbienne (ou biocorrosion) des aciers inoxydables en eaux douces naturelles. L'état de l'art ici effectué s'appuie sur des recherches bibliographiques et détaille les trois grandes composantes de la corrosion microbienne : l'électrolyte (milieu liquide), le matériau (acier inoxydable) et les microorganismes.

Du fait de la pluridisciplinarité inhérente à cette discipline nouvelle qu'est la biocorrosion, certains concepts peuvent être assez éloignés du domaine de prédilection du lecteur. Pour cette raison, les notions de base des différents champs scientifiques intervenant dans l'étude sont rappelées dans plusieurs annexes : corrosion aqueuse (annexe n°1), matériaux (description des aciers inoxydables en annexe n°2), semi-conductivité (annexe n°3), microbiologie (brève description des bactéries et levures en annexe n°4) et enzymologie (description des enzymes en annexe n°5).

La problématique de cette thèse est présentée dans un premier temps : le comportement électrochimique des aciers inoxydables en eaux naturelles (eau de mer, eaux douces) peut mener à des situations où le risque de corrosion est élevé. Ensuite, les différents mécanismes qui ont été proposés pour expliquer ce comportement sont explicités. Enfin, les troisième et quatrième sous-parties sont centrés sur deux éléments primordiaux mis en jeu dans les phénomènes de corrosion microbienne des aciers inoxydables : le film passif, qui confère aux aciers inoxydables leur résistance à la corrosion généralisée et leur susceptibilité à la corrosion localisée, et le biofilm (en particulier son adhésion à la surface du métal), qui peut être à l'origine d'une détérioration du matériau.

1.1 Le comportement électrochimique des aciers inoxydables en eaux naturelles

Le comportement électrochimique des aciers inoxydables en eaux naturelles se caractérise par une augmentation du potentiel de corrosion libre (aussi appelé potentiel d'abandon), souvent attribuée dans la littérature à une augmentation du courant cathodique au cours de l'immersion, comme développé ci-après.

1.1.1 Evolution du potentiel de corrosion libre

1.1.1.1 Evolution du potentiel de corrosion libre en eau de mer naturelle

De nombreuses études antérieures ont porté sur la corrosion des aciers inoxydables induite par les micro-organismes en eau de mer naturelle. Dans cet environnement, les cas de dégradation sont fréquents. En eau de mer naturelle, le développement du biofilm à la surface d'un acier inoxydable implique de façon systématique une augmentation du potentiel de corrosion libre E_{corr} , parfois appelée « anoblissement » (traduction littérale de *ennoblement*, en anglais) [1-13].

De nombreuses expérimentations ont été conduites dans le monde entier pour confirmer ce modèle, en particulier le programme européen MAST II dont les résultats sont donnés en exemple sur la figure 1 [6, 14]. Dans toutes les eaux de mer naturelles testées, le potentiel de corrosion libre a augmenté au cours du temps. Les valeurs finales atteintes sont toujours comprises entre +200 et +400 mV/ECS. Ces valeurs ne dépendent ni du potentiel initial, ni de la situation géographique, ni de la saison, ni de l'alliage utilisé (composition chimique, microstructure...) [15, 16].

L'augmentation de E_{corr} peut ne pas être instantanée. Le temps de latence avant apparition de l'augmentation (ou temps d'incubation) est assez variable suivant le lieu, la saison, l'écoulement du fluide, la température, la lumière... Les résultats du programme MAST II indiquent un temps de latence compris entre 0 et 15 jours. La température semble être un paramètre primordial, pour un lieu d'exposition donné [17].

➤ **Influence des conditions hydrodynamiques sur l'évolution de E_{corr}**

L'effet de la vitesse de circulation de l'eau sur l'évolution du potentiel d'abandon est encore sujet à controverse. La majorité des auteurs pensent qu'une vitesse de circulation élevée a tendance à « arracher » le biofilm, donc à faire croître le temps d'incubation et à limiter l'augmentation de E_{corr} [10, 14]. Cependant, il existe quelques travaux expérimentaux affirmant que la vitesse de circulation d'eau n'a pas d'effet sur l'évolution de E_{corr} . Les valeurs atteintes sont toujours les mêmes, quel que soit le régime hydraulique [18].

➤ **Influence de l'oxygène sur l'évolution de E_{corr}**

La présence d'oxygène est indispensable à l'augmentation de E_{corr} [15].

➤ **Influence de l'éclairement sur l'évolution de E_{corr}**

Le rôle de l'éclairement sur l'évolution de E_{corr} n'est pas encore parfaitement connu. Dans certains travaux, les auteurs affirment que l'augmentation de E_{corr} n'est pas affectée par les conditions d'éclairement [6, 14]. D'autres études, plutôt minoritaires, montrent que le potentiel d'abandon est plus élevé lorsque l'eau de mer est plongée dans l'obscurité [19, 20]. Enfin, dans certains articles, des mesures de E_{corr} lors d'alternances jour/nuit montrent que le potentiel varie entre les conditions éclairées et les conditions obscures : le potentiel prend une valeur plus élevée le jour que la nuit [21]. Cette influence de l'éclairement pourrait provenir de la présence d'algues photosynthétiques dans le biofilm. Leur production de O_2 dépend de l'éclairement et peut influencer la réaction cathodique, en générant de fortes pressions partielles en dioxygène à proximité de l'électrode.

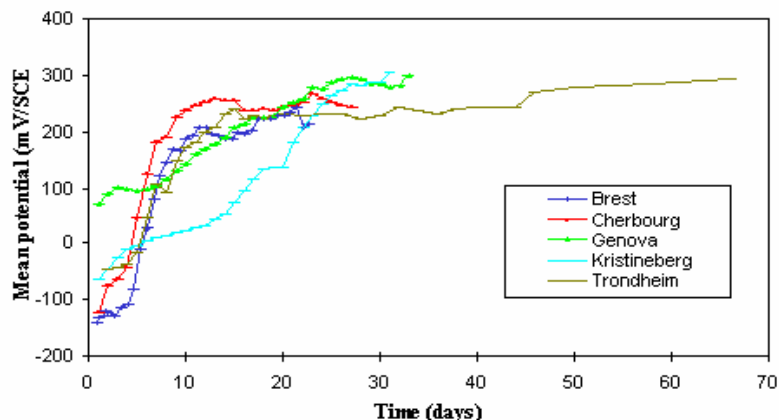
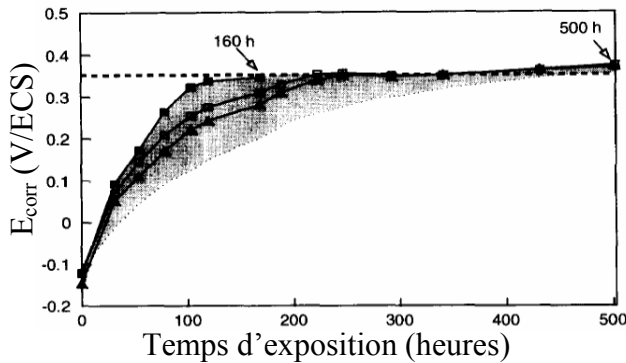


Figure 1 : évolution du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier inoxydable 654SMO immergés dans 5 stations marines [6]

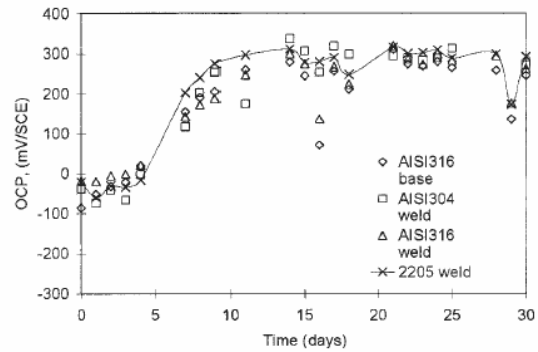
Enfin, le programme MAST II a montré qu'il y a un lien entre l'augmentation de E_{corr} et la teneur en carbohydrates et en protéines extracellulaires, et ce pour toutes les nuances d'acier inoxydable testées, quels que soit la vitesse de circulation de l'eau, la température, la saison, le lieu d'immersion... Les microorganismes affectent donc le comportement à la corrosion des aciers inoxydables via leurs produits extracellulaires [22].

1.1.1.2 Evolution du potentiel de corrosion libre en eaux douces naturelles

Des expériences d'immersion d'aciers inoxydables (AISI 304, AISI 316 et AISI 316L) dans des eaux douces naturelles ont été menées dans plusieurs milieux : rivières, lacs, estuaires... Les résultats ont montré que le potentiel de corrosion libre des échantillons augmente jusqu'à des valeurs comprises entre +200 et +400 mV/ECS [4, 23-30]. Les résultats obtenus par Dickinson *et al* [25] sont représentés sur la figure 2-a en guise d'exemple.



a- Eau de rivière



b- Eau à l'étape finale de traitement dans une station d'épuration

Figure 2 : Evolution du potentiel de corrosion libre

a- d'échantillons d'acier 316L immergés en eau de rivière [25]

b- d'échantillons d'aciers 304 et 316 immergés dans une eau usée contenant 0,515 g/L de Cl⁻ [34]

Comme en eau de mer, les valeurs de potentiel atteintes sont indépendantes du lieu, de la saison, de la température, de l'alliage... Quelles que soient les conditions expérimentales, le potentiel atteint toujours une valeur comprise entre +200 et +400 mV/ECS. En revanche, le temps d'incubation ou temps de latence avant l'augmentation de E_{corr} varie en fonction de nombreux paramètres, biotiques (natures des microorganismes présents dans le biofilm, nature des EPS...) ou abiotiques (température, lumière, vitesse de circulation de l'électrolyte...). Le temps de latence varie en particulier avec la saison [23, 31].

Par ailleurs, les conditions d'éclairement pourraient avoir une influence sur le potentiel d'abandon dans les eaux à faible teneur en ions chlorures. Une expérience réalisée dans une eau de rivière souterraine a montré que l'augmentation de E_{corr} sur des échantillons d'acier 304 est bien plus importante en conditions éclairées (biofilm contenant bactéries et algues) que dans l'obscurité (biofilm uniquement bactérien). L'expérience avait pour but de visualiser l'effet des microorganismes photosynthétiques. Il a été conclu que les microorganismes photosynthétiques produisent une pression partielle en oxygène importante dans le biofilm en conditions éclairées, ce qui a pour effet de faire augmenter le courant de réduction de O_2 à la cathode. Les régions du biofilm dominées par les algues seraient ainsi à l'origine de l'augmentation de E_{corr} , et leur couplage avec les régions dominées par les bactéries, capables d'acidifier et de désoxygéner leur milieu environnant, pourrait initier une corrosion localisée sur les petites zones anodiques occupées par les bactéries [27, 28]. D'autres études ont montré que les diatomées photosynthétiques sont capables d'induire une augmentation de E_{corr} de 200 mV [32, 33].

A titre de comparaison, la littérature relève des cas d'augmentation de E_{corr} pour des échantillons d'aciers inoxydables immergés dans des eaux douces "industrielles" (mais non stérilisées), dans des stations de traitement d'eaux usées, des eaux de vidange... Les potentiels

de corrosion libre ont en général augmenté jusqu'à atteindre des valeurs maximales d'environ +250 à +350 mV/ECS. La figure 2-b illustre ce phénomène [34-36].

Toutefois, l'élévation de E_{corr} pourrait ne pas être systématique. Certains travaux relèvent des cas où le potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier inoxydable immergés en eau à faible teneur en Cl^- n'augmente pas [34].

1.1.1.3 Evolution du potentiel de corrosion libre en milieu stérile

Lorsque des échantillons d'acier inoxydable sont immergés en eau de mer stérile, le potentiel de corrosion libre évolue très peu. Les valeurs stationnaires de E_{corr} en eau de mer stérile sont comprises entre -100 et +100 mV/ECS [1, 19, 37]. La présence de microorganismes serait nécessaire pour avoir une augmentation de E_{corr} similaire à celle obtenue en eau naturelle.

Le même résultat a été trouvé dans une eau de rivière du sud de l'Inde ayant une concentration en chlorures de 40 ppm [27, 28]. Lorsque l'eau de rivière est stérilisée, le potentiel d'abandon des échantillons d'acier inoxydable n'augmente pas.

L'augmentation de E_{corr} est donc un effet produit par les microorganismes.

C'est par leur métabolisme que les microorganismes influent sur la valeur de E_{corr} . Lorsque de l'azoture de sodium NaN_3 (inhibiteur de l'activité respiratoire) est ajouté au milieu, le potentiel d'abandon diminue brutalement. Ainsi la présence physique du biofilm peut jouer un rôle, mais il semble être négligeable devant le rôle du métabolisme des microorganismes qu'il contient [37].

1.1.1.4 Synthèse

Le potentiel d'abandon E_{corr} des aciers inoxydables immergés en milieu aqueux non stérile augmente généralement dans le temps. Les valeurs atteintes sont toujours dans l'intervalle de +200 à +400 mV/ECS. Ce phénomène représente un danger non négligeable pour les structures métalliques immergées en milieu aqueux, car si E_{corr} dépasse la valeur du potentiel d'apparition de piqûres E_{piq} , la corrosion localisée peut se déclencher et dégrader très rapidement la structure. Cette augmentation de E_{corr} , symptomatique de la formation d'un biofilm à la surface des aciers inoxydables, dépend de la température, de l'éclairement et nécessite la présence de O_2 .

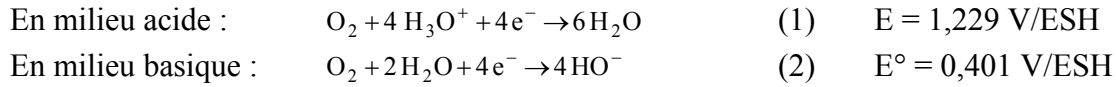
1.1.2 Augmentation du courant cathodique

1.1.2.1 Augmentation du courant cathodique en eau de mer naturelle

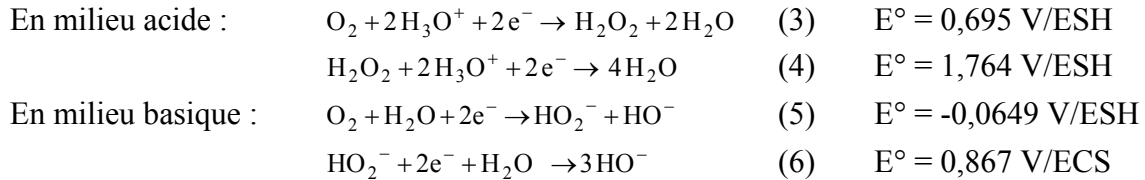
La réaction cathodique principale est, en conditions aérobies, la réduction de l'oxygène. Elle est limitée par la diffusion de cette espèce au sein de la solution et donc dépendante de la présence du biofilm (éventuelle « barrière de diffusion ») et/ou de la vitesse de circulation du fluide (si la diffusion n'est pas trop limitée par le biofilm). Suivant l'état de la surface de l'acier inoxydable (préparation préliminaire, traitement chimique, vieillissement en eau naturelle...), la réaction de réduction de O_2 peut se dérouler suivant 2 mécanismes différents : un mécanisme à une étape mettant en jeu 4 électrons, sans formation d'intermédiaire de

réaction, et un mécanisme comprenant deux étapes mettant en jeu 2 électrons chacune, avec H_2O_2 ou HO_2^- comme intermédiaire de réaction.

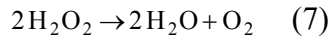
➤ Réduction directe à 4 électrons :



➤ Réduction en deux étapes à deux électrons



Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et HO_2^- sont des espèces réactives de l'oxygène. Ils sont plutôt instables et susceptibles de dismuter selon les réactions (7) et (8) :



Les premiers travaux s'intéressant à l'évolution de la branche cathodique en eau de mer naturelle ont montré que le courant de réduction a tendance à augmenter au cours du temps. Il a été prouvé expérimentalement qu'en eau de mer naturelle l'augmentation de E_{corr} est liée à une augmentation du courant cathodique [10, 38]. L'évolution de la courbe intensité-potentielle en eau de mer naturelle présentée en figure 3-B indique effectivement une augmentation de la densité de courant cathodique au cours du temps.

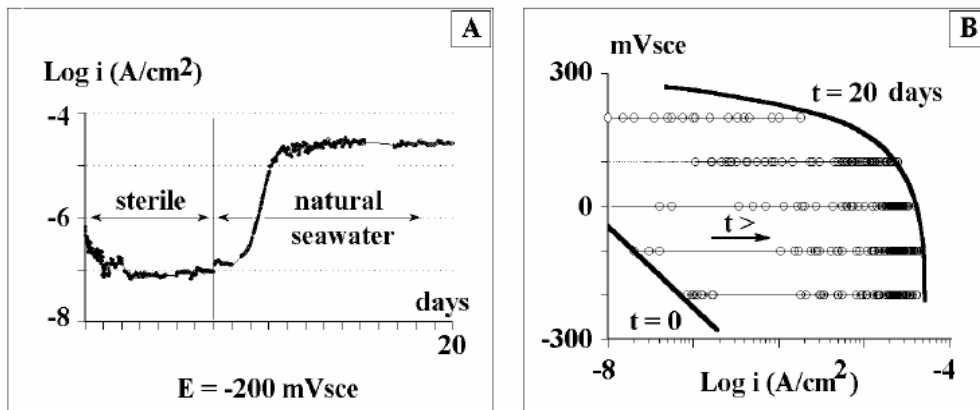


Figure 3 : évolution de la densité de courant cathodique sur acier inoxydable immergé en eau de mer naturelle A- échantillon polarisé à -200 mV/ECS, immergé dans un premier temps en eau de mer naturelle stérile puis en eau de mer naturelle non stérilisée B- polarisations à différents potentiels [39]

Lorsqu'un échantillon d'acier inoxydable est polarisé à 0 V/ECS, le courant cathodique augmente quel que soit le lieu. Il semblerait que le temps de latence avant cette augmentation soit plus long que le temps de latence avant augmentation de E_{corr} [5, 40]. La valeur finale du courant cathodique n'est pas une constante, elle varie en fonction du lieu d'immersion dans cette étude. Une polarisation à un potentiel plus cathodique (-200 mV/ECS) donne le même résultat : la densité du courant cathodique augmente lorsque l'échantillon est mis en contact avec l'eau de mer naturelle (figure 3-A) [39].

Des travaux plus récents ont montré que la cinétique de réduction de O_2 est modifiée lorsqu'un biofilm se forme à la surface de l'échantillon. La vague de réduction de l'oxygène

se décale vers des potentiels plus élevés (entre 0 et +300 mV/ECS), et le courant cathodique du plateau de diffusion augmente [10, 19, 37, 38, 41-43]. Le mécanisme de la réduction de O_2 semble être modifié au cours du vieillissement de la surface immergée [32, 44, 45]. L'augmentation de E_{corr} et l'augmentation de la cinétique de la réduction de O_2 sont plus importantes en eau de mer naturelle qu'en eau de mer artificielle stérile, où seul intervient l'oxygène dissous. D'après le Bozec *et al*, la transformation de la couche d'oxydes en eau de mer naturelle (épaississement, stratification et formation d'une couche interne riche en chrome et d'une couche externe riche en oxydes de fer) est à l'origine d'une modification du mécanisme de la réduction de O_2 [46]. En eau de mer naturelle, la réduction de O_2 a lieu en même temps que la réduction des oxydes de Fe(III) présents à la surface. Elle se fait selon les deux mécanismes (à deux et à quatre électrons), en fonction de la zone considérée, alors que sur une surface fraîchement polie, la réduction de O_2 se fait uniquement suivant le processus à deux étapes bi-électroniques. Ainsi, en eau de mer naturelle, l'augmentation de la cinétique de la réduction de l'oxygène serait liée à la présence de sites où cette réduction se fait à 4 électrons et d'autres où la réduction se fait à 2 électrons. Les modifications de la composition chimique de la couche d'oxydes (en particulier, augmentation de la teneur en fer(III) à l'extrême surface) pourraient provoquer une accélération de la cinétique de réduction de l'oxygène, les ions Fe^{3+} jouant le rôle de catalyseur [17, 46, 47].

En eau de mer naturelle stérilisée par filtration à $0,2 \mu m$, l'augmentation du courant de réduction de O_2 n'a pas lieu [38]. C'est bien la présence de microorganismes qui est à l'origine d'une amplification de la réduction de l'oxygène.

Par ailleurs, le courant anodique de dissolution du métal (très faible) n'évolue pas durant l'immersion ; l'augmentation de E_{corr} est par conséquent due à une augmentation de la densité de courant cathodique, c'est-à-dire à une amplification de la cinétique de la réaction cathodique [37].

Actuellement, la majorité des chercheurs travaillant dans ce domaine pensent que la modification de la branche cathodique explique l'augmentation de E_{corr} . Il faut toutefois noter que certains auteurs émettent l'hypothèse d'une diminution du courant anodique. Selon eux, le biofilm synthétiserait des inhibiteurs de corrosion (polypeptides, polyphosphates), ce qui aurait pour conséquence d'abaisser le courant de dissolution du métal, et donc de faire augmenter E_{corr} . Cela pourrait expliquer le fait que parfois E_{corr} dépasse la valeur du potentiel d'apparition de piqûres E_{piq} sans qu'une corrosion localisée ne démarre. Les microorganismes du biofilm auraient ainsi un effet de passivation sur l'alliage et inhiberaient la croissance des piqûres. Dans ces conditions, le biofilm aurait pour conséquence de diminuer la vitesse de corrosion. Cette idée est développée pour les aciers inoxydables [48] et élargie aux bronzes et aux alliages à base Al [49]. Elle a mené au concept de CCURB (Corrosion Control Using Regenerative Biofilms), proposant de protéger un matériau de la corrosion en le recouvrant d'un biofilm produisant des inhibiteurs de corrosion.

1.1.2.2 Augmentation du courant cathodique en eaux douces

En eau douce naturelle, le même résultat a été obtenu. Une forte augmentation du courant cathodique a été mesurée pour de faibles polarisations dans la direction des potentiels cathodiques [25, 50, 51]. La figure 4 présente des courbes de polarisation obtenues sur des échantillons d'acier AISI 316L immergés dans en eau douce naturelle. Pour des potentiels supérieurs à -400 mV/ECS, la densité de courant cathodique est plus importante après 160h et après 500h qu'au temps initial. Dans ce cas très précis, l'augmentation de E_{corr} a été attribuée à la biominéralisation d'oxydes de manganèse.

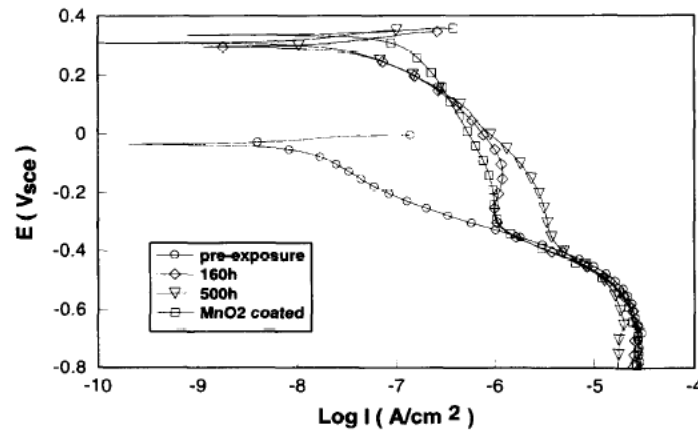
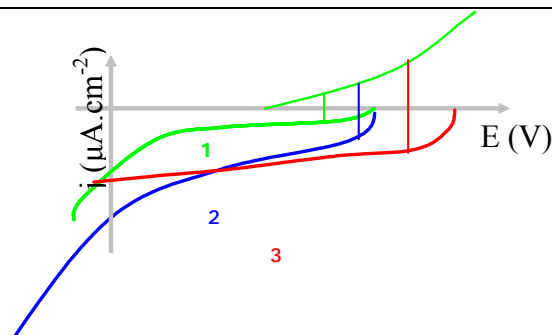


Figure 4 : densité de courant cathodique pour un échantillon de 316L à différents temps d'immersion dans une eau douce de rivière [25] (la courbe relative au dépôt de MnO₂ sera explicitée plus loin)

L'augmentation du courant cathodique a aussi été trouvée dans des eaux usées dans des stations d'épuration. [34, 36]

1.1.2.3 Synthèse

L'augmentation de E_{corr} est généralement due à une amplification de la cinétique de la réaction cathodique. Une augmentation du courant cathodique à faible polarisation explique en effet le décalage de E_{corr} , comme le montre la figure 5. Cette modification du courant cathodique se produit soit par une amplification de la cinétique de réduction de O₂, soit par apparition d'une nouvelle réduction mettant en jeu un nouvel oxydant produit au sein du biofilm.



- 1) Milieu stérile ou premiers instants d'immersion
- 2) Amplification de la réduction de l'oxygène
- 3) Addition d'une nouvelle réduction

Figure 5 : effet d'une modification des processus cathodiques sur la valeur de E_{corr}

Les mécanismes proposés dans la littérature pour expliquer l'augmentation du potentiel d'abandon doivent se fonder soit sur la **formation d'un nouvel oxydant** pouvant être réduit à la cathode, soit sur une **évolution de la cinétique de la réduction de l'oxygène**.

1.2 Mécanismes de l'augmentation du potentiel de corrosion libre

Ces mécanismes sont multiples, mais actuellement deux phénomènes principaux semblent être en mesure d'expliquer un grand nombre de cas d'augmentation de E_{corr} en eaux naturelles [267]. Le premier processus qui va être évoqué est un mécanisme enzymatique ; il met en jeu plusieurs enzymes extracellulaires pouvant être présentes dans le biofilm et capables de catalyser la production d'un nouvel oxydant (le peroxyde d'hydrogène). Le deuxième mécanisme a trait à la formation ou à la dissolution de dépôts (oxydes de manganèse, oxydes de fer) à la surface de l'acier inoxydable par action des microorganismes du biofilm.

1.2.1 Modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase »

Les bactéries sessiles peuvent sécréter des enzymes extracellulaires dans la matrice du biofilm. Un modèle enzymatique a été développé pour expliquer l'augmentation du potentiel de corrosion libre des aciers inoxydables immergés en eau de mer naturelle, fluide le plus largement étudié.

Historiquement, ce modèle a été proposé après avoir constaté que l'augmentation de E_{corr} en eau de mer naturelle a lieu à 25°C mais pas à 40°C, alors que le nombre de microorganismes et la quantité d'exopolymères ne sont pas significativement différents. La seule différence trouvée entre les bactéries formant le biofilm à 25°C et les bactéries formant le biofilm à 40°C est leur spectre métabolique, en particulier la nature des enzymes qu'elles sont capables de produire. Les bactéries vivant à 25°C synthétisent des enzymes catalysant la dégradation des sucres, elles peuvent donc se développer sur ces nutriments. [1]

Certaines enzymes oxydoréductases, formant la sous-classe des oxydases, sont capables de catalyser la production de peroxyde d'hydrogène et d'acidité à partir de l'oxygène dissous et de sucres. H_2O_2 est une espèce oxydante dont la réduction peut contribuer aux processus cathodiques. H_2O_2 étant formé à proximité de la surface, le courant cathodique résultant de sa réduction peut être assez élevé. Par ailleurs, deux autres enzymes, la catalase et la peroxydase, catalysent la dégradation du peroxyde d'hydrogène. La concentration en H_2O_2 dans le biofilm est ainsi fonction de la présence d'oxydases, de catalase et de peroxydase.

L'oxydase qui a été le plus étudiée en laboratoire est la glucose-oxydase (GOD). Ce modèle cohérent reproduit correctement l'augmentation du potentiel de corrosion libre observée en eau de mer naturelle. Des essais préliminaires ont été effectués pour l'adapter aux eaux douces.

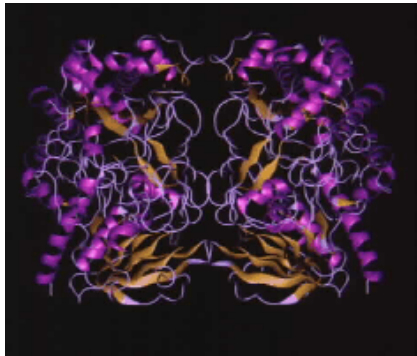
Dans un premier temps les différents composés mis en jeu dans ce mécanisme (H_2O_2 , glucose-oxydase GOD, glucose, acide gluconique) seront étudiés, puis dans un deuxième temps un état de l'art concernant l'influence du mécanisme enzymatique sur le comportement à la corrosion des aciers inoxydables sera dressé.

1.2.1.1 Action de la glucose-oxydase

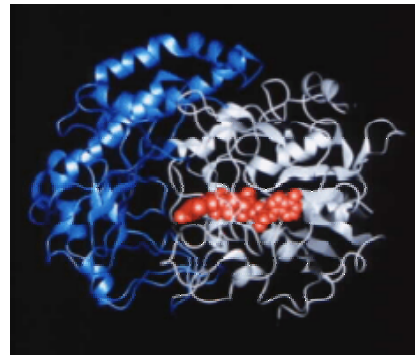
a) Glucose-oxydase

La glucose-oxydase, notée GOD dans cette étude, est une enzyme de la classe des oxydoréductases. Sa formule brute est $\text{C}_{2808}\text{H}_{4289}\text{N}_{767}\text{O}_{877}\text{S}_{14}$ et sa référence dans la nomenclature EC 1.1.3.4 [52]. La GOD est un homodimère protéique d'une masse d'environ 160 kDa (le dalton, noté Da, autre nom de l'unité de masse atomique unifiée uma, est égal au douzième de la masse d'un atome de ^{12}C , environ $1,66054 \cdot 10^{-27}$ kg) dont la structure tridimensionnelle est représentée en figure 6. Elle est formée de deux sous-unités identiques

ayant un poids moléculaire de 80 kDa. Chacune des deux sous-unités comporte deux parties, une qui se lie au substrat (le glucose) et l'autre qui est liée au cofacteur de l'enzyme, une petite molécule non protéique appelée Flavine Adénine Dinucléotide. La GOD est très répandue et peut être isolée à partir de champignons (par exemple *Penicillium notatum*) ou de bactéries. La GOD la plus employée en laboratoire et utilisée dans ce travail est tirée de la moisissure *Aspergillus niger*. Elle est souvent utilisée pour doser le glucose, par exemple dans le sang pour des patients atteints de diabète.



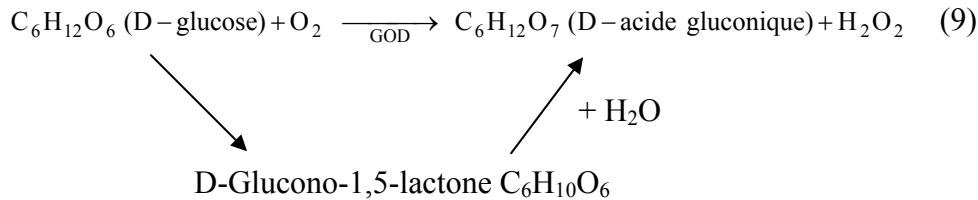
a- Molécule de GOD



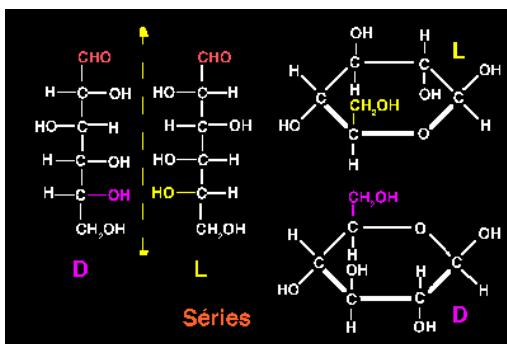
b- Sous-unité de la GOD (FAD en rouge)

Figure 6 : représentation tridimensionnelle d'une molécule de GOD

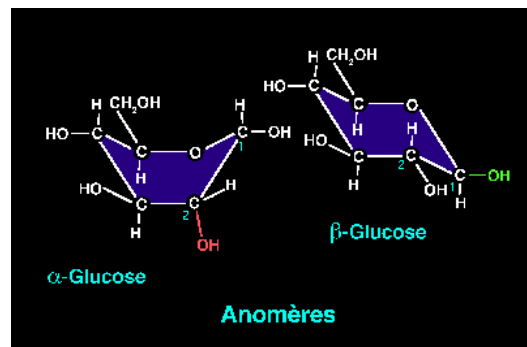
Cette enzyme catalyse l'oxydation du D-glucose $C_6H_{12}O_6$ par l'oxygène dissous en peroxyde d'hydrogène et D-glucono-1,5-lactone $C_6H_{10}O_6$. Le bilan est un transfert de 2 électrons et de 2 protons d'une molécule de glucose à une molécule de O_2 . La gluconolactone s'hydrolyse ensuite spontanément en acide gluconique $C_6H_{12}O_7$. Le bilan global est l'équation (9) [1] :



La GOD catalyse spécifiquement l'oxydation du D-glucose, l'isomère optique dextrogyre de la molécule de glucose (figure 7-a). Par contre, elle est capable de catalyser l'oxydation des deux anomères du D-glucose, le α -D-glucose et le β -D-glucose, qui diffèrent par la position d'un groupement hydroxyle $-OH$ en-dessous (conformation bateau) ou au-dessus (conformation chaise) du plan de la molécule (figure 7-b) [53].



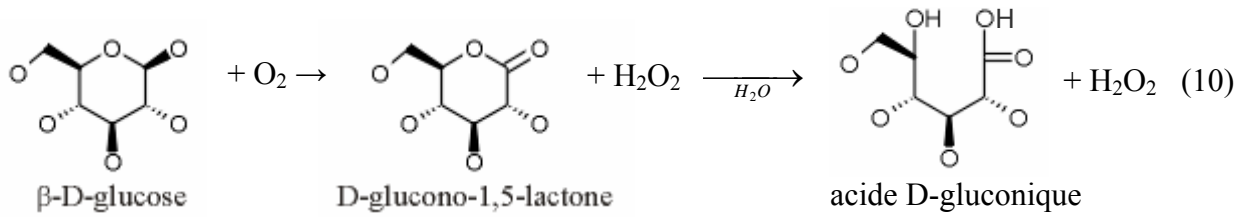
a- Isomères optiques du glucose



b- Anomères du glucose

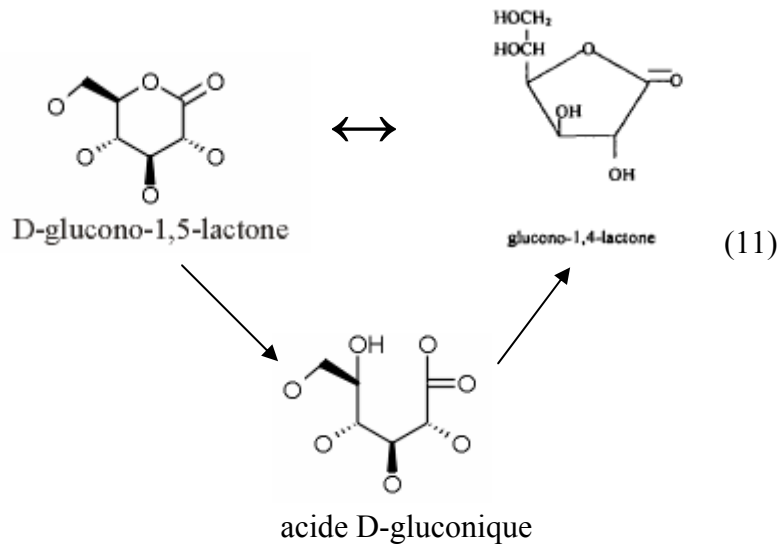
Figure 7 : les différents isomères du glucose

En représentation de Cram, dans le cas du β -D-glucose, la réaction peut s'écrire suivant l'équation (10), aboutissant à l'acide gluconique :



L'oxydation du groupement hydroxyle se fait sur le carbone n°1, dans le cas d'une catalyse par la GOD. Le produit obtenu est alors l'acide D-gluconique. Dans d'autres cas, l'oxydation peut porter sur l'hydroxyle de l'atome de carbone n°6, le produit de l'oxydation est alors l'acide glucuronique.

L'oxydation du D-glucose donne dans un premier temps la D-glucono-1,5-lactone, qui s'autohydrolyse spontanément en acide gluconique, lequel peut générer de la D-glucono-1,4-lactone, selon l'équilibre (11) [54].



La vitesse de l'hydrolyse de la gluconolactone en acide gluconique dépend du pH. La réaction est assez lente à pH 3. A pH 8 la demi-vie de la gluconolactone est d'environ 10 minutes. Aux échelles de temps considérées (plusieurs heures, voire plusieurs jours), l'acide gluconique sera considéré comme majoritaire.

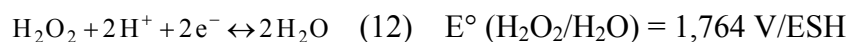
La GOD est active dans une large gamme de températures allant de 20 à 60°C, avec une température optimale comprise entre 30 et 40°C. Elle est active dans une large gamme de pH, est peu influencée par des variations de pH dans la plage 4,5 - 8, et son pH optimal est d'environ 5,5.

Globalement, la GOD catalyse la réaction de formation de H₂O₂ et d'acide gluconique. La GOD n'a pour l'instant jamais été détectée à l'intérieur de biofilms naturels, mais les techniques à mettre en œuvre pour extraire cette enzyme sont complexes. Le substrat de la GOD, le glucose, a été trouvé dans des biofilms en eau de mer naturelle [55-57].

b) Le peroxyde d'hydrogène

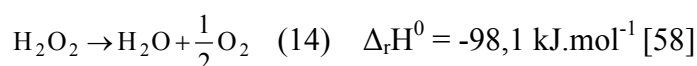
Le peroxyde d'hydrogène, aussi connu sous le nom d'eau oxygénée, a pour formule brute H₂O₂ et contient la fonction peroxyde -O-O-. Il est utilisé couramment comme désinfectant. Il est aussi synthétisé et employé comme bactéricide par de nombreux champignons, ainsi que

certaines cellules immunitaires. Il a un fort pouvoir oxydant au sein du couple redox $\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, de potentiel redox standard $E^\circ = 1,764 \text{ V}$, et est aussi réducteur au sein du couple redox $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}_2$, de potentiel redox standard $E^\circ = 0,695 \text{ V}$. Les deux demi-équations électroniques correspondantes (12) et (13) sont les suivantes :

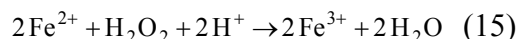


H_2O_2 est un intermédiaire de réaction lors de la réduction en deux étapes bi-électroniques du dioxygène.

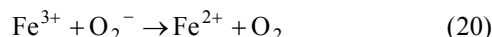
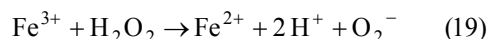
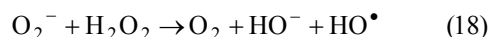
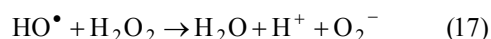
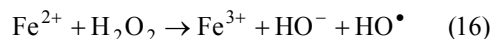
Le peroxyde d'hydrogène est soluble dans l'eau, mais est instable et peut se dismuter en eau et en dioxygène selon l'équation (14) :



Cette réaction de dismutation est accélérée par la présence de catalyseurs en solution. La plupart des métaux, et en particulier le fer, le cuivre, le nickel, le chrome, le molybdène et le zinc, catalyse la décomposition de H_2O_2 . Dans le cas d'une catalyse par le fer, l'équation (15) s'appelle réaction de Fenton [59-61] :



Le mécanisme de cette réaction est détaillé dans les équations (16-20). Les intermédiaires réactionnels sont le radical hydroxyle HO^\bullet et O_2^- [61-63] :



Ainsi, la décomposition de H_2O_2 est catalysée par la présence d'une surface d'acier inoxydable dans la solution. Des travaux ont montré qu'en présence d'un acier inoxydable AISI 316L, la vitesse de décomposition de H_2O_2 peut s'écrire sous la forme (21) [64] :

$$\frac{d[\text{H}_2\text{O}_2]}{dt} = [\text{H}_2\text{O}_2]_0 \cdot \exp(-k t) \quad (21)$$

où $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ est la concentration initiale en peroxyde d'hydrogène.

Cette cinétique dépend fortement du pH et de la température. La vitesse de décomposition atteint un maximum pour un pH d'environ 3,5 [58]. Certains anions ont un effet sur la réaction de Fenton, en particulier les ions sulfates accélèrent la décomposition de H_2O_2 en présence de Fe^{2+} [65].

L'auto-décomposition du peroxyde d'hydrogène est aussi catalysée par les ions halogénures [58], ainsi que par l'enzyme catalase.

Les solutions commerciales de peroxyde d'hydrogène contiennent des stabilisants afin d'augmenter la durée de vie du produit.

Du peroxyde d'hydrogène a été trouvé dans des biofilms obtenus en eau de mer naturelle [2, 17, 66, 67]. Des concentrations pouvant atteindre 10 mg/L ont été mesurées par certains auteurs [3, 68]. Des expériences réalisées sur des échantillons d'acier inoxydable AISI 316L ont montré que la saison d'immersion semble avoir une influence sur la concentration en H_2O_2 au sein du biofilm. Les concentrations en H_2O_2 n'atteignent que 2 mg/L en hiver, alors qu'en été elles sont supérieures à 10 mg/L. De plus, le potentiel de corrosion libre des échantillons semble varier proportionnellement avec $[H_2O_2]$ (figure 8) [66].

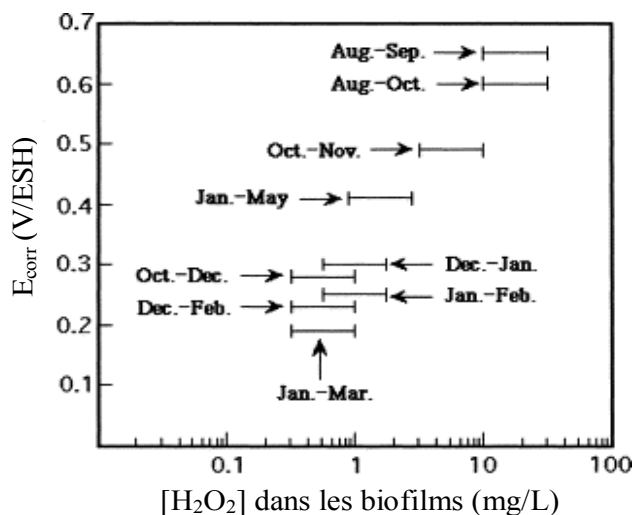


Figure 8 : évolution du potentiel de corrosion libre et de la concentration en H_2O_2 pour des échantillons d'acier 316L recouverts d'un biofilm en eau de mer naturelle [66]

Peu de mesures de H_2O_2 ont été effectuées dans des biofilms obtenus sur des aciers inoxydables immergés en eaux douces. Le peroxyde d'hydrogène a été trouvé à des concentrations de plusieurs centaines de nmol/L dans des eaux de lac. [69]

c) Acide gluconique

L'acide gluconique est un acide organique de formule brute $C_6H_{12}O_7$ et de formule semi-développée $CH_2OH-(CHOH)_4-COOH$. Il est le produit de l'oxydation du glucose par le dioxygène en présence de GOD. C'est un acide faible ayant un pK_a de 3,6 à 25°C.

La formation de H_2O_2 et d'acide gluconique, catalysée par des oxydases au sein du biofilm, engendre une diminution du pH. Des pH acides ont été relevés à l'intérieur de biofilms formés en eaux naturelles [70].

d) Influence de la glucose-oxydase et de H_2O_2 sur les réactions électrochimiques

H_2O_2 est un oxydant puissant, qui peut être réduit au niveau des sites cathodiques. H_2O_2 est même plus facilement réductible que l'oxygène [2] :

$$E^\circ(H_2O_2/H_2O) = 1,776V > E^\circ(O_2/H_2O) = 1,229V$$

H_2O_2 sera réduit avant O_2 . La réduction du peroxyde d'hydrogène peut expliquer l'augmentation du courant cathodique à des potentiels proches du potentiel de corrosion libre, entraînant l'augmentation de E_{corr} . La présence de H_2O_2 en solution entraîne une augmentation du potentiel d'abandon des aciers inoxydables [71, 72].

Par ailleurs, H_2O_2 est un intermédiaire de la réduction de O_2 lorsque le mécanisme se fait en deux étapes bi-électroniques. La cinétique de ces étapes pourrait être affectée par la production de H_2O_2 . La cinétique de la réduction de O_2 pourrait être modifiée en présence de la glucose-oxydase et de son substrat.

La modification des processus cathodiques en présence de la GOD et du glucose provient principalement de la formation du peroxyde d'hydrogène, toutefois l'acide gluconique formé simultanément semble aussi jouer un rôle non négligeable. Les pH acides obtenus peuvent modifier les surtensions des réactions cathodiques et déplacer les potentiels d'apparition des plateaux de diffusion. De plus, il a été montré que l'acide gluconique active la surface de l'échantillon : le nombre d'électrons disponibles à proximité de la surface, susceptibles de participer aux réductions de O_2 , de H_2O_2 et d'éventuels autres oxydants, est plus élevé lorsque l'acide gluconique est présent en solution [73].

Actuellement, de nombreux chercheurs pensent que le peroxyde d'hydrogène est le facteur essentiel expliquant l'augmentation du potentiel de corrosion libre des aciers inoxydables constatée en eau de mer naturelle [66, 74]. Il a été démontré que la présence de H_2O_2 entraîne une augmentation de E_{corr} de plus de 300 mV. Le potentiel de corrosion libre d'échantillons de 316L immergés en eau de mer naturelle est proportionnel à la concentration en H_2O_2 dans le biofilm (figure 8) [66].

L'addition d'acide gluconique dans une solution de NaCl génère aussi une augmentation de E_{corr} , a priori due à un simple effet pH sur le potentiel. L'ajout de H_2O_2 seul ou d'acide gluconique seul fait augmenter le potentiel libre de corrosion, mais les valeurs finales atteintes sont inférieures à celles obtenues en eau de mer naturelle. Il semble que la présence des deux composés soit nécessaire pour reproduire convenablement l'augmentation de E_{corr} . La réduction de H_2O_2 ne pourrait expliquer totalement l'augmentation de E_{corr} que lorsque le pH est suffisamment faible [1, 3, 75-77]. Il faut un pH faible (aux environs de 3) et une concentration de H_2O_2 de l'ordre de la mmol/L pour obtenir une augmentation de E_{corr} égale à celle obtenue en eau naturelle [2, 78].

L'ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose dans une eau de mer artificielle contenant 35 g/L de NaCl donne la même augmentation du potentiel libre de corrosion et le même comportement à la corrosion par effet de crevasse qu'en eau de mer naturelle (pour rappel, une unité est la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation de 1 μ mol de substrat par minute). Cette composition a été retenue pour formuler une norme d'eau de mer artificielle simulant l'effet électrochimique des microorganismes aérobies [73, 79, 80].

Des expériences ont été menées pour adapter ce modèle enzymatique au cas de l'augmentation du potentiel libre de corrosion dans les eaux douces. L'introduction de GOD et de glucose dans une eau contenant 1000 ppm de Cl^- , 500 ppm de SO_4^{2-} et 500 ppm de NO_3^- fait passer E_{corr} de -200 à +200 mV/ECS. Le modèle enzymatique des oxydases semble reproduire assez fidèlement l'augmentation de E_{corr} en eau peu chlorurée, du moins sur des temps d'immersion courts [81].

e) Influence de la glucose-oxydase et de H_2O_2 sur la couche passive

Une caractérisation chimique par XPS des films passifs formés sur des échantillons d'acier inoxydable 254SMO immergés en eau de mer artificielle a montré que la présence en solution de la GOD et du glucose, de H_2O_2 et/ou de l'acide gluconique modifie fortement les propriétés des couches d'oxydes. H_2O_2 favorise un enrichissement en fer au détriment du chrome alors qu'à l'inverse, l'acide gluconique favorise un enrichissement en chrome au détriment du fer au sein du film passif. En présence des réactifs enzymatiques (GOD et

glucose), la couche d'oxydes est plutôt enrichie en chrome. L'effet de l'acide gluconique sur la composition chimique du film passif semble l'emporter sur l'effet du peroxyde d'hydrogène. Ceci est cohérent avec l'augmentation des porteurs de charge dans le film (à proximité de l'interface avec l'électrolyte) constatée dans une solution d'acide gluconique. Toutefois, la couche passive formée en solution de H₂O₂ est plus proche en terme de composition chimique de la couche passive formée en eau de mer naturelle, où un enrichissement en fer est constaté [73].

Selon d'autres travaux, la mise en contact d'une surface d'acier inoxydable (904L) avec une solution de peroxyde d'hydrogène (3,2 mmol/L) entraîne une stratification du film d'oxydes, qui renferme alors une couche interne d'oxydes de chrome trivalent et une couche externe d'oxydes de fer trivalent. Après polissage, le fer est présent sous la forme d'oxydes de fer divalent et trivalent, alors qu'après traitement chimique par le peroxyde d'hydrogène, le fer est exclusivement trivalent. Le film passif généré en présence de H₂O₂ est très épais [17].

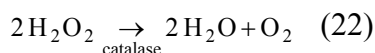
1.2.1.2 Action de la catalase et de la peroxydase

Le peroxyde d'hydrogène joue un rôle important dans les processus cathodiques lorsqu'il est présent dans le biofilm. La présence d'enzymes catalysant sa production, ainsi que de leur(s) substrat(s), modifie la densité de courant cathodique. Les enzymes catalysant la dégradation de H₂O₂ devraient donc aussi affecter le comportement électrochimique de l'échantillon.

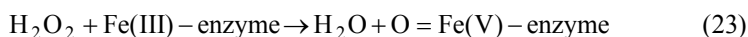
a) Catalase

La catalase, notée CAT dans cette étude, est une enzyme de la classe des oxydoréductases, de référence dans la nomenclature EC 1.11.1.6. La catalase est une des premières enzymes à avoir été décrites [82, 83]. Elle peut être isolée à partir de toutes les cellules aérobies, qu'elles soient animales, végétales, ou microorganismes. La catalase est un homotétramère pesant entre 220 et 350 kDa. Chacune des 4 sous-unités contient un hème prosthétique (ensemble constitué d'un fer(III) et de son « contour » organique appelé porphyrine) qui sert de centre actif catalytique.

Cette enzyme existe chez tous les organismes aérobies chez lesquels elle participe, comme la peroxydase, à la défense contre les dérivés toxiques de l'oxygène. La catalase catalyse en effet la réaction de dismutation de H₂O₂ en eau et en oxygène moléculaire, d'après l'équation (22) [84] :



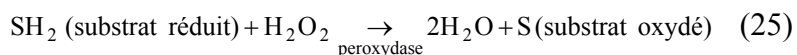
Le mécanisme de cette réaction consiste en deux étapes successives bi-électroniques (23-24): [85-87] :



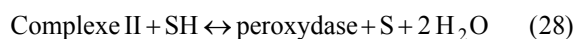
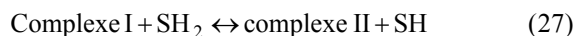
Fe(III) fait partie du hème prosthétique.

b) Peroxydase

Les peroxydases sont des enzymes oxydoréductases cataloguées génériquement sous le nom de EC 1.11.1.7. Comme la catalase, elles existent chez la plupart des organismes aérobies (cellules animales, végétales, microorganismes) et nécessitent la présence d'un hème contenant Fe(III) comme cofacteur pour être activées. Plusieurs types de peroxydases ont été trouvés, présentant une structure générale similaire mais aussi des différences non négligeables [88]. Elles catalysent la réaction de réduction de H₂O₂ en H₂O par oxydation d'un substrat réducteur, selon l'équation (25) :



Un mécanisme portant sur la peroxydase tirée de racine de radis ou de raifort (peroxydase modèle utilisée par de nombreux enzymologistes, notée HRP : horseradish peroxidase) a été proposé pour détailler cette réaction (26-28) [89] :



c) Influence de la catalase et de la peroxydase sur l'électrochimie des aciers inoxydables
Il a été montré que l'ajout de catalase ou de peroxydase dans une eau de mer naturelle ayant engendré une augmentation de E_{corr} sur des échantillons de 316L fait diminuer le potentiel d'abandon d'environ 400 mV (de +350 mV/ECS à -50 mV/ECS) [66]. Un ajout de catalase dans une solution d'eau de mer stérile contenant 100 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose ayant produit une augmentation de E_{corr} sur des échantillons d'acier 254SMO fait diminuer le potentiel jusqu'à des potentiels compris entre +30 et +50 mV/ECS [1]. La catalase, qui catalyse la dégradation de H_2O_2 sans modifier le pH, est capable d'annuler l'augmentation de E_{corr} . Ceci met bien en valeur le rôle du peroxyde d'hydrogène, responsable principale de l'accroissement du potentiel d'abandon. Il est important de préciser que la diminution de E_{corr} après ajout de catalase est très rapide, à une échelle de temps plus courte que l'évolution de la couche d'oxydes. La diminution de E_{corr} après ajout de la catalase semble donc principalement due à la forte diminution de la concentration en H_2O_2 (et très peu à l'évolution de la couche d'oxydes).

Les enzymes dégradant H_2O_2 peuvent aussi avoir une influence sur la réduction de l'oxygène, lorsque celle-ci se fait suivant le processus à deux étapes bi-électroniques, ce qui peut être le cas en eau naturelle.

Des expérimentations ont porté sur la réduction de l'oxygène sur des électrodes en carbone vitreux, en présence ou non de catalase et de peroxydase HRP [90, 91]. Une légère augmentation du courant est observée à bas potentiel (entre -500 et -300 mV/ECS) lorsque la catalase ou la peroxydase est en solution. L'explication donnée à ce phénomène est que H_2O_2 intervient comme intermédiaire de réaction. La catalase catalyse la dégradation de H_2O_2 en O_2 , qui est ainsi reformé (figure 9-a). Ce nouvel apport d'oxygène induit une augmentation du courant cathodique de la réaction (3). La peroxydase est capable de catalyser la réduction de H_2O_2 en H_2O , que ce soit en solution à proximité de la surface du matériau ou bien par un transfert direct d'électron du métal à la protéine adsorbée (figure 9-b) [92]. Les deux enzymes en solution catalysent la réduction de l'oxygène en amplifiant une des deux étapes du mécanisme de réduction. Lorsque les enzymes sont adsorbées à la surface de l'électrode (à l'aide de diméthylsulfoxyde $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$), le courant de réduction mesuré est très élevé aux alentours de -100 mV/ECS. Il est démontré que ce courant ne peut provenir d'un mécanisme enzymatique classique en solution, et que la seule explication plausible est un transfert direct d'électrons de la surface de l'électrode à l'enzyme adsorbée. L'activité catalytique de l'enzyme se fait donc directement au niveau de la surface du matériau (figure 9).

D'autres travaux ont montré qu'un transfert électronique pouvait avoir lieu directement entre une électrode et une molécule de HRP adsorbée [93-95].

La catalase et la peroxydase sont capables sur certains types d'électrodes d'augmenter le courant cathodique correspondant à la réduction de l'oxygène.

A titre de remarque, d'autres enzymes peuvent s'adsorber sur la surface d'un matériau et catalyser les processus cathodiques. En particulier, un transfert électronique direct peut se faire depuis une électrode en acier inoxydable et une hydrogénase, conduisant à une augmentation du courant cathodique et du potentiel de corrosion libre [96-98].

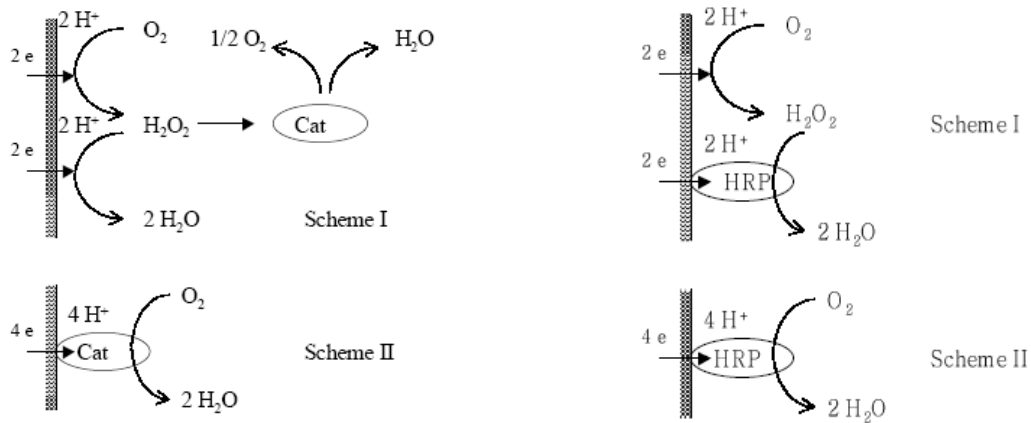


Figure 9 : mécanisme enzymatique de l'action de la catalase et de la peroxydase (HRP) sur la réduction de l'oxygène [91]

1.2.1.3 Synthèse

L'action conjuguée du peroxyde d'hydrogène (produit soit par les microorganismes du biofilm grâce à leurs oxydases, soit par la réduction à deux étapes de l'oxygène sur le métal) et d'un pH acide semble être en mesure d'expliquer l'augmentation du potentiel d'abandon constatée systématiquement sur les aciers inoxydables exposés aux eaux naturelles.

Une oxydase modèle, la glucose-oxydase (GOD), permet de retrouver en laboratoire ces conditions de pH et de $[H_2O_2]$. La pertinence de ce modèle a été validée pour les eaux de mer, toutefois, l'action de l'enzyme peut différer en eau moins chlorurée.

Des premiers essais d'adaptation ont été effectués et semblent aller dans la direction d'une validation du modèle de la GOD en eau douce.

Les enzymes catalysant la dégradation de H_2O_2 induisent une diminution du potentiel de corrosion libre. La valeur de E_{corr} est donc fixée par la compétition enzymatique entre d'une part les enzymes catalysant la production de H_2O_2 (oxydases, par exemple GOD), et d'autre part les enzymes dégradant le peroxyde d'hydrogène (catalase, peroxydase).

Le modèle enzymatique est explicité dans le schéma de la figure 10.

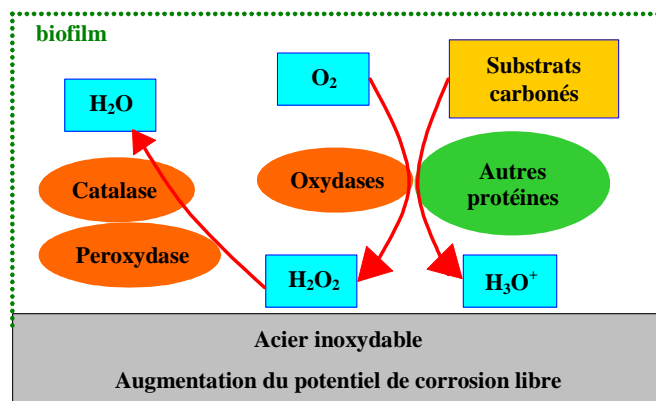


Figure 10 : représentation du modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase » (d'après [76])

1.2.2 Biominéralisation

Les microorganismes capables de former un précipité à la surface d'un acier inoxydable ou de solubiliser un élément entrant dans la composition du film passif jouent un rôle important dans la biocorrosion des aciers inoxydables en eaux douces. La formation et la dissolution de dépôts minéraux à la surface de l'acier inoxydable influencent son comportement électrochimique et modifient sa résistance à la corrosion localisée.

1.2.2.1 Biodéposition des oxydes de Mn

Un des mécanismes fréquemment cités pour expliquer de nombreux cas de corrosion microbienne en eaux douces est lié à la présence de micro-organismes capables de précipiter des oxydes de manganèse sur la surface d'un substrat présent dans leur milieu. De nombreux microorganismes sont capables d'oxyder les ions Mn^{2+} et de former des précipités contenant des oxy-hydroxydes de Mn (III, IV). La formation des oxydes de manganèse, qui sont parmi les plus puissants oxydants trouvés en eaux naturelles, à la surface d'un échantillon d'acier inoxydable peut avoir une influence sur son comportement vis-à-vis de la corrosion. En effet, de nombreux cas de dégradation de pièces en acier inoxydable sous l'action néfaste de microorganismes mangano-oxydants ont été répertoriés (cf. tableau 1).

a) Nature des microorganismes mangano-oxydants

Les Micro-Organismes Mangano-Oxydants (MOMO) sont des microorganismes aérobies capables d'accélérer considérablement la vitesse d'oxydation et de déposition de Mn. Ce sont principalement des bactéries et des champignons (ainsi que certaines algues et certains protozoaires). Les MOMO sont ubiquitaires dans la nature et sont trouvés dans de nombreux environnements : sols, sédiments, eaux douces, eau de rivière...[99]

Des champignons producteurs d'oxydes de Mn ont été trouvés en eaux douces et en eau de mer. Des analyses biomoléculaires ont montré que ces champignons font partie du groupe des ascomycètes [100].

Les bactéries Mn(II)-oxydantes sont nombreuses dans la nature et présentent une grande diversité phylogénique, illustrée par la variété des cas les plus étudiés : le *Bacillus* SG-1 (Gram+, forme un spore), les souches MnB1 et GB-1 de *Pseudomonas putida*, et la souche SS-1 de *Leptothrix discophora* (bactérie filamenteuse munie d'une gaine protectrice), cette dernière étant la plus retrouvée dans les cas de biocorrosion par les MOMO mentionnés dans

la littérature. D'autres genres classiques de bactéries mangano-oxydantes se développant en eaux naturelles sont *Siderocapsa*, *Gallionella*, *Sphaerotilus*, *Crenothrix* et *Clonothrix* [101-103]. La diversité phylogénique va de paire avec une importante diversité physiologique. Ces bactéries sont retrouvées dans de nombreux environnements : canalisations d'eau, eau de mer, eaux douces, sédiments [100]... Toutes les bactéries Mn(II)-oxydantes sont capables de réaliser l'oxydation du Mn à l'état d'oxydation +II aux pH proches de la neutralité (entre 6 et 8) [99]. *Leptothrix discophora* peut procéder à l'oxydation du Mn(II) lorsque le pH est compris entre 6 et 8,5, lorsque la température est comprise entre 10 et 40°C, lorsque la concentration en oxygène dissous est comprise entre 0 et 8,05 mg/L. Les conditions optimales de l'oxydation du manganèse par *Leptothrix discophora* sont un pH de 7,8 et une température de 30°C [20].

Les MOMOs sont capables de réaliser la biooxydation de Mn(II) à partir de très faibles concentrations. Ainsi, des spores de la souche SG-1 de la bactérie marine *Bacillus* peuvent produire des oxy-hydroxydes de Mn(III,IV) à partir de concentrations aussi faibles que 1 nM de Mn(II) en laboratoire [104]. Des dépôts d'oxydes de Mn peuvent être formés en eaux naturelles avec des taux de Mn(II) en solution de 10-20 ppb [25]. Les vitesses de déposition des oxydes de manganèse peuvent atteindre des valeurs d'environ $1 \text{ mC.cm}^{-2}.\text{j}^{-1}$ sur les aciers inoxydables [50].

Il est intéressant de noter que la plupart des microorganismes oxydant Mn(II) sont aussi capables d'oxyder le fer(II) en fer(III) et de former des dépôts d'oxydes ferriques. Par exemple, *Gallionella* et *Leptothrix* sont capables de biodéposer des oxydes de fer [101]. Les dépôts d'oxydes trouvés sur des échantillons d'acier inoxydable immergés en eaux naturelles sont d'ailleurs la plupart du temps des mélanges d'oxydes de Mn et de Fe.

b) Mécanismes de l'oxydation de Mn(II)

➤ Mécanisme de la réaction électrochimique

Le manganèse existe dans la nature aux degrés d'oxydation + II, + III et + IV. Comme un même composé peut contenir plusieurs atomes de manganèse ayant des nombres d'oxydation différents, la minéralogie des oxydes, des hydroxydes et oxy-hydroxydes de manganèse est complexe. Il existe en effet plus de 30 formes d'oxydes, d'hydroxydes et d'oxy-hydroxydes de Mn (III,IV) (qui seront par la suite appelés de façon générique oxydes de manganèse, pour simplifier). La plupart ont une structure cristalline [99, 105]. Par conséquent, les produits de la biooxydation des ions Mn^{2+} peuvent être des phases mixtes assez complexes.

Dans les conditions de l'étude, les espèces principales à considérer sont l'ion soluble Mn^{2+} (+II) et les formes oxydées insolubles Mn_3O_4 (+2.66), Mn_2O_3 (+III), MnOOH (+III) et MnO_2 (+IV).

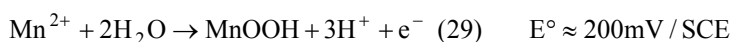
Généralement, le produit de l'oxydation de Mn(II) est la forme minérale la plus stable prévue thermodynamiquement à partir des valeurs de potentiels d'oxydo-réduction, de pH et de concentration en Mn(II) dans le milieu. Toutefois, il peut arriver que du Mn(IV) soit déposé à des valeurs de pH et de concentration en Mn(II) où les composés de nombre d'oxydation plus faible (Mn_3O_4 , MnOOH) sont thermodynamiquement plus stables [99].

La catalyse de l'oxydation-précipitation du manganèse par des microorganismes peut être directe ou indirecte. Dans le cas d'une catalyse indirecte, les microorganismes génèrent de par leur métabolisme des modifications dans la physico-chimie du milieu qui vont accélérer la réaction abiotique de déposition des oxydes de Mn. Par exemple, des changements locaux du

potentiel rédox et du pH de la solution autour de la cellule peuvent accélérer la déposition des oxydes de manganèse. La catalyse directe relève d'un processus enzymatique ou cellulaire.

La littérature donne deux processus différents pour le mécanisme de la réaction de biooxydation du Mn(II). Certains auteurs démontrent expérimentalement que des microorganismes peuvent oxyder le Mn(II) en Mn(IV) directement, sans passer par un intermédiaire ayant un état d'oxydation intermédiaire [106]. Cette oxydation directe à deux électrons est confirmée par certaines analyses chimiques réalisées sur des dépôts de Mn prélevés en milieu naturel (sédiments de lac, eaux douces de surface) : seuls des composés contenant Mn(IV) sont détectés [107, 108]. D'autres auteurs affirment que le processus global se décompose en deux étapes : oxydation à 1 électron de Mn(II) en Mn(III), puis oxydation à 1 électron de Mn(III) en Mn(IV). Des résultats expérimentaux montrent que dans certaines conditions Mn(III) est un intermédiaire (instable) durant l'oxydation [109]. La présence de cet intermédiaire de réaction implique que l'oxydation globale du Mn(II) en Mn(IV) ait lieu en deux étapes successives mettant chacune en jeu le transfert d'un électron. L'étape limitante serait l'oxydation du Mn(II) en Mn(III) [109]. Globalement, la concentration en Mn(II) paraît avoir une incidence sur le nombre d'oxydation moyen des composés minéraux précipités : une concentration plutôt faible en Mn^{2+} donne des composés riches en Mn(IV), alors qu'une forte concentration en Mn^{2+} favorise la production de Mn_3O_4 et de $MnOOH$ [110].

D'après les derniers développements de la littérature, il semblerait que le processus à deux étapes soit reconnu comme le mécanisme principal. Ainsi, l'oxydation de Mn(II) en Mn(IV) passerait bien par la formation d'un intermédiaire Mn(III) instable, soluble ou complexé avec une enzyme [111]. Le mécanisme suivant (29-30) décrivant la biooxydation de Mn^{2+} par les MOMO a été proposé [51]:



L'intermédiaire contenant Mn(III) est $MnOOH$ déposé à la surface du métal.

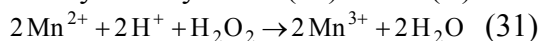
Les composés contenant du Mn(IV) majoritairement formés sont la vernadite MnO_2 de structure amorphe et la birnessite, hydroxyde de formule $Na_{0,3}Ca_{0,1}K_{0,1}Mn^{4+}Mn^{3+}O_4 \cdot 1,5(H_2O)$ (*Leptothrix*, spores de *Bacillus*) [102]. Toutefois, des composés contenant Mn à un degré d'oxydation moindre sont souvent présents. Entre autres, la birnessite a tendance à recristalliser en haussmannite octaédrique Mn_3O_4 en présence de *Bacillus*.

➤ Catalyse enzymatique

Que ce soit pour les bactéries ou les champignons, le mécanisme de la biooxydation de Mn(II) semble être enzymatique. En effet, des études portant sur l'oxydation de Mn^{2+} par les bactéries précédemment citées et sur la souche KR21-2 ascomycète [112] ont montré que les gènes codant pour certaines enzymes ont un impact énorme sur l'oxydation. En particulier, des enzymes de type oxydase, présentant plusieurs sites actifs contenant des atomes de Cu avec différents environnements atomiques, appelées oxydases multi-cuivre, joueraient le rôle de catalyseur de la réaction [109].

Parmi ces enzymes, deux sont plus particulièrement connues.

- La Mn peroxydase est une enzyme H_2O_2 -dépendante. En présence de peroxyde d'hydrogène, elle catalyse l'oxydation (31) de Mn(II) en Mn(III) :



qui est l'étape limitante du mécanisme d'oxydation de Mn(II) en Mn(IV). Le pH optimal de cette catalyse enzymatique est de 5 [113, 114].

- Les laccases sont des oxydases multi-cuivre produites par certains champignons et plantes, capables de catalyser l'oxydation de Mn(II) en Mn(III) [115-116].

Ainsi, certaines enzymes de la famille des oxydases multi-cuivre catalysent la réaction d'oxydation mono-électronique de Mn^{2+} en Mn(III), et catalysent donc la réaction globale d'oxydation à 2 électrons de Mn^{2+} en Mn(IV).

c) Oxydes de manganèse et corrosion

➤ Cas de dégradation d'aciers inoxydables en présence de microorganismes mangano-oxydants

De nombreux cas de détérioration d'éléments en acier inoxydable ont été relevés en présence de bactéries mangano-oxydantes, dans un électrolyte où la faible teneur en chlorures laissait présager une absence de corrosion (tableau 1).

Réf.	Date	[Cl ⁻]	Matériau	Bactéries présentes	E _{corr} (mV/ECS)	Observations
[117]	1976	200 ppm	AISI 304L, AISI 316L	Bactéries du fer, bactéries du manganèse		Dépôt rouge-brun
[118]	1991	3 ppm	AISI 304			Dépôt microbien contenant du Mn
[119]	1994		AISI 304			Dépôt rouge-brun contenant Fe et Mn
[120-121]	1994	170 mg/L	Fe-13Cr-4Ni	Bactéries du manganèse		Dépôt de MnO ₂ et de MnOOH
[25, 50]	1996	3 ppm (rivière)	316L	Bactéries mangano- et ferro-oxydantes (<i>Siderocapsa</i>)	+350	Dépôts annulaires brun orangé contenant MnO ₂ et du Fe(III)
[122]	2002	3 ppm (rivière)	316L		+365	Mélange de Fe ₂ O ₃ , de Fe ₃ O ₄ , de Mn ₃ O ₄ , de MnOOH et de Mn ₂ O ₃
[123]	2002	453 mg/L	316L	Bactéries mangano-oxydantes type <i>Leptothrix</i> , BSR, bactéries sulfuro-oxydantes, bactéries productrices d'un dépôt visqueux.	Pas d'augmentation	Les bactéries ont déposé du MnO ₂ amorphe et des hydroxydes.
[36]	2003	< 200 ppm	304, 316L (soudures uniquement)	Bactéries ferro- et mangano-oxydantes	300-470	Dépôts contenant Fe et Mn
[23]	2004	400 ppm (rivière)	304L	Bactéries ferro- et mangano-oxydantes	+250	Dépôt rouge-brun contenant des oxyhydroxydes de Fe et de Mn
[124]	2006	65-68 mg/L	304, 316 (soudure)	Bactéries mangano-oxydantes engainées	320-340	Dépôt noir/brun de MnO ₂

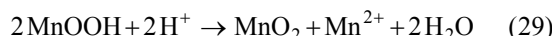
Tableau 1 : cas de corrosion microbienne d'aciers inoxydables en eaux peu chlorurées, attribués à la présence de microorganismes mangano-oxydants (les cases blanches correspondent à des données non communiquées) [266]

➤ Mécanismes de corrosion en présence de MOMO

Les microorganismes disposent de deux moyens principaux pour créer des conditions favorables à une forte augmentation de la corrosion de l'acier inoxydable.

- La zone immédiatement sous le dépôt d'oxydes de Mn est une zone confinée, présentant des conditions favorables au développement de la corrosion par effet de crevasse. Cet effet de stabilisation de la corrosion par piqûre empêche ou ralentit la repassivation des piqûres métastables. Il est parfois appelé « super-crevasse » [125] et est encore plus important si le dépôt présente une sélectivité spécifique par rapport aux anions [126]. Par ailleurs, suite à un appauvrissement en oxygène (par exemple par la respiration des microorganismes aérobies), ce confinement peut bloquer l'accès au dioxygène et créer une cellule d'aération différentielle. La zone appauvrie en O₂, située sous le dépôt d'oxydes, sera le siège d'une corrosion dite « sous dépôt » [127, 128]. Cette forme de corrosion microbienne est retrouvée pour tous les microorganismes formant un dépôt à la surface des matériaux (et en particulier avec les bactéries ferro-oxydantes bioprécipitant des dépôts d'oxydes de fer [125]).
- Le couple redox Mn(II)/Mn(IV) mis en jeu lors de la formation du dépôts d'oxydes de manganèse peut modifier la valeur du potentiel de corrosion libre du substrat et ainsi augmenter la probabilité de corrosion par piqûres de l'acier inoxydable [129].

MnO₂ est un fort oxydant en contact électrique avec le substrat d'acier inoxydable. Il peut être réduit en deux étapes mono-électroniques successives au niveau des sites cathodiques [130-131] :



La réaction globale de réduction de MnO₂ peut s'écrire selon l'équation (32) :



Le potentiel redox standard de cette réaction est 1,23 V/ESH. D'après l'équation de Nernst appliquée à cette réaction :

$$E = E^\circ + 0,03 \log \frac{a(\text{MnO}_2) \cdot h^4}{a(\text{Mn}^{2+})} = 1,23 - 0,03 \log [\text{Mn}^{2+}] - 0,12 \text{ pH}$$

le potentiel redox diminue fortement quand le pH augmente :

$$\frac{dE}{dpH} = -120 \text{ mV}$$

Dans une eau naturelle ayant un pH de 7,8 et une concentration massique en Mn²⁺ de 0,01 mg/L (0,18 μmol.L⁻¹), le potentiel redox de MnO₂ est d'environ 495 mV/ESH.

Les phénomènes mis en jeu au niveau de la surface sont représentés dans le schéma de la figure 11.

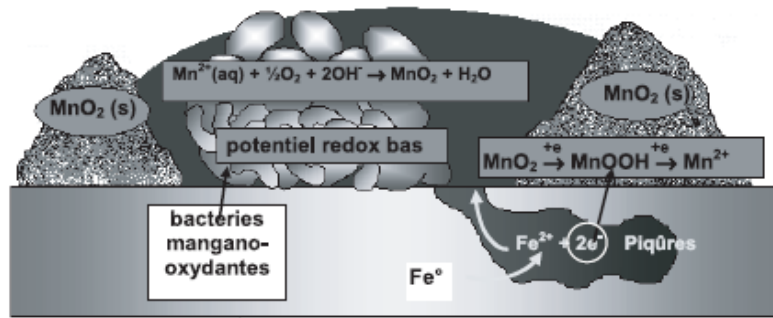
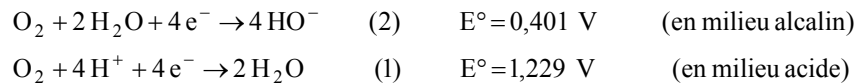


Figure 11 : biodéposition et réduction électrochimique des oxydes de manganèse à la surface d'un acier inoxydable (d'après [132] repris par [133])

La production de MnO_2 par les microorganismes manganooxydants implique la présence d'un nouvel oxydant disponible à la surface de l'acier inoxydable. Cet oxydant peut être réduit, et cette réduction va entrer en compétition avec la réaction de réduction « classique » qui a lieu à la cathode, à savoir, en eau aérée, la réduction directe à 4 électrons de l'oxygène : [134]



D'après l'équation de Nernst appliquée à la réaction de réduction du dioxygène en milieu alcalin :

$$E = E^\circ + 0,015 \log \frac{a(O_2)}{a(HO^-)^4}$$

$$\Rightarrow E = 0,401 + 0,015 \log p(O_2) - 0,06 \log [HO^-]$$

$$\Rightarrow E = 1,24 + 0,015 \log p(O_2) - 0,06 pH$$

le potentiel diminue avec le pH :

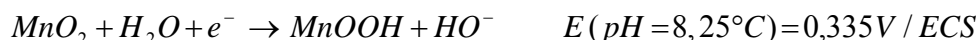
$$\frac{dE}{dpH} = -60 mV.$$

Avec un pH de 7,8 et une pression partielle en O_2 de $2 \cdot 10^4$ Pa, le potentiel redox est d'environ 835 mV/ESH.

Dans des conditions de pH, de pression partielle en O_2 et de concentration en Mn^{2+} typiques des eaux douces, le dioxygène dissous est a priori un meilleur oxydant que MnO_2 . D'après la thermodynamique, la réduction de MnO_2 devrait être quantitativement négligeable devant la réduction de O_2 et contribuer très peu à la réduction à la cathode.

Toutefois, la réduction de O_2 est très limitée par sa cinétique. En effet, de fortes surtensions cathodiques sont trouvées pour la réduction de O_2 sur des surfaces d'acier inoxydable en milieu aqueux. Les potentiels redox trouvés sont généralement bien inférieurs aux valeurs prévues par la thermodynamique : en eau naturelle, lorsque O_2 est l'oxydant prépondérant (absence d'un dépôt oxydant tel que MnO_2 , absence de H_2O_2 , en début d'immersion par exemple), les potentiels de corrosion libre des échantillons d'acier inoxydable ne dépassent pas 0 V/ECS, soit 245 mV/ESH. MnO_2 est alors un meilleur oxydant que le dioxygène. De plus, MnO_2 n'est pas limité par les diffusions successives au sein de l'électrolyte puis du biofilm, contrairement à O_2 [130]. De surcroît, les ions Mn^{2+} formés à la cathode migrent dans l'électrolyte et peuvent aussitôt être réoxydés par les MOMO. Un cycle du manganèse peut ainsi voir le jour à l'interface métal/biofilm/électrolyte, ce qui fournit aux zones cathodiques

un matériau oxydant constamment renouvelé (figure 12) [51, 122]. La valeur du potentiel de corrosion libre serait fixée par l'équation :



ce qui expliquerait pourquoi la concentration en Mn^{2+} ne semble pas influencer sur l'augmentation du potentiel de corrosion libre [25].

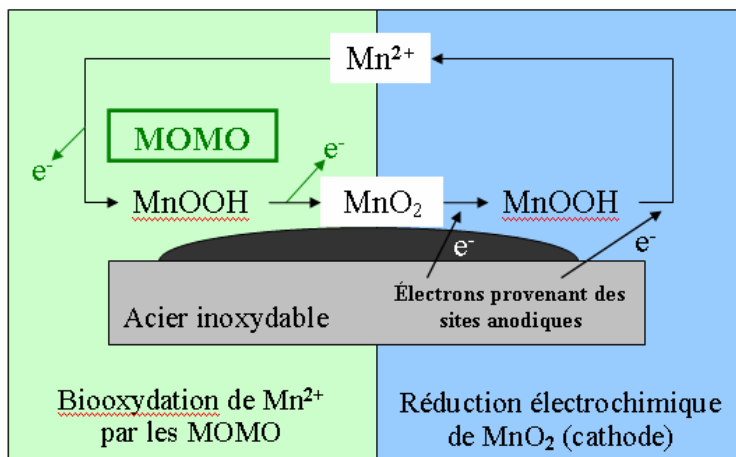


Figure 12 : représentation du mécanisme lié aux MOMOs expliquant l'augmentation de E_{corr}

Dans des conditions d'immersion en eaux douces, un dépôt de MnO_2 biominéralisé par des MOMO peut s'avérer être un meilleur oxydant que le dioxygène. Par conséquent, la réduction de MnO_2 en Mn^{2+} a lieu à la cathode. La valeur du potentiel redox de MnO_2 étant supérieure aux valeurs du potentiel de corrosion libre de l'acier inoxydable, ce dernier va augmenter de plusieurs centaines de mV. Cette augmentation est comparable à celle observée lors des immersions en eaux naturelles. Elle représente un danger pour l'intégrité du métal : si le potentiel de corrosion libre dépasse la valeur critique du potentiel de piqûre, la corrosion par piqûres sera stable et des piqûres se développeront au sein du matériau.

d) Validation en laboratoire

Des études ont été menées en laboratoire pour confirmer l'effet de la déposition d'oxydes de Mn à la surface d'échantillons d'acier inoxydable sur le potentiel de corrosion libre.

Il a été montré qu'un échantillon d'acier inoxydable recouvert sur une très faible fraction de sa surface par un dépôt artificiel de MnO_2 a le même comportement électrochimique (E_{corr} compris entre +350 et +370 mV/ECS, courbe intensité-potential identique) qu'un coupon immergé en eau douce naturelle (figure 4). Un taux de recouvrement de la surface par MnO_2 de quelques pourcents (de 1% [135] à 6% [25]) est suffisant pour avoir une augmentation de E_{corr} similaire à l'immersion en eau douce naturelle.

Des travaux récents ont montré que le potentiel de corrosion libre d'échantillons d'aciers inoxydables (304, 316L) exposés à des cultures pures de *Leptothrix discophora* augmente fortement [136], pouvant atteindre une valeur stationnaire d'environ 410 mV/ECS [131]. L'analyse XPS des dépôts présents à la surface des coupons a détecté principalement MnO_2 et MnOOH [131].

Il a par ailleurs été montré par XPS que l'épaisseur du film passif d'un échantillon d'acier 316L exposé à une culture pure de *Leptothrix discophora* est plus faible après l'augmentation du potentiel de corrosion libre. Cette diminution de l'épaisseur de la couche d'oxydes protectrice peut contribuer à la susceptibilité à la corrosion localisée de l'alliage [137].

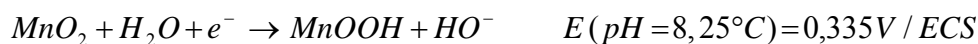
La réduction de l'oxygène semble aussi être modifiée par la présence d'un dépôt d'oxydes de Mn. Des études ont montré que le courant cathodique de réduction de O₂ est plus élevé sur un acier inoxydable recouvert d'un dépôt d'oxydes de Mn biominéralisé que sur le même acier inoxydable nu [135]. MnO₂ est non seulement un oxydant par lui-même, mais de plus il peut agir en catalysant la réaction de réduction de l'oxygène. Cette amplification de la réaction cathodique contribue aussi à l'augmentation du potentiel de corrosion libre.

e) Synthèse

Les microorganismes mangano-oxydants sont des microorganismes aérobies capables de former des dépôts d'oxydes de manganèse à la surface d'échantillons d'acier inoxydable. Les oxydes biodéposés sont principalement formés de birnessite MnO₂ et de manganite MnOOH, mais ils peuvent aussi contenir d'autres composés contenant du manganèse (par exemple, l'haussmannite Mn₃O₄). Le mécanisme de cette biominéralisation est généralement enzymatique. Deux types d'enzymes sont connus pour leur rôle dans l'oxydation de Mn(II) : la Mn-peroxydase et certaines laccases.

Pour résumer :

MnO₂ est un oxydant puissant. Sa formation à la surface d'un échantillon d'acier inoxydable apporte un nouveau matériau cathodique. La réduction de MnO₂ est à l'origine d'une forte augmentation du courant cathodique et donc du potentiel de corrosion libre, lequel est fixé par la valeur du potentiel de la réaction :



Le cycle du manganèse qui s'établit à proximité de la surface de l'acier inoxydable est capable d'expliquer le comportement électrochimique des aciers inoxydables en eaux douces.

1.2.2.2 Biodéposition des oxydes de Fe

Certains microorganismes ont la capacité d'oxyder les ions Fe²⁺ en Fe³⁺ et de former un dépôt d'oxy-hydroxydes de Fe à la surface d'un acier inoxydable : ils sont dits ferro-oxydants. Ils produisent des tubercules rouge orangé d'oxy-hydroxydes de Fe à partir des ions Fe²⁺ présents dans l'électrolyte ou le substrat. Ces microorganismes sont variés (bactéries, levures, champignons) et sont souvent capables d'oxyder aussi Mn(II). La plupart des bactéries ferro-oxydantes sont micro-aérophiles et sont par conséquent trouvées en grande quantité sous leurs dépôts [102].

Les bactéries ferro-oxydantes influencent la corrosion des aciers inoxydables selon trois moyens d'action :

- Effet de « super-crevasse » : un dépôt d'oxydes de Fe peut stabiliser le développement de la corrosion par piqûres en jouant le rôle de « super-crevasse » : la zone sous le dépôt est une zone confinée à l'intérieur de laquelle des espèces chimiques agressives (Cl⁻, H₃O⁺) se concentrent. La présence du dépôt empêche ou ralentit alors la repassivation des piqûres métastables, favorisant le passage d'une corrosion par

piqûres instables à une propagation stable des piqûres, ce qui a pour conséquence directe de faire diminuer la valeur du potentiel de piqûre de l'alliage.

Il a été montré expérimentalement que des échantillons d'acier 304L peuvent être victimes de corrosion par piqûre stable à des potentiels aussi faibles que -140 mV/ECS en présence d'un dépôt de rouille [125]. Par ce moyen, les films de surface à base de Fe déposés par les microorganismes ferro-oxydants peuvent stabiliser la corrosion et la rendre possible à des valeurs de potentiel très inférieures au potentiel de piqûre E_{piq} . Cet effet de « super-crevasse » est accentué si le dépôt combine une sélectivité pour les anions et une faible résistance ionique [126, 138]. Une étude expérimentale a prouvé que le potentiel de piqûre E_{piq} d'un échantillon d'acier 304L est fortement diminué lorsqu'il est artificiellement recouvert d'un dépôt d'oxydes de Fe. Cette diminution peut atteindre 200 mV [23]. La diminution de E_{piq} illustre la stabilisation de la corrosion par piqûres. Toutefois, le dépôt d'oxydes de Fe n'a pas d'influence significative sur la valeur du potentiel de repassivation [23].

- Effet d'aération différentielle : les zones sous les dépôts d'oxydes de Fe sont généralement très peu oxygénées, voire anaérobies. La corrosion par aération différentielle peut alors être initiée : les zones anaérobies sous les dépôts constituent des zones anodiques de faible surface et le reste de la surface, mieux oxygéné, constitue la cathode. L'initiation des piqûres dépend de la biodéposition des oxydes. La propagation ultérieure des piqûres dépend des éléments d'alliage et de leur pourcentage dans la matrice [102].

Par ailleurs, la présence de zones anaérobies sous le dépôt autorise le développement de bactéries anaérobies, et en particulier de la flore sulfurogène. En effet, des BSR et des BTR, ainsi que des précipités noirs riches en soufre, sont souvent trouvés sous les tubercules biodéposés par les bactéries ferro-oxydantes. Les modes de biocorrosion en voie anaérobie induits par la flore sulfurogène peuvent être actifs en présence de bactéries ferro-oxydantes [139, 140].

- Modification du potentiel de corrosion libre : ce mécanisme est controversé à l'heure actuelle. La plupart des articles concernant le sujet concluent que la déposition d'oxydes de Fe n'a pas d'influence sur le potentiel de corrosion libre, mais quelques travaux de recherche ont obtenu une augmentation de E_{corr} en présence de bactéries ferro-oxydantes. Deux cas contradictoires vont être exposés pour illustrer l'état des connaissances.

Des échantillons d'acier inoxydable 304 immergés dans un milieu de culture contenant 50 mg/L de Cl^- etensemencé de *Thiobacillus ferrooxidans* ont vu leur potentiel de corrosion libre augmenter jusqu'à une valeur stationnaire de +230 mV/ECS. La voltamétrie cyclique montre que le courant cathodique a augmenté, ce qui est dû à l'addition du courant de réduction du Fe(III) formé par les bactéries. Ni l'augmentation du potentiel ni l'augmentation du courant cathodique ne sont modifiés par un balayage à l'argon : la concentration en O_2 n'a pas d'impact sur les modifications électrochimiques induites par *Thiobacillus ferrooxidans*. Dans cette étude, une culture pure de bactérie ferro-oxydante a engendré une forte augmentation du potentiel de corrosion libre [141].

Dans une autre étude, le potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier 304L immergés dans une eau de rivière augmente jusqu'à atteindre environ +250 mV/ECS. L'analyse de la surface des échantillons révèle un dépôt biominéralisé contenant un mélange de goethite α -FeOOH, de lépidocrocite γ -FeOOH, de magnétite Fe_3O_4 , de maghémite γ - Fe_2O_3 et d'oxydes de Mn. La présence de dépôts d'oxy-hydroxydes de fer incite à réaliser une expérience en laboratoire : des échantillons d'acier 304L sont artificiellement recouverts d'un dépôt

d'oxydes de Fe ayant la même composition (sans manganèse) que celui produit par l'activité microbologique. Les résultats montrent que les dépôts d'oxydes de fer ne peuvent pas provoquer une augmentation de E_{corr} semblable à celle obtenue en eau douce naturelle [23].

1.2.3 Synthèse

Les deux mécanismes évoqués dans cette partie (production enzymatique de H_2O_2 et biominéralisation d'oxydes de manganèse) peuvent expliquer tout ou partie de l'augmentation du potentiel d'abandon des aciers inoxydables en eaux naturelles. Ils ne sont vraisemblablement pas antagonistes mais plutôt complémentaires. En effet, ils reposent sur un même principe : les microorganismes du biofilm synthétisent une enzyme catalysant la production d'un oxydant dont la réduction entraîne une augmentation de E_{corr} . La production enzymatique d'un oxydant est dans les deux cas l'élément déclencheur des variations du potentiel de corrosion libre (figure 13).

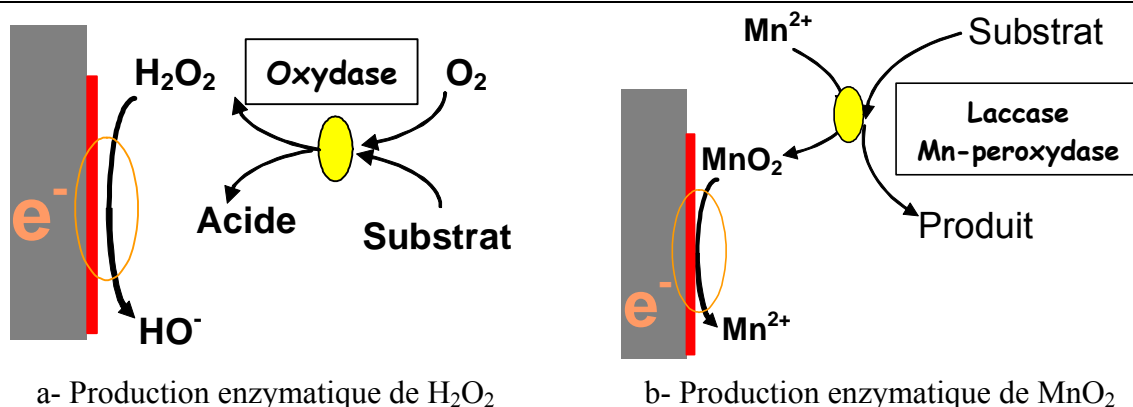


Figure 13 : modèles enzymatiques de production d'un oxydant générant une augmentation de E_{corr}

Lorsqu'un échantillon d'acier inoxydable est immergé dans une eau naturelle, sa couche passive évolue au cours du temps, en terme de composition chimique, de distribution spatiale des différentes phases présentes, d'épaisseur... Par exemple, en eau de rivière naturelle, la couche d'oxydes s'épaissit et les oxydes de fer(III) deviennent prédominants à l'extrême surface du film. De telles variations peuvent modifier les réactions cathodiques (et/ou leur cinétique) à la surface du matériau. Il paraît donc nécessaire de s'intéresser au film passif des aciers inoxydables, à sa formation, à sa composition chimique et à ses propriétés de conduction ionique et électronique.

1.3 Le film passif des aciers inoxydables

1.3.1 La passivité

Un métal est dit passif lorsqu'il se recouvre d'un film d'oxy-hydroxydes (plus ou moins hydraté) limitant fortement toute corrosion généralisée ultérieure. Le caractère passif est conféré aux aciers inoxydables par leurs éléments d'alliage, et en particulier par le chrome. Un acier est dit inoxydable s'il contient au moins 12 % en masse de chrome.

Lorsqu'un acier inoxydable tout juste poli est exposé à l'air libre ou immergé dans un électrolyte, il se recouvre très rapidement d'un film d'oxydes et d'hydroxydes de fer et de chrome ayant une épaisseur de quelques nanomètres (1-10 nm). Ce film adhérent a une perméabilité ionique très faible et limite le transfert des anions agressifs de l'électrolyte et des

cations métalliques produits par la dissolution anodique. Sa conductivité électronique est aussi très faible [142]. Ce film rend l'alliage passif vis-à-vis de la corrosion généralisée et est pour cette raison appelé film passif.

La courbe de polarisation anodique d'un métal passif est représentée en figure 14. Dans un premier temps, un courant d'oxydation non négligeable apparaît, correspondant à la dissolution du métal. A partir du potentiel E_p (potentiel critique de passivation), la formation du film passif a lieu et le courant d'oxydation diminue jusqu'à atteindre une valeur constante et très faible, au-delà du potentiel E_{pp} (potentiel de passivation). Le domaine de potentiels sur lequel le courant est constant est appelé domaine de passivité. La valeur du courant dans le domaine de passivité est appelée courant passif i_{passif} . La borne supérieure du domaine de passivité est le potentiel de transpassivité E_{tp} , au-delà duquel le courant anodique augmente fortement. Si le milieu contient des ions Cl^- , la transpassivité correspondra très probablement à la corrosion par piqûres, et le potentiel de transpassivité sera égal au potentiel de piqûre E_{piq} . En fonction de la réaction cathodique, et donc des espèces oxydantes présentes dans le milieu et de leur quantité, le potentiel de corrosion libre sera soit dans le domaine passif (pas de corrosion, figure 14-a), soit dans le domaine de la corrosion par piqûres (figure 14-b). La résistance à la corrosion d'un acier inoxydable dépend fortement de sa composition et de la chimie de l'électrolyte dans lequel il est plongé.

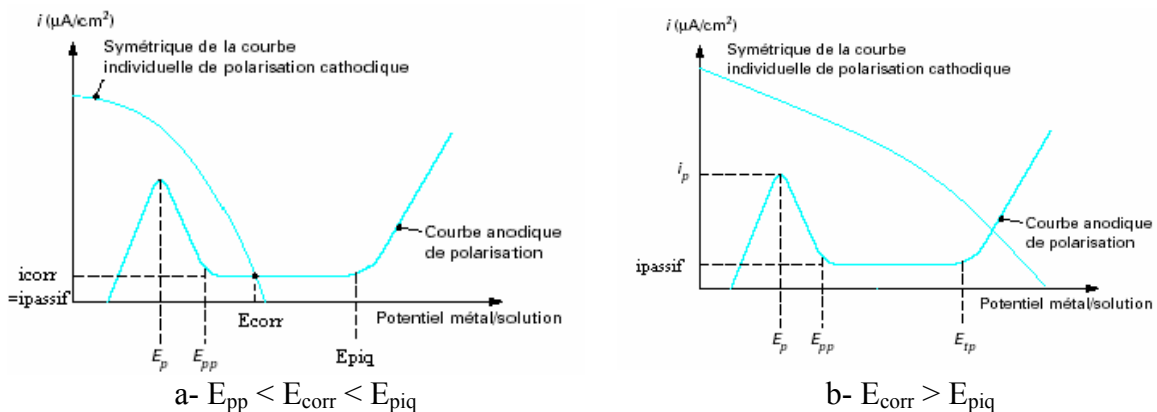


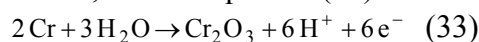
Figure 14 : courbes de polarisation anodique et cathodique d'un métal passif
 a- E_{corr} est dans le domaine passif b- $E_{corr} > E_{piq}$: corrosion par piqûres [143]

1.3.2 Rôle des éléments d'alliage

Les éléments participant à la passivation sont généralement séparés en deux catégories [144]. Les promoteurs de passivité sont des éléments qui ont une faible liaison avec les autres atomes métalliques mais une forte affinité avec l'oxygène dissous, ils vont s'oxyder facilement et former la couche d'oxydes. Le chrome est typiquement un promoteur de passivité [145]. Les modérateurs de dissolution ont au contraire une forte liaison avec les autres atomes métalliques et vont ralentir la dissolution du métal. Mo est un bon exemple de modérateur de dissolution [145-147].

Chaque élément peut être étudié séparément.

- La présence de chrome est indispensable à la bonne résistance à la corrosion des aciers inoxydables. Il est responsable de la croissance très rapide en milieu oxydant de la couche d'oxydes passivante, selon l'équation (33) :



Plus la teneur en chrome est élevée, plus le domaine passif va s'élargir. Le chrome augmente la valeur du potentiel de piqûre E_{piq} . Une synergie existe entre l'effet passivant du chrome et l'effet du molybdène en milieu chloruré. Pour certains auteurs, la teneur en chrome pourrait avoir tendance à faire diminuer l'épaisseur du film passif [148], mais ce résultat est controversé par d'autres auteurs [149].

- La présence de molybdène dans l'alliage élargit le domaine passif et diminue le courant sur le palier de passivité (en milieu chloruré) [150]. Mo ne modifie pas la croissance du film passif et n'entre pas dans sa composition chimique [151, 152]. Le molybdène renforce la stabilité de la couche passive et favorise la repassivation. La présence de Mo dans l'alliage entraîne une augmentation de E_{piq} et protège de la corrosion cavernueuse. Il semblerait que le molybdène soit capable de provoquer une augmentation en chrome dans la partie la plus interne du film passif, ce qui expliquerait le rôle de stabilisation de la couche passive que joue cet élément d'alliage en milieu chloruré [153].
- Le nickel élargit le domaine d'existence de l'austénite et augmente la résistance à la corrosion sous contrainte. Il augmente aussi la résistance à la corrosion cavernueuse et aurait tendance à faire augmenter le potentiel de piqûre E_{piq} des aciers inoxydables austénitiques [154, 155].
- L'azote améliore les caractéristiques mécaniques.

La couche passive protège les aciers inoxydables de la corrosion localisée. Toutefois, les aciers inoxydables peuvent subir une corrosion localisée, en particulier dans les électrolytes contenant des ions Cl^- . Ils sont particulièrement sensibles à la corrosion par piqûres, à la corrosion par effet de crevasse, à la corrosion intergranulaire et à la corrosion sous contrainte.

1.3.3 Formation de la couche passive

La couche d'oxydes passivante se forme spontanément en milieu aqueux et dans l'air ambiant. Le modèle le plus cité décrivant la formation du film passif est le modèle d'Okamoto (figure 15) [156-159]. Les principaux constituants de la couche d'oxydes sont les cations métalliques M^{n+} (principalement Fe^{2+} , Fe^{3+} et Cr^{3+}) qui ont une forte affinité avec l'oxygène et s'oxydent rapidement. Les molécules d'eau proches de la surface se déprotonent et forment des ions HO^- ou O^{2-} afin d'équilibrer les charges à proximité de la surface (électroneutralité). Les cations M^{n+} s'associent avec les anions HO^- et O^{2-} pour former respectivement des hydroxydes et des oxydes. Il en découle une structure bicouche pour le film passif en fonction de son hydratation : la couche interne, proche de l'interface métal/film passif, serait constituée d'oxydes, et la couche externe, en contact direct avec le milieu aqueux, serait plus hydratée et constituée d'hydroxydes et de molécules d'eau « liées » à la surface. Dans le modèle d'Okamoto, l'oxygène faisant partie de la couche d'oxy-hydroxydes provient non pas du O_2 dissous mais des molécules d'eau. D'autres travaux évoquent un modèle où une première étape serait l'adsorption d'oxygène moléculaire à la surface du métal, puis les cations métalliques passeraient en solution et échangeraient leur position avec l'oxygène. Dans ce modèle, la source d'oxygène du film passif est l'oxygène dissous [160]. Des molécules d'eau ainsi que des anions de l'électrolyte (Cl^- , SO_4^{2-} ...) peuvent aussi être trouvés en faible quantité dans le film passif.

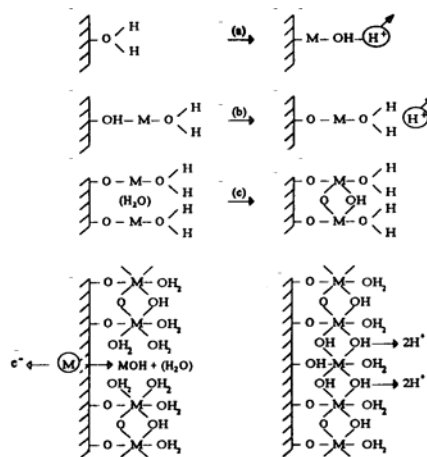


Figure 15 : représentation schématique de la formation du film passif d'un acier inoxydable par déprotonation de l'eau [161]

1.3.4 Propriétés électroniques et composition chimique du film passif

Le caractère semi-conducteur des films passifs d'acier inoxydable est de nos jours largement reconnu [162-164]. De nombreux travaux étudient en parallèle la composition chimique du film passif (et son éventuelle stratification) et ses propriétés de semi-conductivité. Un rappel sur les semi-conducteurs est disponible en annexe n°3.

Des mesures de photocourant et de capacité de films d'oxydes (par la méthode de Mott-Schottky) ont permis de mettre en évidence la nature semi-conductrice du film passif et d'étudier ses propriétés électroniques. La mise en parallèle des connaissances sur les propriétés de semi-conductivité et des techniques d'analyse de surface (spectroscopie Auger AES, XPS) a permis de caractériser les films passifs formés sur les aciers inoxydables. D'autres études portant sur des films d'oxydes formés à haute température en milieux aqueux ou en milieu primaire de réacteur nucléaire ont permis de dégager des similarités entre ces différents films d'oxydes.

Certains auteurs proposent une structure bicouche des films passifs formés sur acier inoxydable en fonction du profil de composition chimique. En raison de la faible mobilité du chrome et de la dissolution préférentielle du fer, les couches les plus internes seraient enrichies en chrome, alors que les couches externes seraient plutôt enrichies en fer. Ces résultats sont toutefois à nuancer, car ils sont très fortement affectés par les conditions expérimentales : composition chimique de l'électrolyte, pH, traitement de surface... Il semblerait en particulier que le pH de la solution d'immersion ait une forte influence sur la composition et sur les propriétés électroniques des films passifs d'acier inoxydable. La zone interne serait enrichie en chrome et la zone externe en fer en conditions neutres ou basiques, alors qu'un pH acide aurait plutôt tendance à enrichir la zone externe en chrome et la zone interne en fer [165-168]. En eau douce naturelle, les conditions neutres ou très légèrement basiques devraient donc générer un film plutôt enrichi en chrome en zone interne et enrichie en fer en surface, comme cela a été montré en eau de mer naturelle [73, 169].

L'étude des films passifs doit donc prendre en compte le pH de l'électrolyte environnant.

1.3.4.1 Milieux neutres ou légèrement basiques

Des mesures de Mott-Schottky effectuées sur un inox 304 en solution tampon acide borique/borates (pH 9,2) ont montré que le comportement semi-conducteur du film passif se divise en deux régions (figure 16). En dessous d'un potentiel de bandes plates U_{fb} d'environ -0,5 V/ECS, le film passif se comporte comme un semi-conducteur de type p (pente négative sur la courbe $C^{-2}(E)$). Au-dessus de U_{fb} , le film passif se comporte comme un semi-conducteur de type n. Cette allure est trouvée de façon très générale en milieu aqueux [170, 171].

Il s'avère que la couche d'oxydes formée sur du fer pur se comporte comme un semi-conducteur de type n au-dessus de -0,5 V/ECS, alors que le comportement de type p n'est pas retrouvé. Le comportement de type n au-dessus de U_{fb} serait donc dû aux oxydes de fer du film passif.

Par ailleurs le tracé des diagrammes de Mott-Schottky pour différents alliages Fe-Cr (avec une teneur en chrome allant de 0 à 30 % par pas de 5%) montre que lorsque la teneur en chrome augmente, la pente de la partie linéaire correspondant à un semi-conducteur de type p croît, alors que la zone correspondant à la semi-conductivité de type n n'est pas affectée. D'après plusieurs auteurs, les oxydes de chrome sont généralement des semi-conducteurs de type p [164, 172-174]. Pour le film passif, le comportement de semi-conducteur de type p en dessous de -0,5 V/ECS semble être dû aux oxydes de chrome. Ceci est confirmé par la ressemblance des diagrammes de Mott-Schottky réalisés sur le 304 et sur un alliage Fe-15%Cr.

Les analyses Auger révèlent une structure duplex, composée d'une fine couche interne d'oxydes de chrome (3-4 couches atomiques, probablement de la chromine Cr_2O_3), et d'une zone externe mélange d'oxydes de fer (Fe_2O_3 probablement) et de nickel. La couche interne d'oxydes de chrome est responsable de la semi-conductivité de type p (potentiels inférieurs à -0,5 V/ECS) alors que la couche externe d'oxydes de fer donne un caractère semi-conducteur de type n (potentiels supérieurs à 0,5 V/ECS) [175]. Une autre étude portant sur l'acier inoxydable 304 dans la même solution tampon a confirmé que le film passif a une couche interne principalement constituée de Cr_2O_3 [176].

Un tel film passif se comporte donc globalement comme une hétérojonction p-n. L'accent est ici mis sur une stratification chrome/fer au sein du film passif.

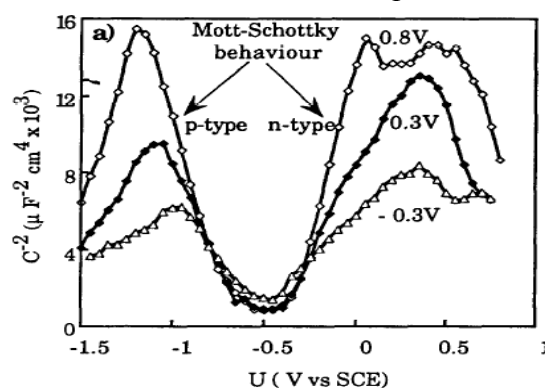


Figure 16 : diagramme de Mott-Schottky d'un échantillon d'acier 304 en solution tampon acide borique/borates (pH 9,2) [175]

Des études portant sur des films d'oxydes formés sur acier inoxydable à haute température en milieu aqueux (ou en milieu primaire de réacteur nucléaire) ont montré que ces films présentent des similarités avec les films passifs du point de vue de leur semi-conductivité. Des mesures de photoélectrochimie, d'impédance et des analyses Auger ont montré sur les aciers inoxydables 304 et 316 que les films d'oxydes formés à haute température et les films passifs

ont une structure duplex. La couche interne, formée majoritairement d'oxydes de chrome (chromine Cr_2O_3) et d'oxydes mixtes contenant du fer (spinelles type chromite FeCr_2O_4), se comporte comme un semi-conducteur de type p. La couche externe, composée principalement d'oxydes de fer (magnétite Fe_3O_4 , qui est un spinelle inverse) et d'oxydes mixtes contenant du nickel (spinelles inverses type $\text{Ni}_{0,75}\text{Fe}_{2,25}\text{O}_4$), se comporte comme un semi-conducteur de type n. Un tel film passif se comporte donc globalement comme une jonction p-n. La conduction peut être assurée par des électrons et par des trous [152, 175-181]. Dans le modèle de structure électronique proposé, le film est décrit comme une hétérojonction p-n où les zones de charges d'espace ne sont pas juxtaposées mais localisées au niveau des interfaces métal/ Cr_2O_3 et oxydes de fer/électrolyte [178].

En milieu aqueux neutre ou basique, tous ces travaux vont dans le sens d'un film passif stratifié en fonction de sa composition chimique (oxydes de chrome proches de l'interface métal/film passif, oxydes de fer proches de l'interface film passif/électrolyte).

Le changement de semi-conductivité entre les deux couches du film passif correspond vraisemblablement sur le plan cristallographique au passage d'un spinelle direct à un spinelle inverse. Il semblerait que la couche interne riche en chrome soit constituée principalement de Cr_2O_3 et de spinelles directs (type chromite FeCr_2O_4), alors que la couche externe riche en fer serait constituée principalement de Fe_2O_3 et de spinelles inverses (Fe_3O_4 , oxydes mixtes contenant du nickel).

La grande difficulté dans l'interprétation des résultats consiste à connaître la semi-conductivité des oxydes mixtes. Un changement dans la stoechiométrie de ces oxydes peut engendrer une différence dans leurs propriétés de semi-conductivité. Par exemple, il est connu que la présence de fer dans la maille cristallographique de l'oxyde de chrome impose une semi-conductivité de type n dès que la teneur en fer excède 5 % [182, 183].

1.3.4.2 Milieux acides

Dans un travail récent, le film passif développé sur un alliage Fe-18Cr en solution neutre ou légèrement basique (tampon acide borique/borates de pH 8,4) est comparé au film passif développé sur le même alliage en solution acide (0,1 M de H_2SO_4). Dans les deux conditions, les résultats de photoélectrochimie permettent de dire que les films sont constitués d'une couche interne d'oxydes ayant une énergie de gap E_g de 3,4-3,5 eV (caractéristique de Cr_2O_3) et d'une couche externe d'hydroxydes ayant un E_g de 2,4 eV (caractéristique de $\text{Cr}(\text{OH})_3$). Aucun oxyde de fer n'est détecté par mesure de photocourant. L'accent est ici mis sur la stratification oxyde/hydroxyde [184]. D'autres travaux corroborent cette séparation entre couches d'oxydes et couche d'hydroxydes [185, 186].

Les propriétés de semi-conductivité s'avèrent différentes dans les deux conditions. En solution légèrement basique, la couche interne d'oxydes et la couche externe d'hydroxydes ont un comportement de semi-conducteur de type n. Les deux couches sont en situation d'appauvrissement (figure 17), ce qui permet la migration des espèces ioniques (cations depuis le métal jusqu'à l'électrolyte, anion depuis l'électrolyte jusqu'au métal) et des électrons dans tout le film passif et permet à la fois une croissance continue du film passif et le développement de la corrosion par piqûres (migration des ions Cl^-). En revanche, en solution acide, la couche interne d'oxydes est de type p et la couche externe d'hydroxydes est de type n. La croissance du film passif générée par le champ électrique n'est alors pas facilitée.

Ce travail, contrairement aux articles précédents, indique une semi-conductivité de type n pour l'ensemble de la couche en conditions neutres ou légèrement basiques [184].

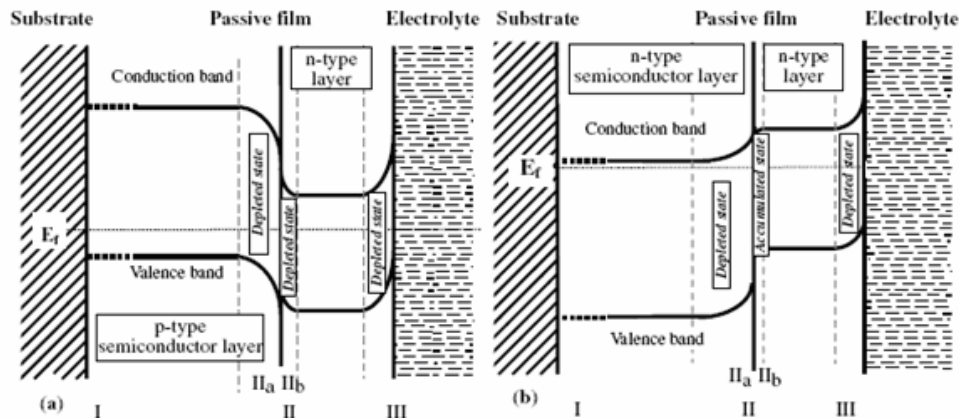


Figure 17 : représentation schématique de la structure électronique des films passifs duplex formés sur un alliage Fe-18Cr a- en milieu acide sulfurique b- en solution tampon (pH 8,4) [184]

D'après une autre étude, en milieu acide, le nombre de porteurs de charges est élevé (pente du diagramme de Mott-Schottky faible), l'épaisseur faible, le film passif est fin et très conducteur. En milieu neutre ou alcalin, le film passif est plus épais, sa densité de porteurs de charges est plus faible, la couche externe est enrichie en hydroxydes de fer et la couche interne enrichie en oxyde de chrome [187].

1.3.4.3 Eau de mer artificielle

Le film passif formé sur deux aciers inoxydables austénitiques (16,4Cr-1,98 Mo-11Ni et 25Cr-4,7 Mo-25 Ni) en eau de mer artificielle (pH compris entre 7,5 et 8) a également été étudié par les mêmes techniques expérimentales. Les diagrammes de Mott-Schottky mettent en évidence deux zones de semi-conductivité différentes, séparées par un potentiel proche de -0,5 V/ECS (égal au potentiel d'équilibre électrochimique du fer).

La région la plus anodique correspond à un semi-conducteur de type n, alors que la région la plus cathodique correspond à un semi-conducteur de type p. Ceci est cohérent avec les résultats présentés dans le paragraphe 3.4.1 concernant les milieux basiques ou légèrement neutres [182].

Les mesures de photocourant donnent une énergie de gap E_g d'environ 3,1 eV caractéristique de l'oxyde de chrome (cette valeur de E_g est trouvée sur la couche d'oxyde d'un échantillon de chrome pur). Les analyses Auger montrent que les films sont très minces (environ 7 couches atomiques) et principalement constitués d'oxyde de chrome. Le rapport Cr/O donne une stoechiométrie caractéristique de Cr_2O_3 . L'alliage contenant le moins d'éléments d'alliage contient un peu d'oxyde de fer en extrême surface. Du nickel est détecté principalement entre les oxydes de fer et les oxydes de chrome (zone intermédiaire du film passif). Le potentiel de bandes plates de -0,5 V/ECS caractéristique des oxydes de fer est trouvé dans les deux cas, même dans le cas de l'alliage ne présentant quasiment pas de fer dans sa couche passive. Même à teneur très faible, les oxydes de fer semblent imposer leur potentiel de bandes plates. Dans l'étroite zone de potentiels autour de U_{fb} , le film d'oxydes a une capacité constante. Les valeurs de capacités mesurées indiquent, par comparaison avec des mesures sur des échantillons de nickel pur passivés, que la capacité correspond aux oxydes de nickel [182].

Ainsi, en eau de mer artificielle, la stratification du film passif en fonction de sa composition chimique (et plus particulièrement de son rapport Cr/Fe) n'est pas aussi marquée que dans les

milieux basiques de laboratoire. Le film contient très majoritairement de la chromine Cr_2O_3 , les oxydes de fer et de nickel (bien que présents) restant très minoritaires. Les oxydes de fer influencent néanmoins les propriétés de semi-conductivité et génèrent un comportement de type n au-dessus de U_{fb} (qu'ils imposent égal à $-0,5$ V/ECS).

D'autres travaux montrent que les films passifs formés sur acier inoxydable en eau de mer naturelle sont stratifiés. La couche interne est particulièrement enrichie en chrome, alors que la couche externe (proche de l'électrolyte) est enrichie en fer [73, 169].

Les diagrammes de Mott-Schottky montrent qu'en eau de mer artificielle, le temps d'immersion a une influence sur les propriétés de semi-conductivité du film passif. Au cours du temps, le nombre de porteurs de charge diminue pour la partie semi-conductivité de type n (potentiel supérieur à $-0,5$ V/ECS), et donc l'épaisseur de la couche de charges d'espace augmente [179].

Les oxydes sont hautement dopés, l'ordre de grandeur des densités de porteurs de charge étant de 10^{20} cm^{-3} .

1.3.4.4 Propriétés semi-conductrices et corrosion par piqûres

Il est à noter que les propriétés semi-électroniques du film passif semblent avoir une influence sur sa résistance à la corrosion par piqûres. La valeur du potentiel de piqûre E_{piq} augmente avec l'énergie de gap E_g (largeur de la bande interdite) [188, 189].

La susceptibilité des aciers inoxydables à la corrosion par piqûres peut alors être interprétée à l'aune des diagrammes de Mott-Schottky [170, 171, 190]. L'immunité serait assurée à tous les potentiels inférieurs au potentiel de bande plate U_{fb} .

Les piqûres métastables commencent à devenir probables dès que le potentiel devient supérieur à U_{fb} . Les oxydes de fer confèrent alors au film passif un caractère semi-conducteur de type n, le niveau donneur étant lié à l'ionisation des espèces donneuses situées dans les sites tétraédriques de la matrice spinelle, et plus particulièrement aux vacances d'oxygène. Ceci est valable jusqu'à 0 V/ECS.

Une zone de semi-conductivité de type n ayant une pente différente (plus faible) est ensuite souvent trouvée entre 0 et $0,5$ V/ECS [170, 191]. Cette nouvelle contribution correspond à un niveau donneur profond dans la couche d'oxydes. Ce niveau est généralement considéré comme lié à l'ionisation des espèces donneuses situées dans les sites octaédriques de la matrice spinelle [191]. Certains l'attribuent à l'oxydation transpassive du Cr(III) en Cr(VI) [171, 190]. Dans cette zone il y a augmentation de la probabilité de développement de piqûres stables.

Enfin, au-delà d'un potentiel critique (environ $0,5$ V/ECS), la diminution de la courbe $C^{-2}(E)$ montre la rupture du film passif par piqûration stable (la pente de type p peut être interprétée comme le passage des cations en solution) [171, 190].

L'influence du molybdène sur les propriétés semi-conductrices du film passif a été étudiée afin de mieux comprendre le rôle protecteur de cet élément. Quand Mo est présent dans l'alliage, il y a enrichissement de la zone interne du film en oxydes de chrome. Par ailleurs, les mesures de capacité montrent que le molybdène a tendance à faire diminuer le nombre d'accepteurs de la couche d'oxydes de chrome interne (semi-conductrice de type p) et à faire diminuer le nombre de donneurs dans les niveaux profond et « surfacique » des oxydes de fer

externes (semi-conductivité de type n). Ainsi, le molybdène diminue le taux de dopage des niveaux donneur et accepteur.

1.4 Le biofilm

Le comportement électrochimique des aciers inoxydables en eaux naturelles est lié à la formation d'un biofilm à la surface du matériau. Ce biofilm est capable de provoquer des modifications de la physico-chimie locale à l'interface matériau/milieu et de modifier ainsi certains processus de corrosion.

1.4.1 Nature et formation du biofilm

Lorsqu'un matériau est immergé dans un milieu aqueux non stérile, sa surface est rapidement colonisée par des microorganismes, puis par des macroorganismes (à ce stade, on parle de biofouling) [192, 193]. L'ensemble constitué par les microorganismes adhérents et les polymères extracellulaires qu'ils produisent à la surface du matériau est appelé biofilm. La présence du biofilm à la surface d'un matériau métallique peut induire des modifications locales de la chimie de l'électrolyte (par exemple modifier la valeur du pH et/ou de la concentration en dioxygène dissous) de par le métabolisme microbien, ce qui peut avoir une influence sur le processus de corrosion.

La formation d'un biofilm sur une surface métallique se fait en quatre étapes (figure 18) :

- Initiation : une première couche de molécules organiques (épaisseur de quelques nanomètres [194]) s'adsorbe à la surface (glycoprotéines, polysaccharides, acides humiques, lipides), puis une monocouche discontinue de microorganismes adhère de façon réversible.
- Propagation : la colonisation se poursuit et devient tridimensionnelle, la surface est recouverte d'une structure microbienne multicouche. Le taux de croissance des microorganismes est élevé. Des exopolymères sont alors sécrétés.
- Phase plateau : la surface du substrat est recouverte d'une forte population microbiologique. Une compétition entre les microorganismes voit le jour, certaines espèces deviennent prédominantes au détriment d'autres espèces.
- Érosion : un décrochage partiel du voile biologique peut avoir lieu.

La formation et la croissance du biofilm à la surface sont fonction du transport de matière de composés organiques et inorganiques, de l'adsorption de ces composés, de l'adhésion de cellules microbiennes et de leur production d'exopolymères modifiant leurs propriétés adhésives (glycocalyx, biosurfactants...) [5, 6, 12, 74, 195-197]. La rhéologie du biofilm se rapproche de celle d'un gel.

Le biofilm peut comprendre les produits de corrosion du substrat sur lequel le biofilm a adhéré, ainsi que les composés minéraux piégés au sein de la matrice du biofilm en provenance de la solution ou synthétisés par les microorganismes. Le biofilm est composé d'eau à 80-95% et a une épaisseur comprise entre 50 et 500 μm .

Le biofilm n'est pas une couche compacte et homogène. C'est au contraire un milieu poreux, très hétérogène dans les trois directions et dans le temps, pouvant présenter des zones plus épaisses que d'autres (formes de tubercules, ou « mushroom model »). L'hétérogénéité est d'abord structurale : les microcolonies de cellules sont séparées par des vides interstitiels facilitant les transports de masse. L'espace interstitiel forme effectivement des « canaux » pour les nutriments et autres espèces dissoutes. L'hétérogénéité est aussi microbiologique et chimique : les biofilms renferment plusieurs types de microorganismes, qui forment un

consortium microbiologique et qui créent des cellules de concentration en certaines espèces chimiques. Des gradients de concentration peuvent alors apparaître et favoriser le développement de la corrosion.

Des bactéries, des algues et micro-algues, des champignons, des levures peuvent être trouvés dans des biofilms obtenus sur acier inoxydable en eaux naturelles. Les mécanismes de corrosion microbienne les plus étudiés se rapportent toujours aux bactéries ; il ne faut cependant pas négliger la présence des autres genres microbiens, comme par exemple les champignons, dont certaines espèces sont capables de former des acides organiques et d'abaisser le pH local à l'interface biofilm/couche d'oxydes et de déstabiliser le film passif. Lors d'une immersion dans un milieu oxygéné et éclairé, les micro-algues les plus nombreuses dans le biofilm sont des diatomées. L'influence de la production de O₂ par les algues photosynthétiques sur le comportement à la corrosion des aciers inoxydables (et en particulier sur le courant cathodique) est aussi à prendre en compte [27].

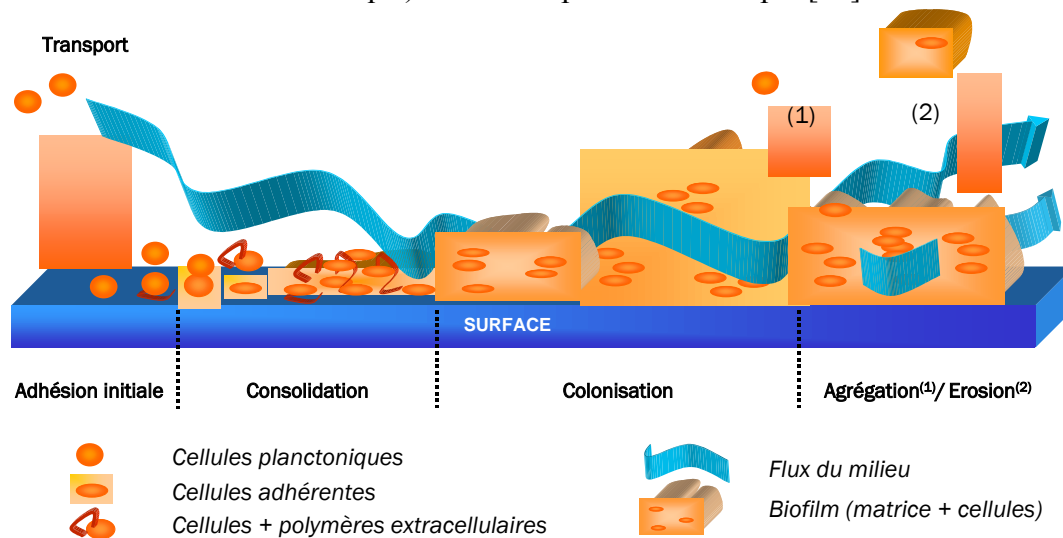


Figure 18 : schéma de la formation du biofilm [198, 199]

1.4.2 L'adhésion bactérienne

Une brève description des bactéries est fournie en annexe n°4.

L'adhésion de microorganismes à la surface d'un matériau est un phénomène physico-chimique contrôlé par des interactions physico-chimiques agissant à longue et à courte distance ainsi que des forces hydrodynamiques. Historiquement, deux théories décrivant les interactions entre une particule chargée sphérique non déformable et la paroi d'un substrat ont été employées pour traiter la bioadhésion.

- La théorie DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek), portant sur la stabilité de l'état colloïdal, prend en compte les interactions électrostatiques et les interactions électrodynamiques de type Lifshitz-Van der Waals.
- La théorie du mouillage, basée sur la thermodynamique des surfaces, décrit toutes les interactions intermoléculaires mais néglige les interactions électrostatiques [200].

Ces deux approches sont complémentaires. Les interactions électrostatiques comme les interactions électrodynamiques doivent être évaluées pour déterminer l'aptitude à l'adhésion d'une cellule donnée sur un substrat donné. Cette complémentarité est obtenue par la théorie « DLVO étendue », qui prend en compte toutes les interactions électrostatiques et non-électrostatiques entre la cellule et la surface du substrat [201, 202] :

$$\Delta G_{\text{total}} = \Delta G^E + \Delta G^{\text{LW}} + \Delta G^{\text{AB}} + \Delta G^{\text{Br}} \quad (34)$$

où ΔG^E est l'énergie libre d'interaction électrostatique, ΔG^{LW} l'énergie libre des interactions de type Lifshitz-Van der Waals, ΔG^{AB} l'énergie libre des interactions de type acide-base au sens de Lewis et ΔG^{Br} l'énergie libre des interactions dues au mouvement brownien.

L'interaction sera attractive si $\Delta G_{\text{total}} < 0$ et répulsive si $\Delta G_{\text{total}} > 0$. Chaque terme de l'équation (34) doit être évalué séparément.

1.4.2.1 Interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques sont dues au recouvrement des doubles couches ioniques du substrat et de la cellule [203].

Comme il a été mentionné précédemment, une surface immergée acquiert une charge de surface par adsorption ionique et/ou par ionisation de certains groupements atomiques présents en surface. Ceci est valable pour le substrat (surface plane métallique) comme pour la particule en suspension. Une accumulation de contre-ions se fait alors à proximité de la surface, ce qui crée une double couche électrique. Plusieurs modèles théoriques ont été développés pour rendre compte des propriétés électriques de la double couche.

- Dans le modèle de Helmholtz, la double couche électrique est considérée comme un condensateur plan (les charges côté électrolyte sont des ions fortement adsorbés situés tous à la même distance L_H de la surface). Le potentiel au sein de la double couche décroît de façon linéaire avec la distance à la surface.
- Dans le modèle de Gouy-Chapman, la mobilité des ions présents dans l'électrolyte par agitation thermique est prise en compte. Les ions à proximité de la surface ne sont alors plus alignés selon un plan, mais sont répartis selon une distribution statistique de Boltzmann dans toute l'épaisseur de la double couche alors appelée double couche diffuse (ou de Gouy-Chapman), qui s'étend jusqu'au cœur de la solution. Le potentiel au sein de la double couche diffuse varie de façon exponentielle avec la distance à la surface.
- Le modèle de Stern-Geary est une superposition des deux modèles précédents. La chute de potentiel entre la paroi et la solution est la somme d'un terme correspondant à une couche compacte de type Helmholtz (appelée ici couche de Stern) renfermant les ions fortement adsorbés à la surface, et d'un terme correspondant à une couche diffuse de type Gouy-Chapman comprenant les ions solvatés. Dans la couche de Stern, le potentiel décroît de façon linéaire, puis au-delà du plan séparant les deux couches, appelé plan externe de Helmholtz, il varie de façon exponentielle avec la distance à la surface (figure 19).

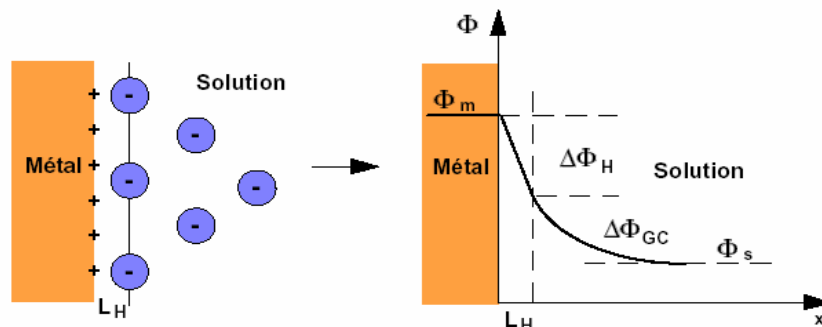


Figure 19 : modèle de Stern : superposition d'une couche compacte de type Helmholtz (couche de Stern) et d'une couche diffuse de type Gouy-Chapman [204]

L'épaisseur de la double couche varie inversement avec la force ionique de l'électrolyte. Dans des solutions très chargées en ions, la double couche est très fine et les interactions électrostatiques liées au recouvrement des deux doubles couches (paroi métallique et particule en suspension) sont faibles. L'effet des charges de surface est masqué. Inversement, lorsque l'électrolyte est peu conducteur, les interactions électrostatiques liées au recouvrement des deux doubles couches jouent un rôle prépondérant. Le pH a également une influence sur les interactions électrostatiques, car le nombre de groupements chargés à la surface du matériau et à la surface de la particule en suspension varie avec ce paramètre chimique [203, 205].

Lorsqu'il y a écoulement de l'électrolyte, le plan de cisaillement est défini comme le plan le plus proche de la surface où les contraintes de cisaillement sont nulles (et où la vitesse d'écoulement tangentielle est nulle). Ce plan se trouve dans la couche diffuse à proximité du plan externe de Helmholtz et sépare les espèces immobiles des espèces mobiles. Le potentiel mesuré au niveau du plan de cisaillement est appelé potentiel zêta ζ . Le potentiel ζ ne peut être mesuré directement, il est déterminé à partir de mesures électrocinétiques. ζ est typiquement compris entre -100 et 100 mV et dépend fortement de la charge de surface et de la force ionique de l'électrolyte (ζ diminue quand la force ionique augmente).

Lorsque l'interaction particule chargée/paroi se fait à potentiel constant et inférieur à 50 mV, l'énergie libre d'interaction électrostatique s'écrit selon l'équation (35) [203, 206] :

$$\Delta G^E = \pi \epsilon \epsilon_0 a (\Phi_p^2 + \Phi_s^2) \cdot \left(\frac{2\Phi_p \Phi_s}{\Phi_p^2 + \Phi_s^2} \ln \left(\frac{1 + \exp(-\frac{h}{L_H})}{1 - \exp(-\frac{h}{L_H})} \right) + \ln(1 - \exp(-\frac{2h}{L_H})) \right) \quad (35)$$

où a est le rayon de la particule, Φ_p le potentiel de la surface de la particule, Φ_s le potentiel au sein de la solution, h la distance entre le centre de la particule et la paroi du substrat, et L_H l'épaisseur de la double couche (fonction de la force ionique de l'électrolyte).

1.4.2.2 Interactions électrodynamiques

Les interactions électrodynamiques entre une particule en suspension et une surface ne peuvent pas être négligées dans le cadre de la bioadhésion.

a) Interactions de Lifshitz-Van der Waals

Les interactions de Lifshitz-Van der Waals regroupent les interactions dipôle-dipôle (Keesom), les interactions dipôle-dipôle induit (Debye), et les interactions entre dipôles instantanés (London).

Dans l'étude des phénomènes bioadhésifs, trois corps sont en présence : le microorganisme (noté 1), le substrat (noté 2) et l'électrolyte (noté 3). L'énergie libre des interactions de type Lifshitz-Van der Waals entre deux corps 1 et 2 plongés dans le liquide 3 est donnée par l'équation de Dupré (36) :

$$\Delta G_{132}^{LW} = \gamma_{12}^{LW} - \gamma_{13}^{LW} - \gamma_{23}^{LW} \quad (36)$$

La tension interfaciale liée aux interactions de Lifshitz-Van der Waals entre deux corps i et j peut s'écrire selon la relation de Good :

$$\gamma_{ij}^{LW} = (\sqrt{\gamma_i^{LW}} - \sqrt{\gamma_j^{LW}})^2 = \gamma_i^{LW} + \gamma_j^{LW} - 2\sqrt{\gamma_i^{LW} \gamma_j^{LW}} \quad (37)$$

En appliquant la relation de Good aux trois tensions interfaciales de l'équation de Dupré, l'énergie libre ΔG_{132}^{LW} devient [205, 207] :

$$\Delta G_{132}^{LW} = -2\gamma_3^{LW} - 2\sqrt{\gamma_1^{LW}\gamma_2^{LW}} + 2\sqrt{\gamma_1^{LW}\gamma_3^{LW}} + 2\sqrt{\gamma_2^{LW}\gamma_3^{LW}}$$

$$\Leftrightarrow \Delta G_{132}^{LW} = 2\left(\sqrt{\gamma_3^{LW}} - \sqrt{\gamma_1^{LW}}\right)\left(\sqrt{\gamma_2^{LW}} - \sqrt{\gamma_3^{LW}}\right)$$

L'énergie libre des interactions de Lifshitz-Van der Waals entre les corps 1 et 2 immergés dans le liquide 3 est positive lorsque $\gamma_1^{LW} < \gamma_3^{LW} < \gamma_2^{LW}$ et lorsque $\gamma_1^{LW} > \gamma_3^{LW} > \gamma_2^{LW}$, les interactions sont alors répulsives.

Dans tous les autres cas, les interactions Lifshitz-Van der Waals sont attractives.

Théoriquement, l'énergie libre des interactions de Lifshitz-Van der Waals s'exerçant entre la paroi du substrat et la particule chargée peut aussi s'exprimer selon l'équation (38) [203] :

$$\Delta G_{vdw} = -\frac{A}{6} \left(\frac{2a(a+h)}{h(h+2a)} - \ln\left(\frac{h+2a}{h}\right) \right) \quad (38)$$

où A est la constante de Hamaker du système, a le rayon de la particule et h la distance entre le centre de la particule et la paroi.

b) Interactions acide-base de Lewis

Un acide de Lewis est un accepteur d'électrons comportant une lacune électronique. Une base de Lewis est un donneur d'électrons ayant une paire d'électrons libres. Une réaction entre un acide de Lewis et une base de Lewis est donc un transfert d'électrons.

L'énergie libre des interactions de type acide-base entre deux corps 1 et 2 immergés dans un électrolyte 3 peut s'écrire à l'aide de l'équation de Dupré :

$$\Delta G_{132}^{AB} = \gamma_{12}^{AB} - \gamma_{13}^{AB} - \gamma_{23}^{AB}$$

La tension de surface liée aux interactions acide-base de Lewis entre deux corps i et j est exprimée par :

$$\gamma_{ij}^{AB} = 2(\sqrt{\gamma_i^+} - \sqrt{\gamma_j^+})(\sqrt{\gamma_i^-} - \sqrt{\gamma_j^-})$$

où γ_i^+ (resp. γ_j^+) représente le paramètre accepteur d'électrons (acide de Lewis) du corps i (resp. du corps j) et γ_i^- (resp. γ_j^-) le paramètre donneur d'électrons (base de Lewis) du corps i (resp. du corps j).

En appliquant cette relation aux trois tensions de surface de l'équation de Dupré, l'énergie libre ΔG_{132}^{AB} devient [205, 207] :

$$\Delta G_{132}^{AB} = 2\left(\sqrt{\gamma_3^+}(\sqrt{\gamma_1^-} + \sqrt{\gamma_2^-} - \sqrt{\gamma_3^-}) + \sqrt{\gamma_3^-}(\sqrt{\gamma_1^+} + \sqrt{\gamma_2^+} - \sqrt{\gamma_3^+}) - \sqrt{\gamma_1^+\gamma_2^-} - \sqrt{\gamma_1^-\gamma_2^+}\right) \quad (39)$$

Le signe de ΔG_{132}^{AB} est fonction des valeurs des paramètres (γ_i^+ ; γ_i^-) des trois corps. Les interactions de type acide-base de Lewis peuvent être attractives ou répulsives.

Le terme γ_i^+ (resp. γ_i^-) représente le caractère accepteur d'électrons (resp. donneur d'électrons) mais aussi donneur de protons (resp. accepteur de protons). Le terme ΔG_{132}^{AB} prend ainsi en compte les liaisons hydrogène qui peuvent intervenir au cours de l'adhésion.

c) Interactions dues au mouvement brownien

Toute particule immergée dans un milieu liquide possède une énergie brownienne de $\frac{3}{2}k_B T$. C'est cette énergie qui assure le maintien des particules en solution si elle est supérieure à l'énergie d'attraction entre les particules immergées [205].

1.4.2.3 Limitations de la théorie DLVO étendue

Des limites sont à apporter à la théorie développée ci-dessus lorsque la particule considérée est une cellule vivante [203]. Une cellule vivante n'est pas une particule idéale. Sa géométrie n'est pas simple et constante au cours du temps (déformabilité), sa composition chimique de surface n'est pas uniforme (métabolisme, réaction à des conditions de stress...). De plus, les interactions entre une cellule et un substrat dépendent fortement des conditions environnementales, du stade de croissance dans lequel se trouve la culture bactérienne, des paramètres de croissance (milieu de culture, température)... Ces interactions semblent très spécifiques.

Un autre problème provient du fait que les deux théories nécessitent que le système soit à l'équilibre thermodynamique, rarement atteint lors de l'adhésion d'une cellule sur un substrat. Par exemple, une cellule ayant adhéré sur une surface continue à réaliser son métabolisme, ce qui peut entraîner des modifications de sa charge de surface, de la composition de sa paroi... De plus, les processus d'adhésion cellulaire se font généralement en circuit ouvert, avec des échanges de matière et d'énergie avec le milieu extérieur (apport de nutriments...). Dans la plupart des cas, l'équilibre thermodynamique n'est pas atteint, mais des conditions pseudo-stationnaires peuvent apparaître.

Tout en gardant en mémoire ces restrictions, les deux théories peuvent être appliquées dans un premier temps pour évaluer approximativement les interactions cellule/surface.

1.4.2.4 Synthèse

Les principales interactions entre cellule et surface du substrat sont les interactions électrostatiques, les interactions de Lifshitz-Van der Waals et les interactions acide-base de Lewis.

Concrètement, les interactions électrostatiques seront estimées par la mesure du potentiel ζ de la cellule et du substrat. Les deux types d'interactions électrodynamiques considérés seront évalués par mesures d'affinité de la cellule et du substrat par rapport à différents solvants.

1.4.3 Les exopolymères

Les exopolymères forment de 85 à 98 % de la matière organique totale [208]. Ce sont les polymères synthétisés par les microorganismes dans le biofilm. Ils présentent une assez grande diversité : exopolysaccharides (EPS), protéines, lipides, enzymes et acides nucléiques sont régulièrement trouvés à l'intérieur de biofilms [101]. Ils forment parfois une substance gélatineuse appelée matrice du biofilm. Ils ont notamment pour rôle de favoriser l'adhésion des microorganismes sur le substrat et de les protéger des agressions provenant du milieu extérieur (par exemple par des biocides) [195].

Ce travail s'intéresse plus particulièrement à un type d'EPS, les enzymes, qui sont présentées en annexe n°5.

1.4.4 Action corrosive des biofilms

La corrosion induite par les microorganismes (CIM), encore appelée corrosion microbienne ou biocorrosion, n'est pas une nouvelle forme de corrosion. Le métabolisme des microorganismes du biofilm engendre des modifications dans les conditions physico-chimiques locales à l'interface biofilm/film passif des aciers inoxydables. Ces modifications peuvent accélérer une corrosion déjà existante (rendre possible une corrosion thermodynamiquement prévisible mais limitée par sa cinétique), ou rendre possible thermodynamiquement une forme de corrosion. Brièvement, les différents modes d'action des microorganismes sur la corrosion des matériaux métalliques sont les suivants :

- Pile d'aération différentielle : les microorganismes aérobies consomment le dioxygène dissous, ce qui provoque l'apparition d'un gradient de O_2 à proximité du matériau. Les zones colonisées par des microorganismes aérobies voient un appauvrissement en oxygène dissous et deviennent anodiques, tandis que le reste du substrat constitue la cathode. Le faible ratio aire anodique/aire cathodique peut expliquer des courants de corrosion localisée très importants.
- Piles de concentrations d'ions : des gradients de certains ions peuvent être créés par le métabolisme bactérien (Fe^{2+} , S^{2-} , H_3O^+ ...) Les piles de corrosion ainsi formées peuvent donner naissance à la corrosion localisée.
- Production de S^{2-}/H_2S : rôle de la flore sulfurogène ;
- Production de NH_3 par les bactéries dénitrifiantes : ces bactéries consomment des ions nitrates NO_3^- , qui sont des inhibiteurs de corrosion pour les aciers inoxydables.
- Production de H_2 ;
- Formation de dépôts pouvant être à l'origine d'une corrosion par effet de crevasse ;
- Action catalytique de macromolécules (exopolymères) ;
- Changement du pH sous le biofilm : certains microorganismes sécrètent dans leur milieu environnant des acides organiques et/ou inorganiques. Le pH local à l'interface biofilm/film passif peut atteindre des valeurs très faibles. C'est le cas par exemple du biofilm appelé « plaque dentaire » qui génère une attaque de l'émail des dents par acidification du milieu (carie).
- Nouvelle réaction cathodique : biosynthèse d'un oxydant au sein du biofilm ;
- Activité enzymatique des biofilms.

Cette liste n'a pas pour vocation d'être exhaustive. La littérature sur le sujet comporte plusieurs excellents états de l'art sur les différents mécanismes microbiens pouvant induire de la corrosion sur acier inoxydable [101, 209]. Certains mécanismes vont être détaillés plus particulièrement dans la suite de cette étude, en particulier le rôle des EPS, parmi lesquels les enzymes pourraient être un acteur prédominant de la corrosion microbienne.

1.4.4.1 Influence des exopolymères

Certains exopolymères sont capables de former des complexes avec les cations métalliques, dans certains cas avec une haute spécificité.

Des groupements fonctionnels comme les groupements carboxyle et amine peuvent être ionisés et développer des liaisons ioniques et/ou électrostatiques avec les cations métalliques

[210]. Par exemple, les exopolysaccharides ont une forte affinité avec les ions Fe^{2+} [211]. La solubilité des cations métalliques est alors amplifiée, et les cations restent piégés dans le biofilm, générant des cellules de concentration [195]. Comme les EPS constituent la très grande majorité des molécules organiques du biofilm, ils peuvent jouer un rôle non négligeable dans la corrosion microbienne des aciers inoxydables.

1.4.4.2 Evolution du potentiel de piqûres E_{piq}

Le risque de corrosion localisée peut être augmenté non seulement par l'augmentation du potentiel de corrosion libre E_{corr} , mais aussi par la diminution du potentiel de piqûres E_{piq} . C'est en fait la différence $E_{\text{piq}} - E_{\text{corr}}$ qui est significative pour évaluer le risque de développement de piqûres à la surface de l'acier.

1.4.4.2.1 Bactéries ferro-oxydantes

Comme il a été mentionné plus haut, les films d'oxydes de fer déposés par les bactéries ferro-oxydantes se comportent comme des barrières sélectives d'anions. Les oxy-hydroxydes de fer empêcheraient les protons H^+ de traverser le dépôt pour aller en solution, ce qui favoriserait la propagation des piqûres. Ce phénomène est parfois appelé « super-crevasse », car les propriétés des oxy-hydroxydes de fer biodéposés ont tendance à générer de la corrosion par crevasse et à empêcher (ou retarder) la repassivation des piqûres métastables.

1.4.4.2.2 Flore sulfurogène

Même en conditions aérobies, les bactéries sulfato-réductrices (BSR) et thiosulfato-réductrices (BTR) sont trouvées sous les dépôts de surface, et en particulier sous les tubercules riches en fer déposés par les microorganismes ferro-oxydants, qui par leur consommation d'oxygène créent une anaérobiose. Du soufre est souvent trouvé sous ces dépôts [139].

De plus, la concentration en oxygène dans la zone intérieure du biofilm (proche de la surface du film passif) diminue en raison de la respiration des bactéries aérobies. Ainsi, à proximité du matériau, lorsque le biofilm est mature et stationnaire (temps d'immersion suffisamment élevé), des conditions anaérobies sont générées et des bactéries anaérobies peuvent se développer. Des bactéries anaérobies ont en effet été trouvées dans des biofilms matures développés en conditions aérées [125, 126, 192, 212].

Les bactéries du soufre sont souvent trouvées à la surface de pièces en acier inoxydable qui ont été attaquées dans des eaux peu chlorurées [129, 140, 212-214].

Les BSR et les BTR sont capables de réduire respectivement les ions SO_4^{2-} et $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ en ions sulfures S^{2-} [209]. Les ions SO_4^{2-} , consommés par les BSR, sont des inhibiteurs de corrosion. En revanche, les ions S^{2-} sont capables d'abaisser la valeur du potentiel de piqûre E_{piq} et d'empêcher la repassivation des piqûres [215, 216]. La dissolution du fer par les ions S^{2-} passe par la formation de complexes de surface (clusters) [217]. La consommation de SO_4^{2-} et la production de S^{2-} et de H_2S (diminution du pH) peuvent donc entraîner la corrosion par piqûres des structures en acier inoxydable.

Des expériences ont montré que des échantillons d'acier 304L immergés en culture pure de BSR sont attaqués par une corrosion par piqûre et par une corrosion intergranulaire dues aux

bactéries. Des échantillons d'acier 316L ont aussi été dégradés dans une moindre mesure [218]. Les BSR sont capables de faire diminuer le potentiel de repassivation E_{rep} , ce qui élargit la gamme de potentiels où des piqûres métastables peuvent apparaître et tend à déstabiliser la couche passive [212].

Chapitre 2 : Matériels et Techniques

2.1 Matériaux

Trois nuances d'acier inoxydable ont été retenues pour cette étude. Les aciers AISI 304L et AISI 316L sont des aciers inoxydables austénitiques. L'acier 254SMO est un acier inoxydable superausténitique. Leur composition chimique est donnée dans le tableau 2.

Nom usuel	UNS	C	Cr	Mo	Ni	Mn	N
304L	S30403	0,018	18	0	8,1	0	1,5
316L	S31603	0,019	17,3	2,04	11,3	1,04	0,041
254SMO	S31254	0,01	19,9	6	17,8	0,5	0,2

Tableau 2 : composition chimique (en pourcentage massique) des aciers inoxydables

2.1.1 Echantillons de laboratoire

Les échantillons utilisés pour l'étude de la bioadhésion et pour les caractérisations de couche passive sont des plaques de dimension 30 X 10 X 1mm, manipulées à l'aide de pinces.

Les échantillons utilisés pour l'électrochimie sont des plaques de dimension 30 X 10 X 1mm, sur lesquelles un fil de cuivre a été soudé pour assurer un contact électrique. Le tout a été recouvert d'une peinture protectrice (Bain PSA type 781-975, PPG) par cataphorèse et englobé dans une résine époxy (Epofix resin additionnée d'Epofix Hardener dans des proportions de 7 pour 1, Struers). Seule la face de travail (d'une surface utile de 3 cm²) est en contact avec l'électrolyte, ce qui permet d'éviter des problèmes de corrosion par effet de crevasse. Les échantillons sont polis mécaniquement à l'aide de disques abrasifs en carbure de silicium progressivement jusqu'au grade 1200, puis subissent un poli miroir à la pâte de diamant jusqu'à un grain de 1 µm. Ils sont dégraissés aux ultrasons entre chaque grade de polissage. Après le polissage au micron, ils peuvent subir différents traitements de surface. Ces préparations de surface et leur influence sur diverses propriétés des matériaux sont étudiées au chapitre 3.

2.1.2 Echantillons pour les mesures *in situ*

Les échantillons utilisés pour les mesures de potentiel de corrosion libre *in situ* sont des plaques de dimension 100 X 25 X 1 mm. Chaque plaque est suspendue à un crochet en acier inoxydable, sur lequel une cosse de contact électrique a été soudée. Cette cosse se prolonge par un fil électrique gainé qui permet d'acquérir le signal. Les échantillons ont été immergés au préalable dans une solution contenant 20% d'acide nitrique à 65% et 2% d'acide fluorhydrique à 40%. Ils ont ensuite été rincés à l'eau distillée et stockés à l'air ambiant jusqu'à la date d'immersion (temps de stockage supérieur à 5 jours).

Les échantillons utilisés pour les mesures électrochimiques dynamiques « quasi *in situ* » (en bécher sur site) sont identiques aux échantillons de laboratoire, à la seule différence que le fil électrique est beaucoup plus long (3-4 mètres environ).

2.2 Produits chimiques et solutions

Toutes les solutions sont agitées pendant 1 à 2 minutes après ajout des différents composés chimiques ou biochimiques. L'agitation est stoppée pendant les mesures électrochimiques dynamiques (EIS, courbes de polarisation, chronoampérométries, chronopotentiométries, diagrammes de Mott-Schottky).

2.2.1 Eau de rivière artificielle

L'eau de rivière artificielle est une eau distillée additionnée de 0,3 g/L de NaCl (Sigma). Ce milieu a été choisi pour sa conductivité électrique d'environ 0,55 mS/cm, comparable à celle de l'eau de la Seine (cf. tableau 3). Si les conductivités sont sensiblement les mêmes, la composition chimique de l'eau de rivière artificielle est toutefois très simplifiée par rapport à celle de l'eau de rivière naturelle. En effet, le seul anion présent est Cl^- , ce qui permet de s'affranchir de l'influence des autres ions (entre autres, les inhibiteurs de corrosion NO_3^- et SO_4^{2-}). La teneur en chlorures de l'eau artificielle est par conséquent nettement plus élevée que celle de l'eau naturelle.

L'eau de rivière artificielle modélisant l'eau de la Seine est le milieu utilisé dans la quasi-totalité des expériences de laboratoire.

2.2.2 « Réactifs enzymatiques »

La solution notée « réactifs enzymatiques » est une solution d'eau de rivière artificielle à laquelle ont été ajoutés 100 u/L de glucose-oxydase (GOD produite par *Aspergillus niger*, 5100 unités/g, Sigma) et 20 mmol/L de D-(+)-glucose (Sigma).

2.2.3 Ajout ultérieur de catalase

L'ajout d'une deuxième enzyme, la catalase (produite par *Aspergillus niger*, 168,64 unités/ μL , Sigma) dans la solution « réactifs enzymatiques » a également été considéré. Généralement, 20 μL de la solution commerciale de catalase sont introduits dans la solution « réactifs enzymatiques » (3370 unités de catalase par litre).

2.2.4 « Produits enzymatiques »

La solution notée « produits enzymatiques » est une solution d'eau de rivière artificielle à laquelle ont été ajoutés 2 mmol/L de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (solution à 50%, Rectapur, Prolabo) et 1 mmol/L d'acide gluconique (solution à 50%, Acros Organics).

2.3 Techniques expérimentales

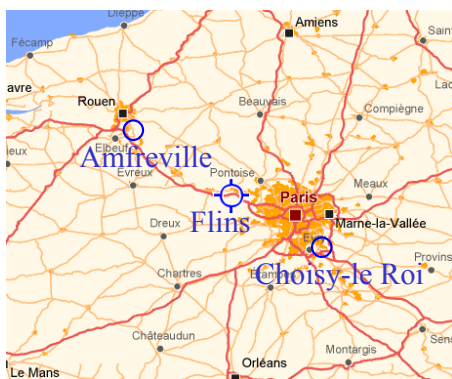
Ce paragraphe a pour vocation de présenter les techniques expérimentales mises en œuvre dans ce travail et de donner les protocoles expérimentaux utilisés. Les techniques employées sont :

- Des expérimentations menées sur des échantillons immergés en eau de rivière naturelle (dans la Seine) : mesures électrochimiques, observation de surface (MEB), dénombrements bactériens ;
- Des techniques de caractérisation microbiologique : isolement de souches microbiennes, tests d'orientation ;
- Des techniques de caractérisation physico-chimique de surface : MATS et mobilité électrophorétique pour la surface des bactéries, goniométrie et potentiel électrocinétique pour les matériaux métalliques ;
- Des expériences d'estimation de la biocontamination d'une surface en conditions statiques : protocole d'adhésion, calcul du taux de recouvrement de la surface par les microorganismes, comparaisons statistiques ;
- Des mesures de E_{corr} dans un milieu de culture en présence de microorganismes ;
- Des techniques d'analyse des couches d'oxydes : XPS, photoélectrochimie, diagrammes de Mott-Schottky ;
- Des méthodes électrochimiques utilisées en laboratoire : mesure de E_{corr} , spectroscopie d'impédance électrochimique (globale et locale), courbes de polarisation cathodique et anodique, chronopotentiométrie, chronoampérométrie ;
- Des analyses chimiques des solutions : dosages des concentrations en H_2O_2 et en O_2 , mesure du pH.

2.3.1 Expériences réalisées dans l'eau de Seine

2.3.1.1 Sites d'immersion en eau de rivière naturelle

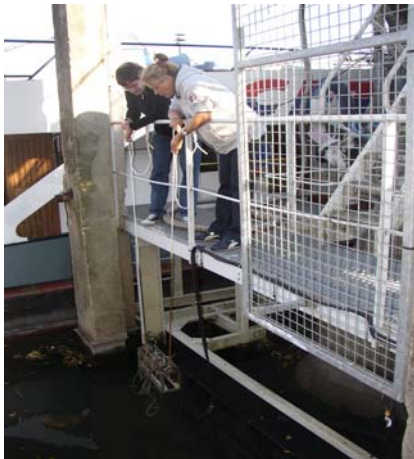
Le fleuve choisi dans cette étude est la Seine. Trois sites d'immersion ont été retenus : la station de pompage d'une usine Renault située en amont de l'agglomération parisienne (Choisy-le-Roi), le débarcadère d'une usine Renault située en aval de Paris (Flins), et un barrage situé quelques kilomètres en amont de Rouen (Poses-Amfreville). La localisation géographique et une photographie des trois sites d'immersion sont visibles sur la figure 20.



a- Localisation géographique des trois sites



b- Site de Choisy-le-Roi



c- Site de Flins



d- Site de Poses-Amfreville

Figure 20 : emplacement et photographies des trois sites d'immersion dans la Seine

2.3.1.2 Composition chimique de l'eau de rivière naturelle

Des valeurs moyennes sur une période de deux ans sont données pour les principaux paramètres physico-chimiques de l'eau (tableau 3). Le COT est le Carbone Organique Total et les MES sont les Matières En Suspension.

	T	Conductivité (25°C)	pH	[O ₂] dissous	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	COT	MES
Unité	°C	µS/cm		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
Choisy-le-Roi	14,2	524	7,9	10	20	31,1	25,4	0,51	2,9	15
Flins	14,2	611	7,8	8,1	24,4	40,7	21,8	0,68	3,9	19,9
Poses-Amfreville	14	601	7,7	7,9	25,3	39,1	23,9	0,61	4,1	27,2

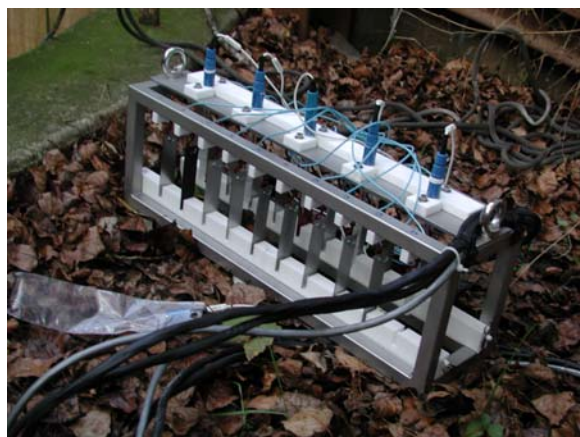
Tableau 3 : valeurs moyennes sur deux ans des principaux paramètres physico-chimiques de l'eau des trois sites d'immersion

La concentration en manganèse dans l'eau de Seine du site de Poses-Amfreville a été mesurée (au mois de Septembre) par ICP (Induction Coupled Plasma) par le laboratoire Corrodys à l'Université de Caen. Elle n'est que de 0,01 mg/L, ce qui est le seuil de détection de l'analyseur.

2.3.1.3 Montage expérimental utilisé pour les mesures in situ du potentiel de corrosion libre

Plusieurs portiques d'immersion ont été spécialement conçus et usinés pour immerger 20 échantillons d'acier inoxydable de dimensions 100 X 25 X 1mm. Ce dispositif original permet de mesurer en continu leur potentiel de corrosion libre à l'aide d'un multiplexeur HP Agilent 34970A, contrôlé par le logiciel Benchlink Datalogger. 4 électrodes de référence sont utilisées pour mesurer les potentiels (une référence pour cinq échantillons) : trois électrodes au calomel saturé Hg₂Cl₂(s)/Hg(l) (ECS) et une électrode au sulfate mercureux Hg/Hg₂SO₄ (ESM). Deux types d'électrodes de référence sont utilisés afin de mettre en évidence d'éventuels problèmes

de référence qui pourraient survenir durant l'immersion. Tous les potentiels sont ensuite reportés par rapport à l'ECS. La photographie d'un portique est donnée sur la figure 21-a.



a- Portique monté (20 échantillons, 5 électrodes de référence)



b- Contact électrique échantillon-crochet-cosse-fil protégé par un vernis isolant

Figure 21 : portiques d'immersion utilisés pour les mesures de E_{corr} *in situ*

Les échantillons sont percés d'un trou (\varnothing 6 mm) dans leur partie supérieure, afin de pouvoir être suspendus sur des crochets en acier inoxydable. Un autre trou (\varnothing 9 mm) est percé dans la partie inférieure, traversé par une barre en téflon qui permet de stabiliser les échantillons.

Le contact électrique entre un échantillon et son fil se fait par l'intermédiaire d'une cosse soudée sur le crochet. La partie « inutile » du crochet, la cosse et sa soudure sont recouvertes d'un vernis isolant (réf. Combisub T150, Chryso Resipoly), visible sur la figure 21-b.

Les échantillons sont immergés à une profondeur inférieure à 1 mètre. La température de l'eau est relevée régulièrement.

2.3.1.4 Mesures électrochimiques dynamiques sur site d'immersion

Des mesures dynamiques d'électrochimie ont été réalisées sur les sites de Choisy-le-Roi et de Flins. Elles sont réalisées selon un protocole qualifié de « quasi *in situ* ». Les échantillons sont les mêmes que pour les mesures de E_{corr} *in situ*. Ils ne sont pas enrobés. Les mesures dynamiques sont réalisées dans un bécher contenant de l'eau de Seine du site, après prélèvement d'un échantillon sur le portique et réimmersion rapide dans le bécher. Une pince crocodile assure le contact et permet la transmission du signal jusqu'au potentiostat. La contre-électrode est une grille de titane platiné et la référence une ECS.

Les courbes de polarisation cathodique sont réalisées depuis E_{corr} jusqu'à -2 V/ECS à une vitesse de balayage de 5 mV/s. Cette vitesse de balayage est rapide et ne permet pas de mesurer des courants stationnaires, mais est très pratique pour des mesures sur site nécessairement limitées en temps.

Les courbes de polarisation anodique sont réalisées suivant la technique de « quasi *in situ* » à une vitesse de balayage lente de 0,15 mV/s (9 mV/min) sur le site de Choisy-le-Roi (plus accessible) et à une vitesse de balayage rapide de 5 mV/s sur le site de Flins.

2.3.1.5 *Observation et analyse de surface par Microscopie Electronique à Balayage couplée à une analyse EDS*

Le principe du microscope électronique à balayage (MEB) couplé à une analyse EDS est expliqué dans l'annexe n°6.

a) Protocole de préparation des échantillons

Les échantillons d'acier inoxydable prélevés dans la Seine pour observation au MEB sont soumis à un protocole de préparation avant l'introduction dans le microscope. Ce protocole est utilisé classiquement lors de l'observation de micro-organismes. Il permet d'éviter une trop forte dégradation des structures biologiques (paroi bactérienne par exemple) lors de la déshydratation de l'échantillon. Les échantillons sont d'abord fixés pendant 1 heure dans un tampon de cacodylate de sodium (CDS) 0,2 M contenant 3% en volume de glutaraldéhyde, puis rincé par le tampon de cacodylate. Ils sont enfin progressivement déshydratés. Le protocole est détaillé dans le tableau 4.

Fixation	Temps	Nombre d'opérations
Fixation gluta 3% dans tampon CDS 0.2M à 4°C	1h	1X
Rinçage en tampon CDS 0.2M	5 min	2X
Déshydratation		
Ethanol (EtOH) 30%	5 min	1X
Ethanol 50%	5 min	1X
Ethanol 70%	5 min	1X
Ethanol 90%	5 min	1X
Ethanol absolu	10 min	3X
EtOH absolu/HMDS v/v : 2/1	5 min	1X
EtOH absolu/HMDS v/v : 1/1	5 min	1X
EtOH absolu/HMDS v/v : 1/2	5 min	1X
HMDS pur	10 min	1X
Evaporation sous hotte	5 min	
Métallisation	175 s	I = 10 mA

Tableau 4 : protocole de préparation des échantillons pour observation de biofilm au MEB

b) Appareillage

Deux MEB ont été utilisés dans cette étude. Le premier est un JEOL-T220A appartenant au laboratoire LGPM de l'Ecole Centrale Paris. Il a surtout été employé pour son système d'analyse EDS Oxford Link-ISIS (détecteur en Si-Li). La plupart des images de biofilms naturels ont été acquises à l'unité UBHM de l'Inra Massy sur un MEB à balayage à effet de champ Hitachi S4500.

2.3.1.6 *Dénombrements bactériens*

Des dénombrements bactériens ont été effectués au laboratoire Corrodys de Cherbourg. La composition des différents milieux de culture est donnée dans l'annexe n°10.

Les flores totales aérobie et anaérobie sont dénombrées après ensemencement sur boîtes de Pétri contenant du milieu de culture riche gélosé PCA (Plate Count Agar) ajouté de 0,3 g/L de NaCl (milieu dit « PCA-NaCl »). La température d'incubation est de 30°C +/- 2°C pendant 48 heures, en étuve aérobie d'une part, en étuve anaérobie d'autre part.

Les Bactéries Sulfato-Réductrices (BSR) et les Bactéries Thiosulfato-Réductrices (BTR) sont dénombrées par ensemencement respectivement dans les milieux de culture liquides de Starkey [219] et de Magot [220]. La température d'incubation est de 30°C +/- 2°C (température optimale de croissance de la flore sulfurogène) pendant 3 semaines. La méthode de dénombrement retenue est la technique NPP (Nombre le Plus Probable). Les tubes sont révélés par ajout de FeCl₂ : la présence d'ions sulfures produits par les bactéries entraîne l'apparition d'un précipité noir de FeS. La lecture des résultats se fait à l'aide de tables de Mc Cardy.

Les entérobactéries sont dénombrées par ensemencement dans le milieu de culture liquide de Mc Conkey.

Pour les dénombrements bactériens de biofilms, les ensemencements ont été réalisés suivant la même méthode, après décrochage des biofilms dans un bain d'ultrasons à 35 kHz pendant 5 minutes.

Tous ces dénombrements donnent des résultats concernant les bactéries viables cultivables, qui ne forment qu'une fraction de la flore bactérienne totale.

2.3.2 Techniques de caractérisation microbiologique

2.3.2.1 Isolement de souches microbiennes

Dans ce travail, des souches microbiennes « sauvages » sont isolées à partir de prélèvements du milieu naturel. L'isolement consiste en trois repiquages successifs de chaque souche sur deux boîtes de Pétri. A la suite de chacun de ces repiquages, les souches sont isolées sur la base de leurs différences de morphologie. Après le troisième repiquage, les souches sont isolées puis ensemencées dans des milieux liquides (bouillon nutritif BN, Mac Conkey, Starkey, Magot). Après cette dernière culture, un stock est réalisé par congélation des isolats à -80°C dans une solution de glycérol à 20%.

2.3.2.2 Tests d'orientation

Les quatre tests classiques suivants ont été réalisés sur les isolats :

- test de Gram : il permet de séparer les bactéries en deux grandes catégories en fonction de la composition chimique de leur paroi bactérienne.
- test au KOH (Ryu) : il confirme les résultats du test de Gram.
- test de la catalase : il permet de savoir si la souche étudiée synthétise de la catalase, enzyme catalysant la décomposition de H₂O₂ en H₂O et O₂.
- test de l'oxydase : permet de mettre en évidence une enzyme, la phénylène diamine oxydase, synthétisée par certaines bactéries.

2.3.3 Technique de caractérisation physico-chimique de surface

2.3.3.1 Caractérisation physico-chimique de la surface de microorganismes

- a) Caractères hydrophile/hydrophobe et acide/base de Lewis des microorganismes

Ces propriétés de surface sont déterminées à l'aide du test MATS (Microbial Adhesion To Solvents).

➤ Principe

La MATS est une méthode de partage développée par Bellon-Fontaine *et al* qui permet de déterminer le caractère électron-accepteur/électron-donneur (acide/base au sens de Lewis) et le caractère hydrophile/hydrophobe des microorganismes [221]. Elle est basée sur l'étude de l'affinité des microorganismes pour 4 solvants de propriétés physico-chimiques différentes et connues (tableau 5). Le chloroforme CHCl_3 (noté C) est un solvant polaire acide au sens de Lewis ; l'acétate d'éthyle (noté AE) est un solvant polaire basique au sens de Lewis ; l'hexadécane (noté HD) et le décane (noté D) sont deux solvants apolaires. Il est à noter que la composante de Lifshitz-Van der Waals de l'énergie de surface est à peu près égale pour le chloroforme et l'hexadécane d'une part, pour le décane et l'acétate d'éthyle d'autre part.

	γ_L^{LW}	γ_L^+	γ_L^-
Chloroforme (C)	27,2	3,8	0
Hexadécane (H)	27,7	0	0
Décane (D)	23,9	0	0
Acétate d'éthyle (AE)	23,3	0	19,4

Tableau 5 : caractéristiques énergétiques des solvants utilisés pour la MATS en mJ.m^{-2}
 (γ_L^{LW} est la composante due aux interactions de Lifshitz-Van der Waals,
 γ_L^+ la composante électron-accepteur et γ_L^- la composante électron-donneur)

Le caractère base de Lewis (électron-donneur) du microorganisme est déterminé par la comparaison des affinités avec le chloroforme et l'hexadécane.

Le caractère acide de Lewis (électron-accepteur) du microorganisme est déterminé par la comparaison des affinités avec l'acétate d'éthyle et le décane.

Le caractère hydrophile/hydrophobe du microorganisme est déterminé par son affinité pour le décane et l'hexadécane.

Afin de s'affranchir des interactions électrostatiques entre microorganismes et solvants, les cellules sont généralement placées dans un liquide de force ionique élevée, telle que l'eau physiologique (9 g/L NaCl). Dans ce travail, la MATS a été effectuée en eau physiologique et dans le milieu étudié, l'eau de rivière artificielle (0,3 g/L NaCl).

➤ Protocole expérimental

Dans un tube à hémolyse sont introduits 2,4 mL de la suspension microbienne à analyser et 0,4 mL de solvant. L'échantillon est agité fortement par vortexage durant deux minutes, afin de former une émulsion entre la phase aqueuse et la phase organique. L'émulsion est ensuite laissée au repos pendant 15 minutes, afin que les deux phases décantent. La mesure de la densité optique initiale de la suspension (DO_i) et de la densité optique finale de la phase aqueuse (DO_f) permet de calculer le pourcentage d'affinité de la suspension pour le solvant :

$$\text{Affinité (\%)} = \left(1 - \frac{\text{DO}_f}{\text{DO}_i}\right) \times 100 \quad (40)$$

La figure 22 propose un schéma du protocole expérimental.

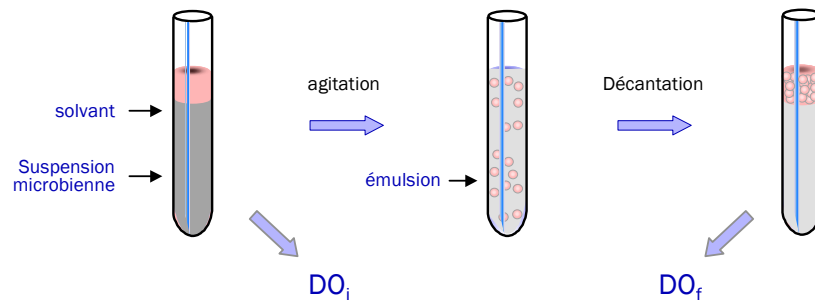
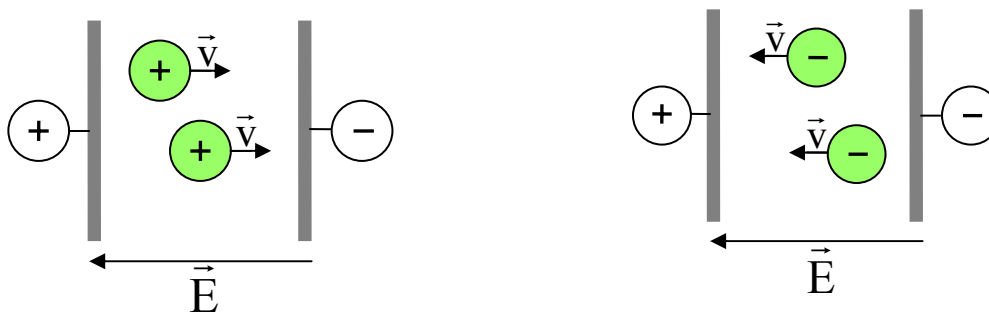


Figure 22 : schéma du protocole expérimental de la MATS [199]

b) Mobilité électrophorétique et charge globale de surface des microorganismes

➤ Principe de la mesure

Les cellules microbiennes sont assimilées à des particules colloïdales en suspension. Lorsque des particules chargées sont soumises à l'action d'un champ électrique \vec{E} , elles se déplacent à une vitesse \vec{v} . Le mouvement des particules chargées est schématisé sur la figure 23.



a- Charge de surface positive

b- Charge de surface négative

Figure 23 : action d'un champ électrique sur des particules possédant une charge de surface

La mobilité électrophorétique des particules, notée ME , est définie par la relation (41) :

$$ME = \frac{v}{E} \quad (41)$$

Différents modèles permettent de relier la mobilité électrophorétique au potentiel électrocinétique ou potentiel zêta ζ des particules. Dans ce travail, l'équation de Smoluchowski (42) a été utilisée.

$$\zeta = \frac{4\pi\eta}{\epsilon} \cdot ME \quad (42)$$

où η est la viscosité dynamique du milieu et ϵ sa permittivité.

La mesure de la mobilité électrophorétique permet de déterminer le potentiel zêta des cellules microbiennes.

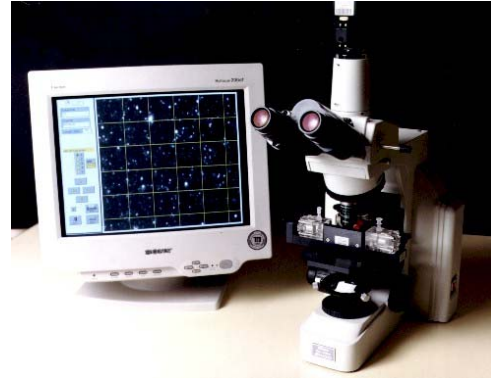
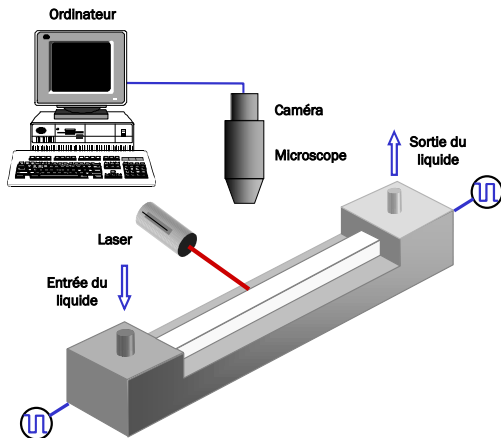
➤ Protocole expérimental

Les cellules microbiennes sont mises en suspension en eau de rivière artificielle, dont la faible conductivité ne « masque » pas la charge de surface des cellules. La concentration est ajustée à 10^6 cellules/mL environ, puis la suspension est injectée dans une cellule d'acquisition. Une tension de 50 V est appliquée entre deux électrodes pour générer un champ électrique dans le canal. Les particules sont éclairées par un faisceau laser et leur vitesse de déplacement est mesurée à l'aide d'une chaîne d'acquisition numérique (figure 24).

La mobilité électrophorétique des particules est mesurée à différentes valeurs de pH de la suspension, afin de déterminer le point isoélectrique du microorganisme, c'est-à-dire la valeur

de pH annulant sa charge de surface. Le pH est ajusté par des ajouts de KOH ou de HNO₃ dans une gamme allant généralement de 2 à 8.

L'appareillage utilisé consiste en un zétamètre laser (Zetaphoromètre II, CAD Instrumentation, Les Essarts-le-Roi, France) couplé à un microscope (BX, Olympus, France).



a- Schéma du montage expérimental

b- Photographie du montage expérimental

Figure 24 : montage expérimental utilisé pour les mesures de mobilité électrophorétique de cellules microbiennes

2.3.3.2 Caractérisation physico-chimique de la surface des supports en acier inoxydable

a) Caractérisation de l'énergie de surface des matériaux

➤ Principe

Les caractéristiques énergétiques de surface γ_S^{LW} , γ_S^+ , γ_S^- et γ_S^{AB} des supports solides sont obtenues à partir de mesures d'angles de contact θ (réalisées par la méthode de la goutte posée) et de la relation de Young-Van Oss : [201]

$$2(\sqrt{\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW}} + \sqrt{\gamma_S^+ \gamma_L^-} + \sqrt{\gamma_S^- \gamma_L^+}) = \gamma_L (1 + \cos \theta) \quad (43)$$

Pour rappel, le terme γ_S^{AB} lié aux interactions acide/base au sens de Lewis peut s'exprimer en fonction de γ_S^+ et γ_S^- selon l'équation :

$$\gamma_S^{AB} = 2\sqrt{\gamma_S^+ \gamma_S^-} \quad (44)$$

L'énergie de surface du solide γ_S est la somme du terme lié aux interactions de Lifschitz-Van der Waals et du terme acido-basique :

$$\gamma_S = \gamma_S^{LW} + \gamma_S^{AB} \quad (45)$$

L'équation (43) à trois inconnues peut être résolue en effectuant des mesures d'angles de contact avec trois liquides purs de propriétés connues sur les supports plans en acier inoxydable. Dans cette étude, les trois liquides utilisés sont l'eau, le diiodométhane et le formamide, dont les caractéristiques énergétiques sont indiquées dans le tableau 6.

Liquide	Formule	γ^{LW}	γ^-	γ^+	γ^{AB}	γ
Eau	H ₂ O	21,8	25,5	25,5	51	72,8
Diiodométhane	CH ₂ I ₂	39	39,6	2,3	19,09	58,1
Formamide	CH ₃ NO	50,8	0	0	0	50,8

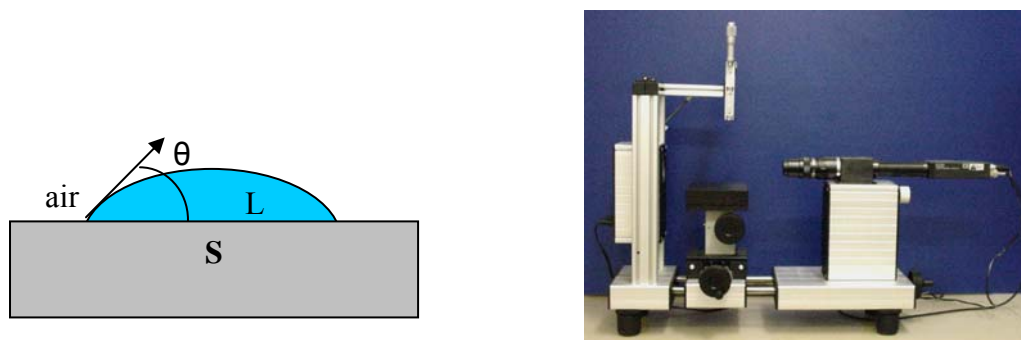
Tableau 6 : caractéristiques énergétiques (en mJ.m⁻²) de liquides utilisés pour les mesures d'angles de contact [221, 222]

Le système à 3 équations (mesures pour trois liquides différents) et à 3 inconnues (γ_s^{LW} , γ_s^- , γ_s^+) permet de calculer les caractéristiques énergétiques de surface des échantillons.

Les mesures d'angles de contact sont réalisées par la méthode de la goutte posée.

➤ Protocole expérimental

Une goutte de liquide L est déposée sur une surface solide S créant ainsi un système à trois phases (solide, liquide, air). L'angle formé entre la surface du solide et la tangente à la surface du liquide au point triple est appelé θ et mesuré à l'aide d'un goniomètre Krüss G10 (figure 25).



a- Angle de contact

b- Goniomètre G10 (Krüss, Palaiseau, France)

Figure 25 : représentation de l'angle de contact au point triple (liquide, solide, air) et goniomètre utilisé dans cette étude

b) Potentiel électrocinétique des aciers inoxydables

Le potentiel électrocinétique (ou potentiel d'écoulement) de la surface plane des supports est estimé par des mesures de potentiel zêta.

➤ Principe

Dans une cellule de mesure sont disposées parallèlement deux plaques planes du matériau à caractériser. L'espace entre les plaques constitue un fin capillaire dans lequel une solution est mise en mouvement. La différence de potentiel E est mesurée aux bornes de la cellule ainsi que la perte de charge P . La conductivité de la solution est mesurée par un capteur situé sur le circuit d'écoulement de l'électrolyte. Le potentiel E est appelé potentiel d'écoulement ou potentiel électrocinétique [207].

Lorsqu'un électrolyte circule entre deux plaques métalliques portant une certaine charge, les particules se répartissent d'une certaine manière au voisinage des plaques : les contre-ions adsorbés à la surface et l'eau structurée par le champ de surface forment la couche de Stern, et, plus éloignée, la zone non influencée par la surface est appelée couche diffuse. La circulation du liquide entraîne l'apparition d'une différence de potentiel entre la couche de Stern fixe et la couche diffuse circulante, au niveau de leur interface appelée plan de coupure hydrodynamique. Cette différence de potentiel est appelée potentiel zêta ζ [205].

Le calcul montre que la perte de charge et le champ électrique dans le capillaire sont liés. L'égalisation du courant de convection (dû à la circulation de la couche diffuse) et du courant de conduction (liquide conducteur) permet d'établir la relation de Helmholtz-Smoluchowski (46), dans le cas où le régime d'écoulement est laminaire.

$$\frac{E}{P} = \frac{\varepsilon}{4\pi\pi\eta} \zeta \quad (46)$$

où E est la différence de potentiel et P la différence de pression aux bornes du capillaire, ε la constante de permittivité diélectrique du liquide, η sa viscosité dynamique et λ sa conductivité électrique.

Le potentiel zêta dépend de la conductivité, de la température et de la permittivité électrique du milieu. Il est calculé grâce à l'équation (47) :

$$\zeta = \frac{E}{P} \cdot 10000 \cdot 13,55 \cdot C \cdot \lambda \quad (47)$$

où E est en mV, P en mbar et λ en S.cm⁻¹. C est une constante qui dépend de la température T, suivant la loi empirique :

$$C = 16,32 - 0,35197T + 0,00351T^2 \quad (48)$$

➤ Protocole expérimental

Deux plaques d'acier inoxydable d'épaisseur 1 mm sont introduites dans la cellule de mesure. Le capillaire ainsi formé a une épaisseur de 150 μ m.

La différence de pression et la différence de potentiel entre les deux extrémités de la cellule sont mesurées pour des débits d'entrée du liquide différents. L'appareillage utilisé est un zétamètre ZetaCAD (CAD Instrumentation, Les Essarts-le-Roi, France). La courbe tracée par le logiciel d'acquisition/traitement ZetaCAD4 reporte E/P en fonction de P ; une régression linéaire effectuée automatiquement calcule la valeur la pente. Les valeurs de la température et de la conductivité sont implémentées dans le calcul, qui donne alors la valeur du potentiel zêta des échantillons.

2.3.4 Estimation de la biocontamination d'une surface en conditions statiques

2.3.4.1 Protocole d'adhésion

Le principe des essais d'adhésion statique est de mettre le support en contact avec une suspension microbienne de concentration connue. Après une durée d'immersion fixée (24 heures dans le cas de cette étude), les échantillons sont rincés afin d'éliminer les cellules « simplement déposées ». Les cellules adhérentes sont alors dénombrées par épifluorescence pour déterminer la flore sessile totale.

Les échantillons d'acier inoxydable sont au préalable nettoyés selon le protocole détaillé dans le tableau 7.

La biocontamination des supports est réalisée par sédimentation à température ambiante. Les surfaces à contaminer sont placées à l'aide de pinces stériles au fond d'une boîte de Pétri stérile puis sont recouvertes avec 15 mL d'une suspension microbienne contenant environ 10⁷ cellules/mL. Après 24 heures de contact, les cellules non adhérentes sont éliminées par 5 rinçages-égouttages successifs à l'aide d'eau distillée stérile (10 mL pour chaque rinçage). Les égouttages sont effectués de façon à ne jamais déshydrater totalement la surface utile des supports. Après le dernier égouttage, les échantillons sont immergés pendant 10 minutes dans

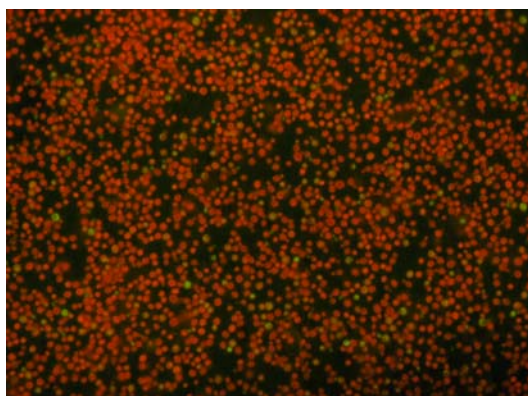
une solution d'acridine orange à 0,01%. L'orangé d'acridine est un colorant qui se fixe spécifiquement sur les acides nucléiques (ADN et ARN). Les échantillons sont ensuite rincés avec de l'eau distillée stérile et enfin observés en épifluorescence au microscope optique.

Opération	Temps	Nombre d'opérations
Nettoyage avec un mouchoir doux imbibé d'un mélange alcool-acétone v/v	10 s	1X
Immersion dans une solution de RBS à 2% dans de l'eau chaude (500 mL + 10 mL de RBS, sous agitation)	10 min	1X
Rinçage sous eau chaude	2 min	
Immersion dans de l'eau chaude (sous agitation)	5 min	5X
Immersion dans de l'eau distillée non stérile (sous agitation)	5 min	5X
Séchage sous hotte	10 min	1X

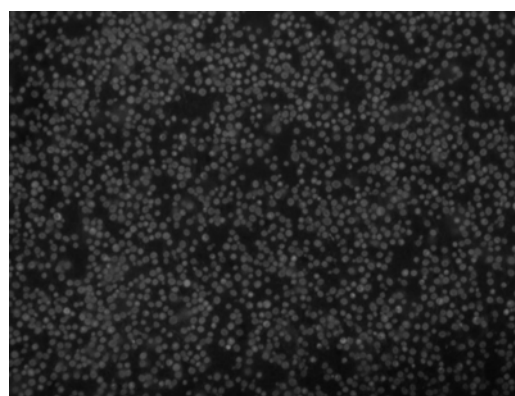
Tableau 7 : protocole de nettoyage des supports d'adhésion en acier inoxydable

2.3.4.2 Calcul du taux de recouvrement d'une surface

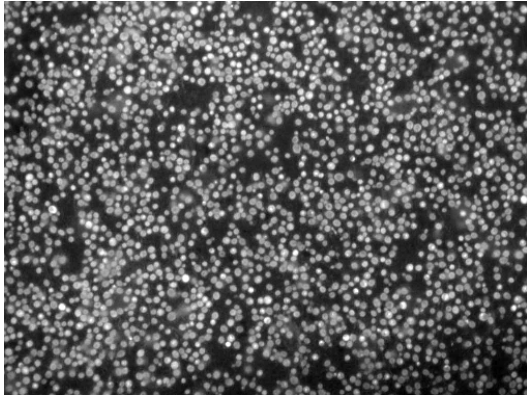
Dix photographies représentatives sont prises pour chacun des échantillons biocontaminés. Ces photographies sont ensuite traitées à l'aide du logiciel ImageTool (UTHSCSA). L'image est d'abord convertie en niveaux de gris, puis le contraste et la luminosité sont optimisés automatiquement à l'aide de la fonction « stretch ». Un filtre est ensuite appliqué afin de sélectionner les nuances de gris clair correspondant aux microorganismes. La valeur du seuil de coupure du filtre est fixée manuellement. L'image obtenue après filtrage est binarisée en pixels blancs et noirs. La fonction « Count black/white pixels » permet alors d'obtenir le pourcentage de recouvrement de la surface (pourcentage de pixels noirs). Un exemple de traitement d'image est donné sur la figure 26.



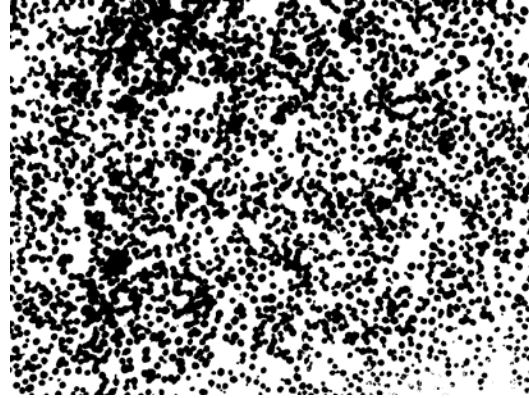
a- Photographie initiale



b- Après passage en niveaux de gris



c- Après optimisation du contraste et de la luminosité



d- Image binaire obtenue après filtrage

Figure 26 : exemple de traitement d'image permettant d'évaluer le taux de recouvrement de la surface d'un support en acier inoxydable par des microorganismes (acier 304L, isolat 3)

Les taux de recouvrement obtenus sont représentés sous la forme de graphiques « boîtes à moustaches », qui permettent de visualiser la médiane, la moyenne, le minimum, le maximum, le premier et le troisième quartiles de la série de données.

2.3.4.3 Analyse de variance (ANOVA)

L'analyse de la variance (ANalysis Of Variance) est une technique statistique qui permet de comparer les moyennes de plusieurs populations. Elle permet de déterminer si les différences de moyenne entre plusieurs populations sont statistiquement significatives.

Soit p le nombre d'échantillons (ou de conditions expérimentales) et n le nombre de mesures par échantillon. Toutes les mesures peuvent être présentées sous la forme d'une matrice $X = (x_{ij})_{1 \leq i \leq n, 1 \leq j \leq p}$.

La moyenne générale de toutes les valeurs est notée \bar{x} :
$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^p x_{ij}}{np}$$

La moyenne des valeurs obtenues sur l'échantillon j est notée $\bar{x}_{.j}$:
$$\bar{x}_{.j} = \frac{\sum_{i=1}^n x_{ij}}{n}$$

L'écart total e_T d'une valeur à la moyenne générale \bar{x} est égal à :

$$e_T = x_{ij} - \bar{x} = \underbrace{(x_{ij} - \bar{x}_{.j})}_{\text{écart int ra-échantillon}} + \underbrace{(\bar{x}_{.j} - \bar{x})}_{\text{écart int er-échantillons}}$$

En élevant la deuxième égalité au carré et en sommant sur i et j , après annulation des doubles produits, la relation obtenue peut s'écrire ainsi :

$$\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^p (x_{ij} - \bar{x})^2 = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^p (x_{ij} - \bar{x}_{.j})^2 + \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^p (\bar{x}_{.j} - \bar{x})^2$$

$$SCE_T = SCE_R + SCE_F$$

La somme des carrés des écarts totaux (SCE_T) se décompose exactement en la somme des carrés des écarts *intra* (Somme des Carrés des Ecarts Résiduels, SCE_R) ajoutée à la somme des carrés des écarts *inter* (Somme des Carrés des Ecarts Factoriels, SCE_F).

Pour passer aux carrés moyens (ou variances), il faut diviser les SCE par le degré de liberté. Le carré moyen total (CMT), le carré moyen résiduel (CMR) et le carré moyen factoriel (CMF) peuvent alors s'écrire :

$$\text{CMT} = \frac{\text{SCE}_T}{pn-1} ; \text{CMR} = \frac{\text{SCE}_R}{p(n-1)} ; \text{CMF} = \frac{\text{SCE}_F}{p-1}$$

Le rapport entre le Carré Moyen Factoriel (inter-échantillons) et le Carré Moyen Résiduel (intra-échantillon) est noté F.

$$F = \frac{\text{CMF}}{\text{CMR}}$$

La valeur de ce rapport F est comparée à celle d'une table de Fisher- Snedecor, tableau à double entrée avec pour numérateur (p-1) et pour dénominateur p(n-1), ce qui permet de déterminer des différences statistiquement significatives entre les moyennes \bar{x}_j des échantillons avec un certain niveau de confiance.

Un tableau d'ANOVA indique les trois sommes des carrés des écarts (SCE_T , SCE_R et SCE_F), les degrés de liberté, les carrés moyens (ou variances) inter- et intra-échantillons (CMF et CMR), leur rapport F et la probabilité p que la valeur de F soit dépassée. Ces différents paramètres peuvent être calculés manuellement ou à l'aide d'un logiciel de statistique. Dans cette étude, l'analyse de variance a été effectuée à l'aide du logiciel Statgraphics.

2.3.5 Mesure de E_{corr} en présence d'un consortium microbien

Un réacteur électrochimique comportant plusieurs entrées est stérilisé par autoclavage durant 20 minutes à 121°C. La suspension du consortium bactérien en bouillon nutritif est ensuite introduite dans le réacteur placé sous agitation magnétique. Les échantillons d'acier inoxydable (de type « électrochimie en laboratoire » et préparés suivant le protocole de nettoyage utilisé lors des expériences d'adhésion statique) sont fixés sur les entrées du réacteur. L'électrode de référence au calomel saturé (ECS) est nettoyée avec un mélange v/v d'eau distillée et d'éthanol, puis laissée 5 minutes dans une solution de Mucocit[®]. Elle est ensuite soit introduite directement dans le réacteur, soit introduite dans une allonge stérile contenant de l'eau distillée saturée en KCl et plongeant dans le milieu de culture. L'étanchéité du réacteur est assurée par du coton cardé laissant passer l'oxygène mais empêchant la contamination du milieu par des microorganismes de l'air ambiant.

La mesure du potentiel de corrosion libre est assurée par un multiplexeur HP Agilent 34970A. La température de la pièce est contrôlée et fixée à 20°C. La figure 27 présente une photographie du montage expérimental.

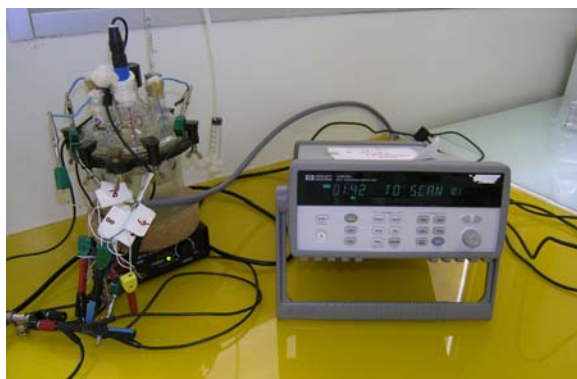


Figure 27 : photographie du montage expérimental utilisé pour mesurer le potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier inoxydable dans une suspension microbienne

Pour certaines manipulations, un bullage d'air stérile est mis en place dans le réacteur. Il est assuré par une pompe envoyant dans un tuyau (stérilisé à l'autoclave) de l'air stérilisé par deux filtres Ø 0,2 µm successifs.

2.3.6 Techniques d'analyse des couches d'oxydes

2.3.6.1 Spectroscopie de photoélectrons (XPS)

Cette technique a été utilisée pour caractériser la couche d'oxydes des aciers inoxydables 304L et 254SMO dans le cadre du modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase ». Le principe de l'XPS est détaillé dans l'annexe n°7.

a) Appareillage

Le spectromètre qui a été utilisé est de type VG Escalab 220 iXL (figure 28). La source X est la raie K α de l'aluminium non monochromatée. Son énergie incidente est de 1486,6 eV. La puissance employée est de 20 mA * 15 V = 300 W. La pression dans la chambre d'analyse est d'environ 10⁻¹⁰ mbar.

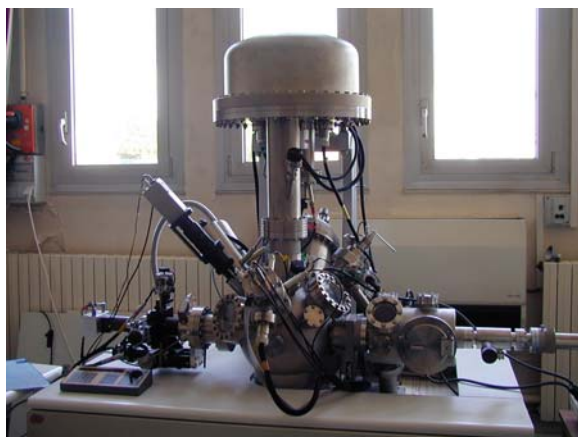
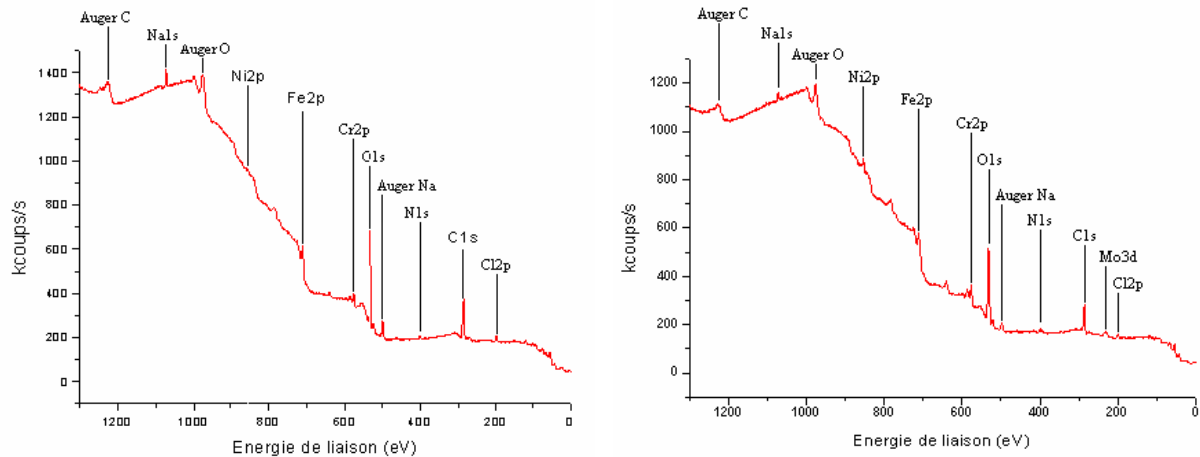


Figure 28 : photographie du spectromètre XPS utilisé dans ce travail (laboratoire LRSI, CEA Saclay)

b) Acquisition des spectres

➤ Spectre général

Que ce soit sur un échantillon d'acier 304L ou sur un échantillon d'acier 254SMO, les deux pics principaux sont les pics du C1s et du O1s (figure 29). Les pics de Cl2p, Cr2p, Fe2p, Ni2p, N1s et Na1s sont aussi visibles dans les deux cas. Les échantillons de 254SMO, contenant 6 % en masse de molybdène, donnent en plus le pic du Mo3d.



a- Acier 304L

b- Acier 254SMO

Figure 29 : spectre général obtenu sur des échantillons d'acier 304L et 254SMO témoins (immergés pendant 24 heures dans l'eau de rivière artificielle)

Le choix a été fait d'acquérir de façon plus fine les pics obtenus sur le spectre général. Les pics étudiés sont indiqués dans le tableau 8.

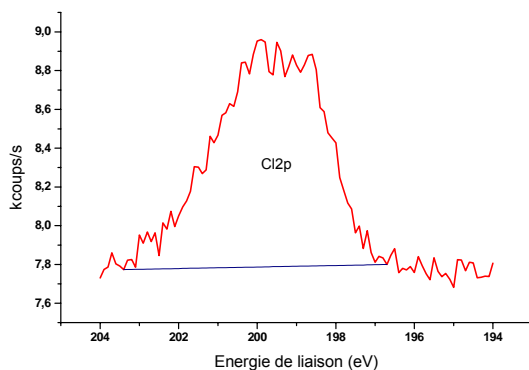
Spectre	Général	Cl1s	Cr2p	Fe2p	Mo3d	Ni2p	O1s	S2p	N1s	Cl2p
Gamme d'énergie (eV)	0-1300	274-294	570-595	700-740	223-240	848-888	522-542	157-171	393-404	194-204
Pas (eV)	1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Tableau 8 : spectres enregistrés lors d'une acquisition

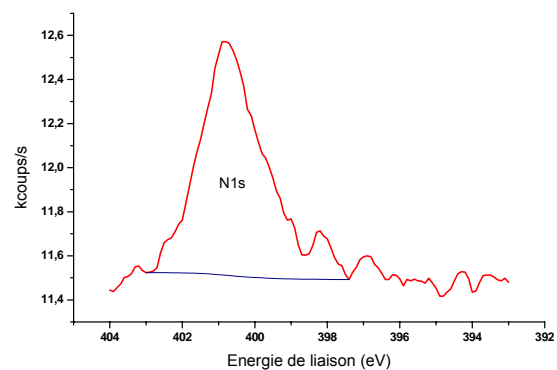
Les spectres individuels de chaque élément sont présentés ici en trois catégories distinctes, en fonction du type de traitement des données qui sera effectué par la suite.

➤ Spectres de Cl2p, N1s, Ni2p et S2p

L'allure de ces spectres est donnée sur la figure 30, dans le cas d'un échantillon de 254SMO « témoin » immergé pendant 24 heures dans l'eau de rivière artificielle.



Cl 2p



N 1s

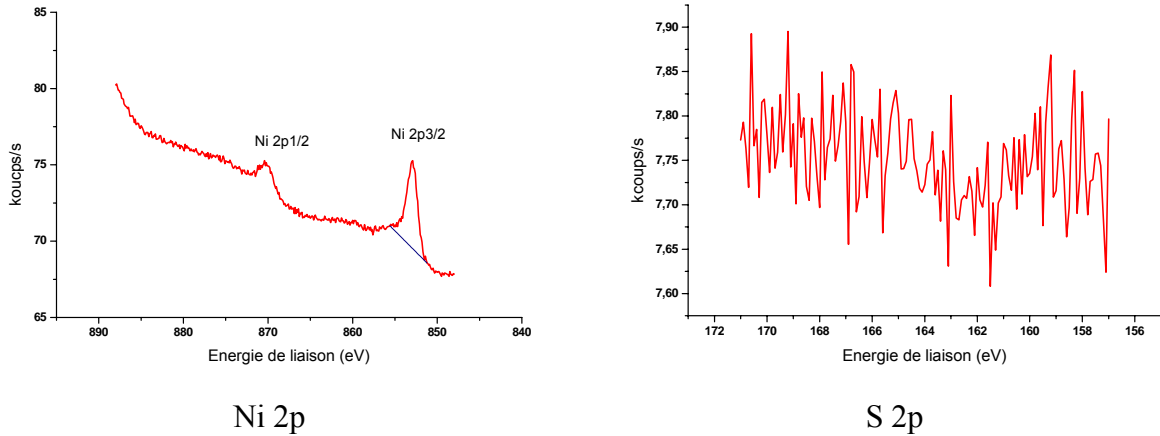


Figure 30 : spectres de Cl2p, N1s, Ni2p et S2p sur un échantillon « témoin » de 254SMO

Cl provient de la solution. Son unique pic Cl2p est situé à environ 200 eV.

N et Ni sont des éléments de l'alliage. Le pic de N1s est situé autour de 398 eV. Le spectre de Ni 2p est constitué de 2 pics, correspondant aux orbitales 2p_{1/2} et 2p_{3/2}. Le pic le plus intense est Ni 2p_{3/2} autour de 853 eV, il sera utilisé pour la quantification. (Remarque : sur le spectre du Ni2p_{3/2} de la figure 30, la ligne de base utilisée est linéaire, uniquement dans le but d'illustrer les différents types de lignes de base, cf. § c))

S peut apparaître dans l'acier inoxydable sous forme d'inclusions. Le spectre de S2p ne présente aucun pic. Ce résultat a été trouvé sur tous les échantillons. La conclusion est qu'aucun échantillon ne contient de soufre en surface, ou du moins que la teneur en soufre est sous la limite de détection de l'appareil. Le spectre de S2p ne sera donc plus évoqué par la suite.

➤ Spectres de C1s et O1s

L'allure de ces spectres est donnée sur la figure 31, dans le cas du même échantillon de 254SMO « témoin » immergé 24 heures en eau de rivière artificielle.

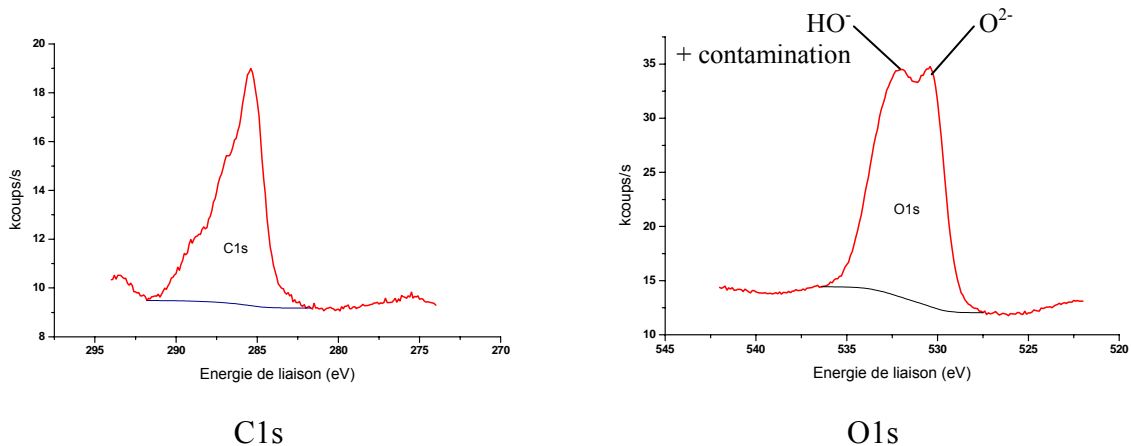


Figure 31 : spectres de C1s et O1s sur un échantillon « témoin » de 254SMO

Le carbone est un élément des deux alliages. Vu la concentration, il est cependant plus probable que le carbone détecté soit d'origine atmosphérique, c'est-à-dire qu'il s'agit certainement d'une contamination par contact avec l'air ambiant du laboratoire. En solution enzymatique, le carbone pourra aussi provenir d'une adsorption de l'enzyme sur la surface de l'échantillon. Le pic C1s est situé à environ 285,5 eV.

L'oxygène fait partie des oxydes et des hydroxydes constituant la couche passive des aciers inoxydables. Il peut aussi être présent dans une couche de molécules organiques adsorbées sur la surface, ces molécules pouvant être les molécules organiques ajoutées en solution ou des molécules provenant d'une contamination par l'environnement du laboratoire. Le pic de O1s est localisé autour de 531 eV.

➤ Spectres de Cr2p, Fe2p et Mo3d

L'allure de ces spectres est donnée sur la figure 32, dans le cas du même échantillon de 254SMO « témoin » immergé 24 heures en eau de rivière artificielle.

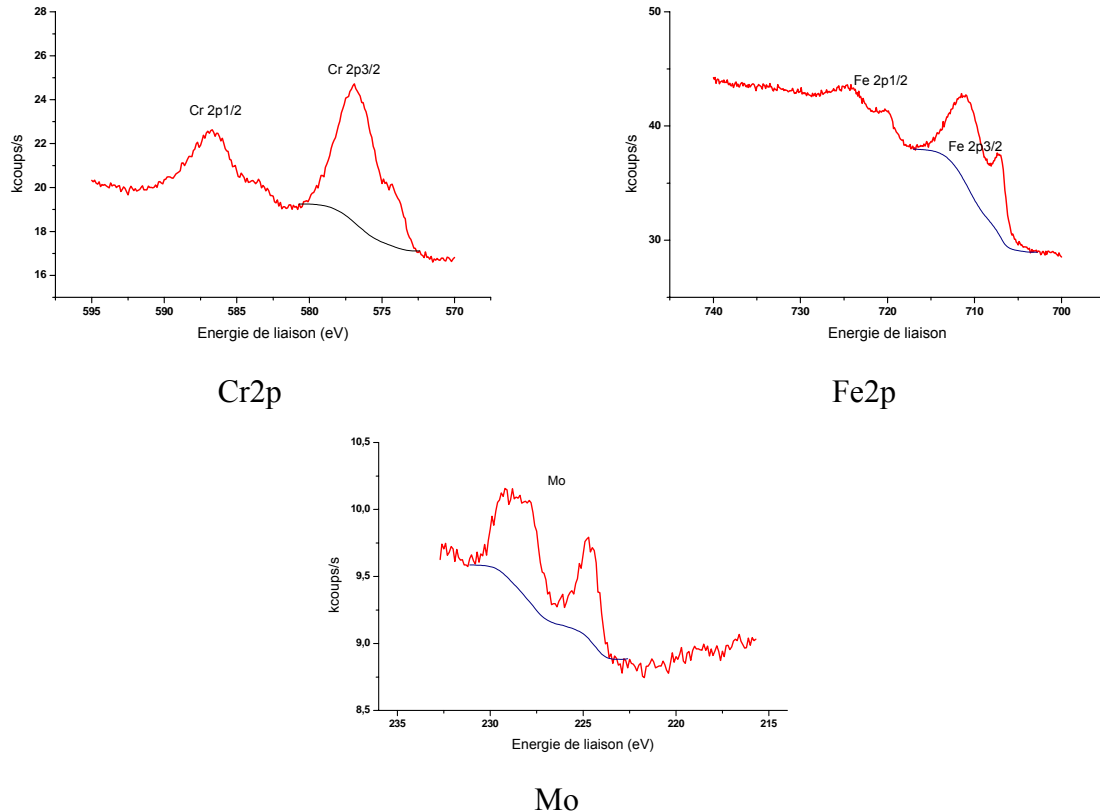


Figure 32 : spectres de Cr2p, Fe2p et Mo sur un échantillon « témoin » de 254SMO

Le chrome et le fer font partie des éléments d'alliage du 304L et du 254SMO. Les deux spectres sont constitués chacun de 2 pics, correspondant aux orbitales $2p_{3/2}$ et $2p_{1/2}$. Le pic le plus intense est le pic $2p_{3/2}$, qui se situe vers 577 eV pour le chrome et vers 710 eV pour le fer. Le molybdène est détecté sur le 254SMO entre 226 et 238 eV. Le 304L ne contient pas de molybdène.

c) Traitement des données

Le traitement des spectres a été effectué à l'aide du logiciel Advantage. Le but est soit de simplement calculer l'aire sous un pic afin de quantifier l'élément correspondant, soit de procéder à une recombinaison du spectre afin de séparer les différentes composantes de l'élément (par exemple, séparer la composante métallique des composantes oxydées).

➤ Calcul de l'aire d'un pic

Pour calculer l'aire d'un pic, il suffit de définir une ligne de base, puis de calculer la différence entre l'intégrale de la courbe expérimentale et l'intégrale de la ligne de base.

Il existe trois méthodes pour définir une ligne de base. Une ligne de base linéaire peut être employée, toutefois elle est très sensible à la définition des bornes de l'intervalle considéré (figure 30, spectre de Ni2p_{3/2}). La méthode de Shirley consiste à définir une ligne de base en forme de S, dont l'intensité est proportionnelle en tout point à l'ordonnée du pic. C'est la méthode qui a été choisie dans ce travail (figure 31, spectre de O1s). Il faut enfin évoquer la méthode de Tougaard, plus complexe, qui prend en compte la perte d'énergie cinétique (par choc inélastique) des électrons provenant des zones profondes de l'épaisseur analysée.

Une fois la ligne de base définie, le calcul de l'aire de la surface comprise entre la courbe du pic et la ligne de base est réalisé par le logiciel de traitement. Cette aire, corrigée par le facteur de sensibilité (de type Scofield dans ce travail) et par le facteur de transmission, est rapportée au total des aires des pics des différents éléments présents, ce qui permet de quantifier chaque élément et d'avoir une composition relative de l'épaisseur analysée. Un facteur de sensibilité relatif à l'élément étudié doit être pris en compte. Il représente la probabilité d'ionisation et dépend de l'élément et de l'orbitale considérée. Il est défini par rapport au carbone (facteur de sensibilité du carbone égal à 1).

Cette méthode est suffisante pour connaître la composition relative de la surface de l'échantillon et a été utilisée pour traiter les pics de Cl2p, N1s, Ni2p et S2p. Toutefois, elle ne permet pas de séparer les différentes composantes d'un pic. Pour cela, il faut procéder à la recombinaison des spectres.

➤ Recombinaison des spectres

Afin de déterminer les différentes formes chimiques de chaque élément, il est nécessaire de recourir à une recombinaison mathématique des pics. Le pic d'un élément est généralement la somme de plusieurs composantes proches en énergie : en effet, des différences dans l'état d'oxydation de l'atome ou dans son environnement chimique entraînent l'apparition de pics proches mais distincts. Le principe de recombinaison spectrale consiste à tracer tous les pics caractéristiques de l'élément considéré dont l'énergie est tabulée, de calculer leur somme, de tracer l'enveloppe et d'ajuster les composantes jusqu'à avoir une enveloppe aussi proche que possible de la courbe expérimentale. Le résidu est la différence entre la courbe expérimentale et l'enveloppe de la recombinaison. Lorsque le résidu tend vers zéro, la recombinaison est considérée comme correcte.

Dans ce travail, les spectres du carbone, de l'oxygène, du fer, du chrome et du molybdène ont été recomposés pour certains échantillons. Les quantifications sont toutefois réalisées à partir du calcul des aires sous les pics, comme pour les autres éléments.

- Carbone

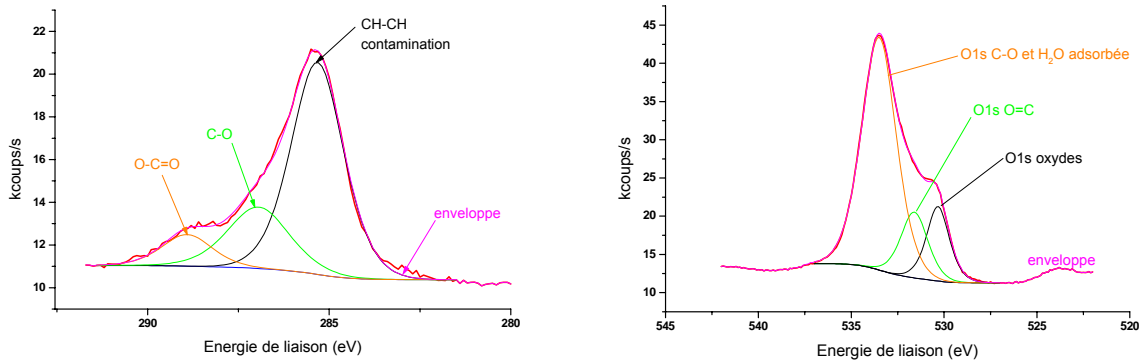
La recombinaison du spectre du C1s met en évidence 3 composantes correspondant à 3 types de liaisons chimiques mettant en jeu le carbone (figure 33-a).

La première composante est caractéristique des liaisons CH-CH de molécules organiques adsorbées à la surface et est observable vers 285,3 eV. La deuxième composante correspond aux liaisons C-O et est visible autour de 287 eV. La troisième composante est trouvée à 288,9 eV et correspond aux liaisons de type O-C=O.

Ces trois composantes mettent en évidence une pollution provenant de l'air ambiant du laboratoire. Cette pollution peut aussi découler de la préparation de surface des échantillons, en particulier du polissage.

Une composante à 288 eV due aux liaisons peptidiques $H_2N-C=O$ est attendue lorsque la solution contient une enzyme. De nouvelles liaisons C-O dues à l'enzyme peuvent contribuer au pic à 287 eV.

Pour la quantification, un simple calcul d'aire de pic a été effectué.



a- C1s

b- O1s

Figure 33 : recompositions des spectres du niveau 1s du carbone (échantillon d'acier 254SMO immergé dans une solution de H_2O_2 à 10 mmol/L) et du niveau 1s de l'oxygène (échantillon d'acier 254SMO immergé dans la solution « réactifs enzymatiques », pic des OH adsorbés proche de zéro, faible pic des oxydes)

- Oxygène :

La recomposition du spectre de O1s met en évidence 3 composantes (figure 33-b).

La première composante est caractéristique des liaisons de type oxydes et se situe vers 530,2 eV. La deuxième correspond aux liaisons C=O et est visible à 531,6 eV. La troisième composante est localisée à 533,5 eV ; les liaisons C-O (visibles à 287 eV sur le spectre du C1s) et les molécules d' H_2O adsorbées sur la surface en sont responsables.

Une composante à 531,5 eV due aux liaisons peptidiques $H_2N-C=O$ est attendue lorsque la solution contient une enzyme.

Pour la quantification, un simple calcul d'aire de pic a été effectué.

- Molybdène

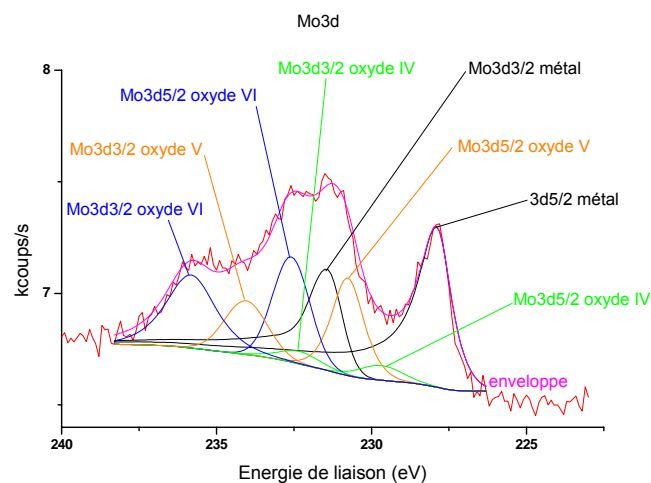


Figure 34 : recomposition du spectre du niveau 3d du molybdène (échantillon d'acier 254SMO immergé dans la solution « réactifs enzymatiques »)

La recomposition du spectre de Mo3d met en évidence 8 composantes (figure 34).

La première composante (227,9 eV) correspond à Mo3d_{5/2} du Mo métal, la deuxième (229,7 eV) à Mo3d_{5/2} de l'oxyde de Mo(IV) (très peu visible en général), la troisième (230,8 eV) à Mo3d_{5/2} de l'oxyde de Mo(V), la quatrième (231,4 eV) à Mo3d_{3/2} du Mo métal, la cinquième (232,4 eV) à Mo3d_{3/2} de l'oxyde de Mo(IV), la sixième (232,7 eV) à Mo3d_{5/2} de l'oxyde de Mo(VI), la septième (234,1 eV) à Mo3d_{3/2} de l'oxyde de Mo(V), et la huitième (235,8 eV) à Mo3d_{3/2} de l'oxyde de Mo(VI).

Cette recomposition est assez complexe. Pour la quantification, un simple calcul d'aire de pic a été effectué.

- Chrome

Le traitement du spectre du Cr2p_{3/2} n'est pas à proprement parler une recomposition (figure 35-a). Une recomposition parfaite, identifiant les différents types d'oxydes et d'hydroxydes, n'a pas été nécessaire. La séparation a été faite simplement entre le pic du métal et le pic global des oxy-hydroxydes de chrome. Un premier pic correspondant parfaitement au pic du métal a été tracé, et il a été conservé par la suite lors de tous les traitements des spectres du Cr2p_{3/2}, toutes ses propriétés (largeur à mi-hauteur, rapport lorentzien/gaussien), et en particulier ses propriétés d'asymétrie, étant fixées toujours à la même valeur. L'aire du pic du métal donne la composition relative en Cr métal et l'aire de l'autre pic la composition relative en oxy-hydroxydes de Cr. Par la suite, le terme « oxydes de Cr » sera générique et désignera l'ensemble des oxydes et des hydroxydes de Cr, toutes valences confondues. Les trois composantes « Cr2p_{3/2} oxydes » de la figure 35-a ne correspondent pas à une nature précise d'oxyde de chrome mais servent juste à déterminer l'aire globale du pic « oxyde » (complexité à différencier les différentes espèces).

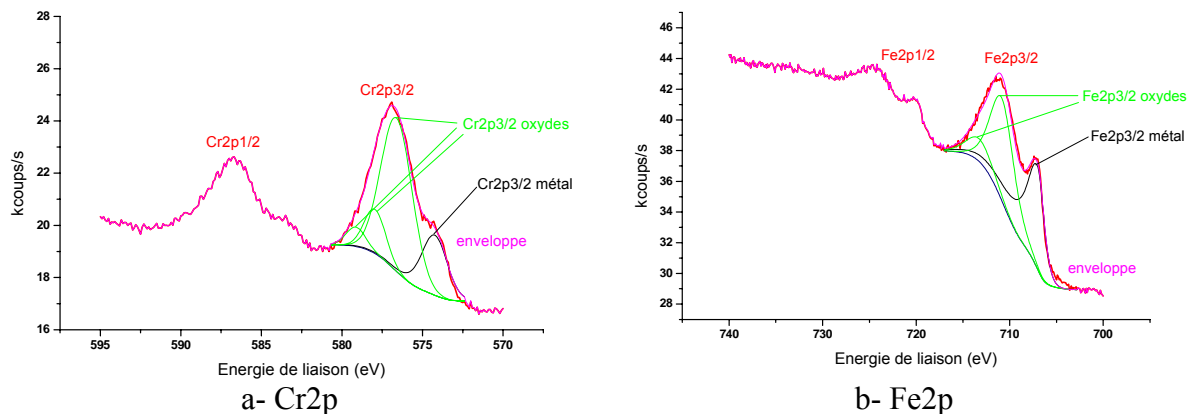


Figure 35 : recomposition des spectres du niveau 2p du chrome et du niveau 2p du fer (échantillon d'acier 254SMO immergé en eau de rivière artificielle)

- Fer

Comme pour le Cr, le traitement du spectre du Fe2p_{3/2} n'est pas une vraie recomposition (figure 35-b). Le pic du métal d'une part et l'ensemble des pics correspondant aux oxydes et hydroxydes de fer d'autre part sont séparés. Les paramètres du pic du métal sont définis sur un échantillon témoin, et sont par la suite toujours fixés aux mêmes valeurs, en particuliers les paramètres d'asymétrie. L'aire des deux surfaces ainsi définies donne l'information de la composition relative en Fe métal d'une part, en oxy-hydroxydes de Fe toutes valences confondues d'autre part. Les oxy-hydroxydes de fer seront désignés par la suite sous le terme générique « oxydes de Fe ».

tel-00141130, version 1 - 11 Apr 2007

➤ Quantification

Pour chaque échantillon analysé, deux quantifications ont été réalisées :

- Une quantification relative portant sur tous les éléments présents
- Une quantification relative ne prenant en compte que le chrome et le fer, afin d'étudier plus précisément l'évolution de la teneur en ces deux éléments.

2.3.6.2 Photoélectrochimie

La photoélectrochimie est une technique de caractérisation des matériaux à propriétés semi-conductrices très utilisée pour l'analyse de couches d'oxydes (en particulier pour les films passifs anodiques et thermiques). Elle permet d'accéder au type de semi-conduction (n ou p) de l'oxyde et donne la largeur de bande interdite (énergie de gap E_g), qui est une véritable « signature de l'oxyde ». Une brève présentation de la photoélectrochimie est disponible en annexe n°8.

Cette technique a été utilisée pour caractériser l'évolution de la couche d'oxydes des aciers inoxydables 304L et 254SMO dans des solutions enzymatiques (glucose-oxydase + glucose). Les mesures de micro- et macro-photoélectrochimie ont été réalisées au laboratoire LTPCM de l'ENSEEG à Grenoble.

a) Macro-photoélectrochimie (PEC)

Une lampe à arc Xénon (1000W, Müller LAX 1000, $220 \text{ nm} < \lambda < 1100 \text{ nm}$) est utilisée pour éclairer toute la surface de l'échantillon. La réponse en photocourant de la couche passive formée peut être enregistrée soit en fonction du potentiel appliqué aux échantillons, soit en fonction de la longueur d'onde utilisée pour illuminer l'échantillon. Cette technique de caractérisation non destructive permet d'accéder à différents types d'information comme le type de semi-conduction (n ou p) de la couche passive, ou encore les différentes contributions en photocourant apportées par les oxydes présents dans la couche passive.

Le montage utilisé pour la PEC est un montage classique utilisant le plus souvent la technique de détection synchrone ou *lock-in*. Un schéma du dispositif expérimental est visible sur la figure 36-a. La technique consiste à moduler à fréquence réglable l'intensité lumineuse arrivant sur l'électrode de travail à l'aide d'un hacheur mécanique (197, EGG Instruments, domaine de fréquences 15Hz-3kHz). Cette modulation lumineuse provoque des variations du photocourant à la même fréquence. La mesure de l'amplitude de ces variations et de leur déphasage par rapport au signal de référence délivré par le hacheur est réalisée par une détection synchrone (EGG PAR modèle 5208), dont le signal d'entrée est relié à la sortie courant non filtrée du potentiostat (EGG PAR modèle 273A/92).

Un monochromateur à réseau (240 nm ou 500 nm, 1200 rainures/mm, EGG PAR modèle 1235) permet d'étudier la dépendance du photocourant en fonction de l'énergie lumineuse dans le domaine spectral 220-700 nm avec une résolution spectrale, compte tenu des fentes d'entrée et de sortie utilisées (0,6 mm), inférieure à 2 nm.

Les différentes optiques utilisées (lentilles, optiques de lampes, fond de la cellule électrochimique) sont en quartz et permettent ainsi de travailler dans le proche ultraviolet.

Les sources lumineuses, monochromateur, optiques diverses, cellule photoélectrochimique et plus particulièrement l'électrode de travail, sont précisément positionnées sur le banc optique

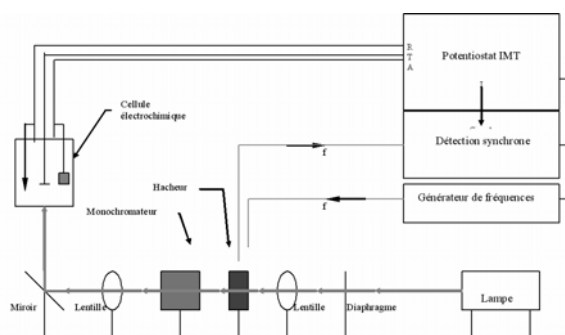
de façon à contrôler de manière reproductible le flux lumineux, ainsi que la surface éclairée au niveau de l'échantillon.

Le contrôle de tous les appareils, mis à part la source lumineuse, et l'acquisition des données sont réalisées par micro-ordinateur à l'aide de liaisons GPIB et d'un logiciel spécifique développé au laboratoire LTPCM.

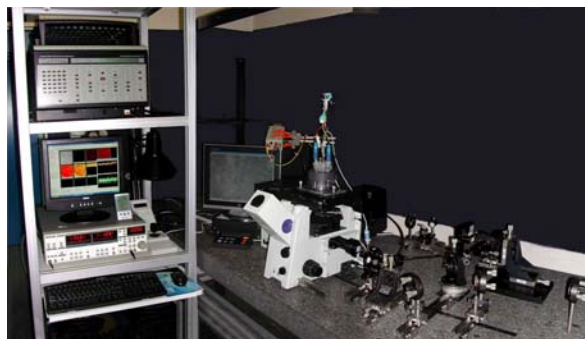
b) Micro-photoélectrochimie (μ PEC)

Le but de la μ PEC est d'étudier les phénomènes photoélectrochimiques se déroulant à la surface d'un échantillon semi-conducteur à l'échelle microscopique. Pour cela, un laser focalisé balaie la surface de l'échantillon, et la réponse locale du semi-conducteur à l'excitation lumineuse est enregistrée pour chaque point. Une image de la surface en photocourant peut alors être réalisée. Cette technique de caractérisation non destructive permet d'accéder à différents types d'information comme la localisation des différentes phases semi-conductrices présentes au sein de la couche d'oxydes par exemple.

L'ensemble du montage utilisé pour réaliser les expériences de μ PEC est présenté sur la figure 36. L'échantillon constitue l'électrode de travail d'une cellule électrochimique classique à trois électrodes. Il est polarisé par rapport à une référence dans l'électrolyte (ECS) à l'aide d'un potentiostat, afin d'imposer le sens de circulation du courant. Cet échantillon est illuminé à l'aide d'un faisceau laser focalisé à travers un objectif de microscope. Il peut être déplacé par rapport au faisceau laser à l'aide d'une platine micrométrique. Le photocourant généré sur la zone illuminée de l'échantillon est enregistré en chaque point. Une image en photocourant de la couche d'oxydes balayée est alors obtenue. Une photographie du dispositif expérimental utilisé dans cette étude est visible sur la figure 36-b.



a- Représentation schématique du banc optique de macrophotoélectrochimie



b- Montage de μ PEC

Figure 36 : montages expérimentaux de macro et microphotoélectrochimie (ENSEEG, Grenoble) [223]

2.3.6.3 Technique de Mott-Schottky

a) Principe

Les orbitales moléculaires des électrons dans un solide cristallin sont tellement proches en énergie qu'elles forment des bandes continues. Les orbitales remplies sont dites « liantes » et constituent la bande de valence, et les orbitales vides sont dites « antiliantes » et constituent la bande de conduction. Ces deux bandes sont séparées par une région interdite d'une largeur énergétique E_g (énergie de gap) de l'ordre de quelques eV. La valeur de E_g permet de distinguer trois types de matériaux, les conducteurs électriques (métal par exemple), les isolants et les semi-conducteurs. Comme il a été précisé dans le chapitre 1 (§1.3.4), les films

passifs d'acier inoxydable sont considérés à l'heure actuelle comme des semi-conducteurs. La théorie des semi-conducteurs est détaillée dans l'annexe n°3.

Les diagrammes de Mott-Schottky permettent de connaître les propriétés électroniques du film passif par des mesures de capacité.

Dans le modèle de la double couche électrique de Stern et Geary, la capacité totale mesurée peut s'écrire selon la relation (49) :

$$C^{-1} = C_{ox}^{-1} + C_H^{-1} + C_{GC}^{-1} \quad (49)$$

où C_{ox} est la capacité de la couche d'oxydes (film passif), C_H la capacité de la couche compacte de Helmholtz, et C_{GC} la capacité de la couche diffuse de Gouy-Chapman. Ces deux derniers termes peuvent être regroupés dans C_{dl} , capacité de la double couche électrique :

$$C^{-1} = C_{ox}^{-1} + C_{dl}^{-1} \quad \text{avec } C_{dl}^{-1} = C_H^{-1} + C_{GC}^{-1}$$

Lorsqu'une des deux capacités C_{ox} ou C_{dl} est négligeable devant l'autre, la capacité équivalente aux deux capacités reliées en série est égale à la plus faible des deux capacités. La capacité C_{dl} de la double couche est généralement très supérieure à la capacité de la couche d'oxydes, et la capacité mesurée est alors égale à C_{ox} :

$$C_{dl} \gg C_{ox} \Rightarrow C = C_{ox} \quad (50)$$

Le film passif étant un semi-conducteur, la capacité de la couche d'oxydes est égale à la capacité de la couche de charges d'espace C_{SC} (semi-conducteur). La capacité C_{SC} peut être calculée à l'aide de l'équation de Mott-Schottky [224] :

$$C_{SC}^{-2} = \frac{2}{\epsilon\epsilon_0 e N_q S^2} \left(U_{fb} - E + \frac{k_B T}{e} \right) \quad (51)$$

où N_q est la densité des porteurs de charge, ϵ la constante diélectrique du film passif, ϵ_0 la permittivité du vide (environ $8,8542 \cdot 10^{-12} \text{ F.m}^{-1}$), e la charge élémentaire ($-1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}$ pour les électrons, $1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}$ pour les trous), S la surface de l'électrode en contact avec l'électrolyte (surface utile), U_{fb} le potentiel de bandes plates (cf. annexe n°3), E le potentiel appliqué à l'électrode et k_B la constante de Boltzmann (environ $1,3806 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$).

Ainsi, une courbe expérimentale $C^{-2}(E)$ doit comporter des portions linéaires (cf. figure 16, chapitre 1). Sur chaque portion linéaire :

- le signe de la pente permet de connaître le type de semi-conductivité : type n si la pente est positive, type p si la pente est négative ;
- la valeur de la pente permet de déterminer la densité de porteurs de charge N_q ;
- l'abscisse du point d'intersection entre la courbe $C^{-2}(E)$ et l'axe des abscisses est à peu près égale au potentiel de bandes plates U_{fb} (en négligeant le terme d'énergie thermique $k_B T$).

L'épaisseur de la couche de charges d'espace W peut être calculée à l'aide de l'équation (52) :

$$W = \frac{\epsilon\epsilon_0}{C(\max)} \quad (52)$$

où $C(\max)$ est égal à la valeur de capacité au maximum de la courbe $C^{-2}(E)$.

b) Protocole expérimental

Le balayage en potentiel se fait depuis les potentiels anodiques (généralement +300 mV/ECS pour l'acier 304L, +700 mV/ECS pour l'acier 316L, +800 mV/ECS pour l'acier 254SMO)

dans la direction des potentiels cathodiques (-1,2 V/ECS généralement). Le pas en potentiel dépend de l'expérience.

Les fréquences d'acquisition choisies dans la littérature sont très variées et comprises entre 15,8 Hz [175] et 6,31 kHz [73]. La capacité mesurée varie avec la fréquence d'acquisition. Certains auteurs montrent que les propriétés électroniques du film passif (valeurs de C , de W , de N_q , de U_{fb}) ne dépendent pas de la fréquence entre 600 Hz et 6 kHz [73]. D'autres indiquent des variations de la capacité avec la fréquence non négligeables [175]. Le choix de la fréquence est primordial dans la technique de Mott-Schottky ; c'est l'une de ses principales limitations. La fréquence d'acquisition choisie dans ce travail est 1580 Hz, qui est la valeur la plus communément utilisée.

L'autre limitation de la technique de Mott-Schottky est lié au comportement capacitif des films passifs. En effet, les diagrammes d'impédance montrent de façon générale que la partie imaginaire de l'impédance d'un film passif n'est pas celle d'une capacité idéale. La capacité varie avec la fréquence. Un comportement non-idéal de type CPE (Constant Phase Element) est trouvé dans la plupart des cas, mais d'autres modèles peuvent aussi rendre compte de la variation de la capacité avec la fréquence. Par exemple, le modèle de Young, qui décrit l'impédance du film d'oxydes comme un assemblage en série infini de circuits RC parallèles suivant la normale à la surface, introduit une variation verticale de la conductivité électronique au sein du film (compatible avec la distribution de plusieurs oxydes dans l'épaisseur de la couche) [174, 175, 225]. Dans tous les cas, le comportement du film d'oxydes n'est pas celui d'une capacité idéale. Il paraît donc risqué de tirer directement des valeurs de capacité avec l'équation de Mott-Schottky, qui se fonde sur une vraie capacité indépendante de la fréquence.

Le comportement capacitif de la couche d'oxydes doit impérativement être étudié à l'aide de la spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) sur une large plage de fréquences. La méthode de Mott-Schottky est toutefois intéressante, car elle permet d'évaluer rapidement et assez facilement des variations relatives des propriétés électroniques du film d'oxydes dans différents environnements.

Dans la littérature, la valeur de la constante diélectrique ϵ du film passif d'un acier inoxydable varie entre 12 [153, 226, 227] et 15,6 [164, 228]. ϵ varie de toute évidence avec la stoechiométrie des différents oxydes de la couche passive. Dans ce travail, la constante diélectrique a été fixée à 12.

2.3.7 Techniques électrochimiques en laboratoire

Les techniques électrochimiques utilisées en laboratoire sont la mesure du potentiel de corrosion libre E_{corr} , la spectroscopie d'impédance électrochimique, la mesure d'impédance locale, les courbes de polarisation anodique et cathodique, la chronoampérométrie potentiostatique et la chronopotentiométrie galvanostatique.

Les mesures électrochimiques en laboratoire ont été réalisées dans des cellules électrochimiques classiques à trois électrodes. Les potentiostats utilisés sont de la marque Radiometer (PGZ 100, 301 et 402) et de la marque Gamry Instruments. La contre-électrode est une grille de titane platiné et la référence est toujours une électrode au calomel saturé (notée $Hg_2Cl_2(s)/Hg(l)$ ou ECS), dont le potentiel par rapport à l'ENH est d'environ +240 mV. Les expériences sont réalisées à température ambiante.

2.3.7.1 *Mesure du potentiel de corrosion libre E_{corr}*

La définition du potentiel de corrosion libre E_{corr} est donnée dans l'annexe n°1. La valeur de E_{corr} est fonction à la fois du courant anodique et du courant cathodique. Une évolution de E_{corr} ne permet pas de dire si la modification provient de la réaction anodique ou de la réaction cathodique. C'est toutefois une valeur facile à mesurer et qui apporte des informations sur l'évolution globale des deux réactions.

Le potentiel d'un métal est toujours mesuré par rapport à une référence. La référence internationale est l'électrode normale à hydrogène (ENH), dont le potentiel est pris par définition égal à zéro. Les électrodes couramment utilisées en laboratoire sont l'électrode au calomel saturé (ECS), dont le potentiel est égal à 240 mV/ENH environ, et l'électrode au sulfate mercurique (ESM), dont le potentiel est égal à +650 mV/ENH environ.

Dans ce travail, toutes les mesures de E_{corr} effectuées au laboratoire ont été faites à l'aide d'électrodes au calomel saturé. Tous les potentiels sont indiqués par rapport à l'ECS. Les suivis du potentiel de corrosion libre durent 24 heures (avant l'ajout des enzymes) ou 48 heures (après l'ajout des enzymes) - ce qui est nécessaire pour atteindre des valeurs de potentiel stationnaires – avec une fréquence d'acquisition d'une minute.

2.3.7.2 *Spectroscopie d'impédance électrochimique*

a) Principe

La spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS en anglais) est employée pour mieux appréhender de nombreux problèmes : revêtements protecteurs contre la corrosion, modèles de passivation... Elle permet de connaître le nombre de processus différents qui ont lieu à l'interface électrolyte/matériau et de les étudier séparément.

Le principe de l'EIS potentiostatique est d'imposer à l'électrode un potentiel constant E_0 modulé par une oscillation périodique $\delta E(t)$ (généralement sinusoïdale), et d'enregistrer la réponse en courant du système $\delta I(t)$. Le principe de l'EIS galvanostatique est d'imposer à l'électrode une densité de courant constante I_0 modulée par une oscillation périodique $\delta I(t)$ (généralement sinusoïdale), et d'enregistrer la réponse en potentiel $\delta E(t)$. La spectroscopie d'impédance est pratiquée dans ce travail en mode potentiostatique et en utilisant une modulation en potentiel sinusoïdale de pulsation ω .

L'amplitude de $\delta E(t)$ doit être faible afin de rester dans un domaine pseudo-linéaire. En régime linéaire ou pseudo-linéaire, la réponse à la tension sinusoïdale sera une sinusoïde de même fréquence, mais présentant un déphasage φ . Les signaux $\delta E(t)$ et $\delta I(t)$ peuvent être écrits comme la partie réelle de nombres complexes :

$$\begin{aligned}\delta E(t) &= \delta E_0 \cos(\omega t) = \text{Re}(\delta E_0 \exp(j\omega t)) \\ \delta I(t) &= \delta I_0 \cos(\omega t - \varphi) = \text{Re}(\delta I_0 \exp(j\omega t - \varphi))\end{aligned}$$

L'impédance électrochimique Z est définie comme la fonction de transfert du signal, c'est-à-dire le rapport entre la transformée de Fourier de l'excitation en potentiel $E(\omega)$ et la transformée de Fourier de la réponse en courant $I(\omega)$. Elle est définie dans le domaine fréquentiel.

$$Z(\omega) = \frac{E(\omega)}{I(\omega)}$$

L'impédance est un nombre complexe, caractérisé par son module $|Z|$ et sa phase φ .

$$|Z| = \frac{\delta E_0}{\delta I_0}$$

$$\arg(Z) = \varphi$$

Expérimentalement, l'impédance électrochimique est mesurée sur une large plage de fréquences, typiquement depuis 100 kHz jusqu'à 1 mHz. Il existe plusieurs types de graphiques utilisés classiquement pour représenter les résultats :

- Diagramme de Nyquist : courbe paramétrée $Z(\omega)$ dans le plan complexe ;
- Diagramme de Bode : tracé du module $|Z|$ et de la phase φ en fonction du logarithme de la fréquence ;
- Tracés de $\text{Re}(Z)$ et de $\text{Im}(Z)$ en fonction du log de la fréquence.

Les mesures d'EIS peuvent entre autre permettre de déterminer le type de contrôle cinétique de la réaction électrochimique (transfert de charge ou transport de matière), de déterminer les différentes constantes de temps de plusieurs processus simultanés...

b) Protocole expérimental

Dans ce travail, la spectroscopie d'impédance électrochimique est réalisée au potentiel de corrosion libre E_{corr} , généralement dans la plage de fréquences allant de 65 kHz à 4 mHz, avec une fréquence d'acquisition de 5 points par décade. Ceci permet d'éviter d'éventuels artefacts liés à la fréquence du secteur 50 Hz. L'amplitude crête du signal sinusoïdal est de 10 mV. Les mesures d'impédance sont effectuées avant, puis 24 heures après, puis 48 heures après l'ajout des composés biochimiques ou chimiques dans la solution.

Les résultats d'impédance sont représentés sous la forme de diagrammes de Nyquist, de diagrammes de Bode et sous la forme de graphes $\log|\text{Im}(Z)| = f(\log \text{ fréquence})$. Ce type de représentation permet de mettre en évidence graphiquement le comportement capacitif du matériau [229].

2.3.7.3 Mesures d'impédance locale

a) Principe

La technique de spectroscopie d'impédance électrochimique locale (LEIS) permet de caractériser l'interface électrolyte-matériau à l'échelle microscopique. Le principe de la mesure est schématisé sur la figure 37. Une biélectrode (en argent ou en platine par exemple) est approchée de la surface du matériau. Les extrémités des deux fils métalliques sont alignées sur la normale à la surface. Le potentiel local E_{local} est évalué par la mesure de la différence de potentiel entre le fil métallique le plus proche de la surface et une référence dans l'électrolyte. Par ailleurs, la mesure de la différence de potentiel ΔE entre les deux fils métalliques permet de calculer le courant local i_{local} à l'aide de la loi d'Ohm :

$$i_{\text{local}} = \sigma \frac{\Delta E}{d} \quad (53)$$

où σ est la conductivité de l'électrolyte et d la distance entre les deux fils de la biélectrode. Le potentiel interfacial est défini comme la différence entre E_{local} et le potentiel de l'électrode $E_{\text{métal}}$. Une impédance dite « interfaciale-locale » peut être définie de la manière suivante [230, 231] :

$$Z_{\text{interfaciale locale}} = \frac{E_{\text{local}} - E_{\text{métal}}}{i_{\text{local}}} \quad (54)$$

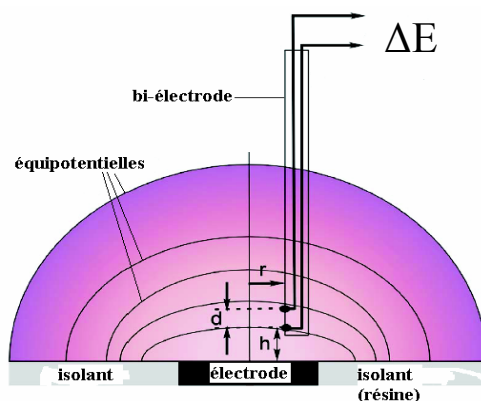


Figure 37 : représentation schématique d'une mesure d'impédance électrochimique locale (d'après [231])

b) Protocole expérimental

Les mesures d'impédance électrochimique locale ont été effectuées au laboratoire LISE de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris 6).

La bi-électrode utilisée dans cette étude est constituée de deux fils de platine de diamètre 40 μm séparés d'une distance d'environ 500 μm . Le dispositif expérimental est schématisé sur la figure 38.

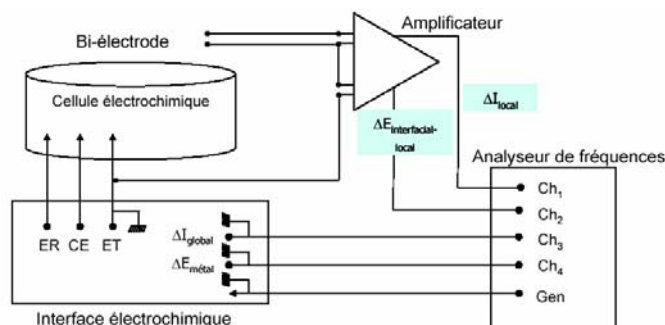


Figure 38 : schéma du dispositif expérimental utilisé pour les mesures d'impédance locale

2.3.7.4 Courbes de polarisation

Pour les courbes de polarisation cathodique, le balayage s'effectue depuis E_{corr} jusqu'à -2 V/ECS, avec une vitesse de 5 mV/s. La vitesse de balayage est un paramètre primordial d'une courbe intensité-potentiel. La vitesse choisie ici est élevée et les points obtenus ne représentent pas un état stationnaire. Toutefois, cette vitesse de balayage a été employée dans de nombreux travaux précédents [17, 73] et permet de comparer les résultats avec la littérature.

Pour les courbes de polarisation anodique, le balayage s'effectue depuis E_{corr} jusqu'à une valeur dépendant de la nuance (généralement, +800 mV/ECS pour le 304L, +1400 mV/ECS pour le 316L et +1700 mV/ECS pour le 254SMO), avec une vitesse de balayage de 0,15 mV/s (9 mV/min). Cette vitesse lente permet de comparer les courbes de polarisation anodique de cette étude avec celles de la littérature [81].

2.3.7.5 Electrode à disque tournant

Des courbes de polarisation cathodique et des chronoampérométries potentiostatiques ont été effectuées avec une électrode à disque tournant. La surface utile de l'électrode de travail en contact avec l'électrolyte est un disque de diamètre.

L'électrode de travail est fixée sur un rotateur relié à un contrôleur de vitesse. La vitesse de rotation de l'électrode est réglable, ce qui permet de contrôler la diffusion à la surface de l'échantillon des espèces dissoutes dans l'électrolyte. Cette méthode hydrodynamique permet d'atteindre rapidement un état stationnaire.

Dans le cas de l'oxygène dissous, la résolution des équations de l'hydrodynamique permet d'obtenir l'expression du courant limite de diffusion i_{lim} , appelée équation de Levich [232] :

$$i_{lim} = i_{Levich} = 0,62 \cdot \sqrt{\frac{2\pi}{60}} \cdot S \cdot nF \cdot [O_2] \cdot D(O_2)^{2/3} \cdot \nu^{-1/6} \cdot N_r^{1/2} \quad (55)$$

où S est la surface utile de l'électrode, n le nombre d'électrons de la réaction d'électrode, F la constante de Faraday (96485 C), $D(O_2)$ le coefficient de diffusion de l'oxygène dissous dans l'électrolyte, ν la viscosité cinématique et N_r la vitesse de rotation en tr/min (Round Per Minute RPM, en anglais).

Lorsque la réaction est contrôlée par le transport de matière, le courant limite de diffusion de l'oxygène dissous varie linéairement avec la raciné carrée de la vitesse de rotation.

2.3.7.6 Chronoampérométrie

Les mesures de chronoampérométrie effectuées sont complémentaires des courbes de polarisation cathodique. La vitesse de balayage de 5 mV/s utilisée pour les courbes intensité-potentiel du côté cathodique est en effet trop élevée et donne des valeurs de courant non-stationnaires. Elle permet en revanche de visualiser facilement les différentes réductions qui ont lieu. La chronoampérométrie permet au contraire de mesurer des valeurs de courant stationnaires. Cette technique a été particulièrement employée pour caractériser les deux réductions (à -450 mV/ECS et -1100 mV/ECS) trouvées dans la solution « réactifs enzymatiques ».

2.3.7.7 Chronopotentiométrie galvanostatique

L'emploi de cette technique est basé sur les travaux de Frangini *et al.* [233-235] Les tests de chronopotentiométrie galvanostatique sont réalisés à 10 $\mu A \cdot cm^{-2}$. Ils permettent de déterminer le potentiel de déstabilisation du film passif, valeur maximale de potentiel atteinte juste avant l'apparition de la corrosion localisée par piqûres [81].

Cette technique est utilisée en complément des courbes de polarisation anodique. Son atout majeur est sa courte durée, qui diminue fortement le risque de développement de la corrosion cavernueuse dans les éventuelles « cavités » se situant entre la résine et l'échantillon.

2.3.8 Analyses physico-chimiques de l'eau de rivière artificielle

2.3.8.1 Dosage de H_2O_2

La technique employée pour le dosage du peroxyde d'hydrogène en solution repose sur l'emploi de tubes Merck® (Spectroquant 14731). Dans une solution contenant de l'acide sulfurique, H_2O_2 forme avec un ester de l'acide titanique des acides peroxotitaniques (de couleur jaune), dont la concentration est dosée par photométrie.

10 mL de la solution à titrer sont introduits dans un tube contenant le réactif. Le tube est refermé, agité vigoureusement et laissé au repos pendant 3 minutes, puis l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 405 nm. Grâce à une droite d'étalonnage effectuée sur des

solutions de concentration en H_2O_2 connues, la concentration en H_2O_2 peut être calculée à partir de l'absorbance à 405 nm à l'aide de la formule de Beer-Lambert :

$$[\text{H}_2\text{O}_2](\text{mg/L}) = \frac{A(405 \text{ nm})}{0,018} \quad (56)$$

Les tubes Merck permettent de doser des concentrations en peroxyde d'hydrogène comprises entre 2 et 20 mg/L. Lorsque la concentration dépasse 20 mg/L, une dilution doit être effectuée au préalable.

2.3.8.2 *Mesure du pH*

Les mesures de pH sont faites à l'aide d'un pHmètre Radiometer Analytical PHM 210 étalonné avec les solutions tampon IUPAC.

2.3.8.3 *Mesure de la concentration en oxygène dissous*

La concentration en oxygène dissous est mesurée avec une sonde de Clark. Cette sonde plongeant dans la solution à titrer comporte une cathode en platine et une anode en argent baignant dans un électrolyte. L'électrolyte est séparé de la solution à titrer par une membrane perméable à l'oxygène dissous mais imperméable aux molécules d'eau et aux ions présents dans le milieu. La concentration en oxygène dissous est donc la même dans l'électrolyte et dans le milieu à titrer. Une tension de polarisation d'environ 0,7 V est appliquée entre les deux électrodes. L'oxygène dissous est réduit à la cathode, et le courant de réduction qui est mesuré est proportionnel à la concentration en oxygène dissous. Après un calibrage dans l'air humide saturé ou dans de l'eau distillée désoxygénée, la sonde de Clark indique directement la valeur de la concentration en oxygène dissous.

La sonde de Clark utilisée dans ce travail est un oxymètre WTW Oxi 340.

**Chapitre 3 : Etude préliminaire :
choix du protocole de traitement de surface**

3.1 Préparation de surface des échantillons

Le but de cette étude préliminaire est de trouver, pour les essais en laboratoire, une préparation de surface permettant d'avoir un état de surface stable et reproductible dans la solution d'eau de rivière artificielle.

Cinq traitements de surface différents ont été testés sur les échantillons d'acier inoxydable, afin d'étudier l'influence du traitement de surface sur l'électrochimie des échantillons et de trouver un traitement de surface approprié permettant d'obtenir une bonne reproductibilité des résultats.

Les cinq traitements de surface étudiés sont les suivants :

- « ultrasons alcool » : l'échantillon est poli graduellement à l'aide de disques abrasifs en carbure de silicium SiC (papier émeri) de finesse de grains croissante jusqu'au grade 1200, puis la finition est effectuée avec un feutre imprégné de poudre de diamant jusqu'à atteindre une rugosité dite « poli-miroir » de 1 μm . L'échantillon est nettoyé et dégraissé par passage aux ultrasons dans un bain d'éthanol entre chaque grade de polissage. Après le dernier passage aux ultrasons, l'échantillon est séché à l'aide d'un mouchoir doux et immergé rapidement (en moins d'une minute) dans l'électrolyte.
- « ultrasons eau distillée » : cette préparation de surface est la même que la précédente, en remplaçant l'éthanol par de l'eau distillée.
- « décapé HF/HNO₃ » : l'échantillon subit d'abord le traitement « ultrasons alcool », puis il est immergé 20 minutes dans un bain de décapage composé de 20% d'acide nitrique à 65% et de 20% d'acide fluorhydrique à 40%. L'échantillon est alors rincé à l'éthanol et séché à l'aide d'un mouchoir doux, puis immergé rapidement (en moins d'une minute) dans l'électrolyte de travail.
Le décapage nitro-fluorhydrique est un procédé industriel répandu qui assure la dissolution des impuretés métalliques de surface et attaque la couche métallique déchromée, ainsi que la couche d'oxy-hydroxydes surfacique. Les deux acides utilisés jouent des rôles différents. Le fluor provenant de l'acide fluorhydrique complexe le fer présent dans la couche d'oxy-hydroxydes, ce qui provoque un enrichissement en chrome au sein du film passif. Cet enrichissement en chrome entraîne une amélioration de la résistance à la corrosion par piqûres de l'alliage [236]. L'acide nitrique dissout les inclusions, en particulier les inclusions non-métalliques type MnS [237]. HNO₃ provoque aussi un enrichissement en chrome dans le film passif [238]. L'effet global du mélange HF/HNO₃ est un décapage de l'échantillon et un enrichissement en chrome du film passif en fin d'immersion dans le bain d'acide.
- « passivé 5 jours à l'air libre » : l'échantillon subit d'abord le traitement de surface « ultrasons alcool », puis il est laissé à l'air libre du laboratoire pendant 5 jours. L'échantillon est ensuite immergé dans la solution. Le film passif est formé par oxydation au contact du dioxygène de l'air.
- « décapé puis passivé 5j » : cet échantillon subit d'abord le traitement « décapé HF/HNO₃ », puis il est laissé à l'air libre du laboratoire pendant 5 jours. L'échantillon

est alors immergé dans l'électrolyte. Ce traitement de surface est une combinaison des protocoles « décapé HF/HNO₃ » et « passivé 5 jours à l'air libre ».

Trois types de mesures électrochimiques sont mis en oeuvre pour évaluer l'effet de l'état de surface sur l'électrochimie des échantillons dans l'eau de rivière artificielle : mesure du potentiel de corrosion libre E_{corr} , spectroscopie d'impédance électrochimique et mesure des propriétés semi-conductrices par la technique de Mott-Schottky. De plus, l'énergie de surface des aciers est mesurée pour les différents traitements de surface.

3.2 Influence de la préparation de surface sur l'évolution de E_{corr} dans l'eau de rivière artificielle

Afin de voir l'effet du traitement de surface des aciers inoxydables sur l'évolution de leur potentiel de corrosion libre, le potentiel de corrosion libre des échantillons d'aciers inoxydables ayant subi les cinq traitements de surface est suivi au cours du temps.

3.2.1 Acier 304L

Les résultats obtenus sur les échantillons d'acier 304L sont visibles sur la figure 39.

Les échantillons simplement polis et dégraissés aux ultrasons ont un potentiel de corrosion libre initial compris entre -300 et -200 mV/ECS. E_{corr} augmente au cours du temps pour atteindre une valeur stationnaire comprise entre -100 et +50 mV/ECS après 24 heures d'immersion. Cette augmentation met en évidence la formation et l'évolution de la couche d'oxydes formant le film passif à la surface des échantillons. Le ralentissement de l'évolution du film passif induit une stabilisation de E_{corr} après 24 heures d'immersion. La passivation des échantillons se fait ici principalement au contact de l'électrolyte.

L'échantillon qui a subi le décapage nitro-fluorhydrique a un potentiel de corrosion libre initial plus faible, autour de -480 mV/ECS. Ceci est dû au fait que dans les premiers instants après décapage, la couche d'oxydes est très fine. Puis la couche d'oxydes croît et évolue au contact de l'eau de rivière artificielle, ce qui a pour conséquence une augmentation du potentiel d'abandon. Après 24 heures d'immersion, la valeur de E_{corr} est stationnaire et comprise entre -100 et 0 mV/ECS.

L'échantillon poli et laissé 5 jours à l'air libre a déjà une couche d'oxydes bien formée et stable (dans l'air), son potentiel de corrosion libre initial est donc plus élevé (environ -50 mV/ECS) que les autres E_{corr} initiaux. La couche d'oxydes évolue toutefois au contact de l'électrolyte, ce qui induit une modification du potentiel d'abandon. Après 24 heures d'immersion, la valeur de E_{corr} est stationnaire et comprise entre +30 et +50 mV/ECS.

L'échantillon qui a subi le décapage nitro-fluorhydrique puis la passivation 5 jours à l'air libre a un potentiel de corrosion libre initial encore plus élevé (+90 mV/ECS) que l'échantillon passivé 5 jours à l'air libre. Le décapage préalable semble accentuer l'oxydation de la surface qui se fait durant la passivation à l'air libre. La légère évolution de la couche passive en contact avec l'électrolyte entraîne une faible modification du potentiel d'abandon. La valeur stationnaire de E_{corr} , atteinte rapidement après environ 6 heures d'immersion, est de 60 mV/ECS.

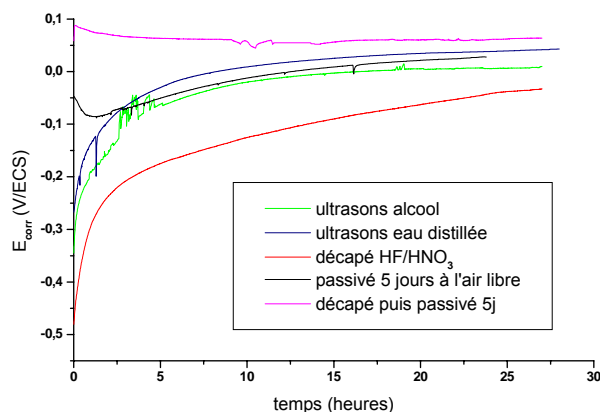


Figure 39 : évolution du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier 304L polis au micron et immergés en eau de rivière artificielle, en fonction du traitement de surface utilisé

Ainsi, quel que soit le traitement de surface appliqué à un échantillon d'acier inoxydable 304L, son potentiel de corrosion libre est toujours stable et compris entre -100 et +50 mV/ECS après 24 heures d'immersion.

3.2.2 Acier 316L

Les résultats concernant l'acier inoxydable 316L sont indiqués sur la figure 40.

Le potentiel de corrosion libre initial des échantillons simplement polis et dégraissés aux ultrasons est compris entre -150 et -100 mV/ECS. E_{corr} augmente au cours du temps, en raison de l'évolution du film d'oxydes au contact de l'eau de rivière artificielle. La surface s'oxyde jusqu'à atteindre un état stable, où la valeur stationnaire de E_{corr} est dans l'intervalle [-40 ; 20 mV/ECS]. Le potentiel d'abandon est stable 24 heures après l'immersion.

L'échantillon décapé par le mélange HF/HNO₃ a un potentiel de corrosion libre initial très faible, aux alentours de -370 mV/ECS. Cette faible valeur indique une faible oxydation de la surface, ce qui est cohérent avec l'attaque du film passif par les acides du bain de décapage. Au contact de la solution de NaCl, la couche d'oxydes se forme, entraînant une augmentation de l'oxydation de la surface et donc une augmentation de E_{corr} . Celui-ci est stable après 24 heures d'immersion et prend une valeur comprise entre -70 et -20 mV/ECS.

Le potentiel d'abandon initial de l'échantillon passivé 5 jours à l'air libre est compris entre +80 et +110 mV/ECS. Cette valeur élevée est due à un état très oxydé de la surface, qui s'est recouverte d'une couche d'oxydes formant le film passif durant les 5 jours de contact avec l'air ambiant du laboratoire. Lors du contact avec l'électrolyte, la couche d'oxydes évolue, entraînant une modification du potentiel de corrosion libre. Après 24 heures d'immersion, E_{corr} est stable autour de 10 mV/ECS.

L'échantillon ayant subi successivement le décapage nitro-fluorhydrique et la passivation 5 jours à l'air libre a un potentiel de corrosion libre initial assez élevé, compris dans l'intervalle [-100 ; -40 mV/ECS]. Au contact de la solution de NaCl, l'évolution de la couche d'oxydes génère une évolution de E_{corr} . Après 24 heures d'immersion, le potentiel d'abandon est stable et vaut environ -15 mV/ECS.

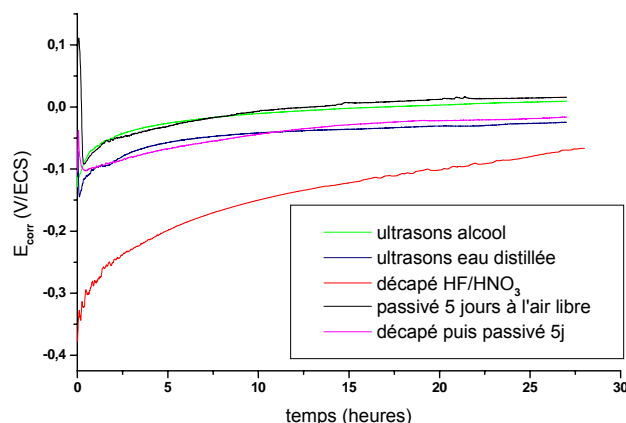


Figure 40 : évolution du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier 316L polis au micron et immergés en eau de rivière artificielle, en fonction du traitement de surface utilisé

Globalement, quel que soit le traitement de surface appliqué à un échantillon d'acier inoxydable 316L, son potentiel d'abandon est toujours stable et compris entre -100 et +50 mV/ECS après 24 heures d'immersion.

3.2.3 Synthèse

Le potentiel de corrosion libre des échantillons d'aciers inoxydables 304L et 316L est stable et compris entre -100 et +50 mV/ECS après 24 heures d'immersion dans l'eau de rivière artificielle. Ce résultat, vérifié sur l'acier inoxydable 254SMO, est valable pour les trois nuances d'acier inoxydable qui ont été retenues dans cette étude.

Sa conséquence immédiate est que, dans le protocole expérimental de toutes les expériences d'électrochimie réalisées par la suite, les échantillons d'acier inoxydable sont toujours immergés dans l'eau de rivière artificielle 24 heures avant l'expérience proprement dite (mesure électrochimique, ajout d'un nouveau composé dans l'eau de rivière artificielle).

Cette attente de 24 heures permet d'atteindre une valeur de potentiel toujours identique et reproductible et de standardiser le protocole expérimental.

Le potentiel de corrosion libre « initial » de l'expérience (après 24 heures d'immersion) se situera toujours dans l'intervalle [-100 ;50 mV/ECS].

3.3 Influence de la préparation de surface sur l'impédance électrochimique des aciers inoxydables dans l'eau de rivière artificielle

Les résultats ici présentés concernent l'acier inoxydable 316L immergé en eau de rivière artificielle. Celui-ci est pris en guise d'exemple, les deux autres nuances d'acier inoxydable ayant dans la solution à 0,3 g/L de NaCl le même comportement en terme d'impédance électrochimique.

3.3.1 Spectroscopie d'impédance électrochimique globale

Les différents traitements de surface sont étudiés par mesure d'impédance électrochimique. Les mesures d'impédance sont réalisées après 24 heures d'immersion. Le potentiel de

corrosion libre des échantillons est alors toujours compris entre -70 et 20 mV/ECS quel que soit le traitement de surface.

Les diagrammes d'impédance effectués en eau de rivière artificielle sur des échantillons d'acier 316L préparés suivant les différents traitements de surface choisis sont présentés sur la figure 41.

L'impédance semble dépendre très peu du traitement de surface. Les portions de boucles capacitives sont superposées sur le diagramme de Nyquist. Le tracé de la courbe $\text{Im}(Z)=f(\text{fréquence})$ en coordonnées logarithmiques montre que le comportement capacitif des échantillons dépend assez peu du traitement de surface mis en œuvre. Cette courbe permet d'étudier le comportement capacitif, et en particulier de savoir si ce comportement est idéal (la capacité est alors une capacité pure) ou non-idéal. Dans ce dernier cas, la partie imaginaire de l'impédance est souvent mise sous la forme d'un élément à phase constante (CPE, pour l'anglais Constant Phase Element). L'opposé de la pente de la partie linéaire de la courbe $\text{Im}(Z)=f(\log(\text{fréquence}))$ est le coefficient α entrant dans la définition de l'impédance d'un CPE :

$$Z_{\text{CPE}} = \frac{1}{(j\omega)^\alpha Q} \quad (57)$$

L'écart d'un CPE à une capacité pure est généralement attribué à des hétérogénéités de surface, à la porosité de l'électrode, à des réactions d'adsorption très lentes ou à des variations des propriétés de la couche d'oxydes pour les métaux passivables [239]. Il correspond à une distribution des constantes de temps des différents processus interfaciaux. Un élément de type CPE est souvent très pratique pour modéliser l'impédance d'une électrode mais doit nécessairement être relié au phénomène physico-chimique lui donnant naissance.

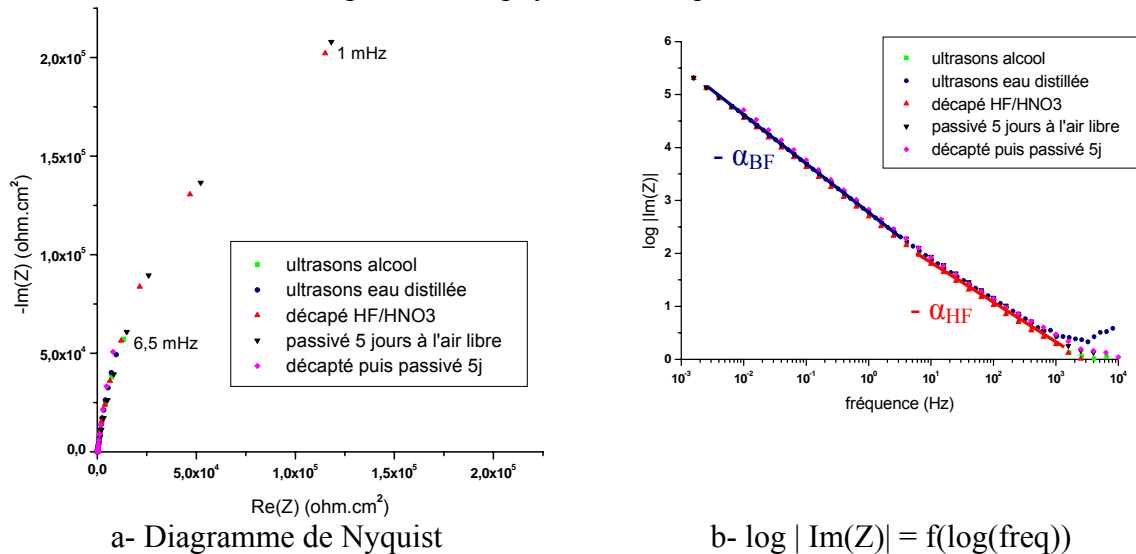


Figure 41 : diagrammes d'impédance globale d'échantillons d'acier inoxydable 316L polis au grade 800 et immergés depuis 24 heures en eau de rivière artificielle, ayant subi différents traitements de surface préalables

Une régression linéaire du graphe de la figure 41–b montre que la partie linéaire des courbes est en fait constituée de deux zones linéaires de pentes différentes, l'une aux hautes fréquences (pente notée $-\alpha_{\text{HF}}$) et l'autre aux basses fréquences (pente notée $-\alpha_{\text{BF}}$). Une fréquence-seuil sépare deux comportements de type CPE distincts. Les valeurs des coefficients α_{BF} et α_{HF} trouvées pour les différents traitements de surface sont relevées dans le tableau 9.

	Ultrasons eau	Ultrasons alcool	Décapé HF/HNO ₃	Passivé 5j air	Décapé passivé
α_{BF}	0,92	0,92	0,93	0,90	0,94
α_{HF}	0,76	0,80	0,79	0,78	0,77

Tableau 9 : valeurs des coefficients α dans les deux zones linéaires (basses et hautes fréquences) de la courbe $\log(\text{Im}(Z))=f(\log(\text{fréquence}))$, pour les différents traitements de surface considérés

La valeur du coefficient α est plus élevée à basse fréquence qu'à haute fréquence : $\alpha_{BF} > \alpha_{HF}$.
Le coefficient Q du CPE peut alors être calculée à l'aide de la formule [229] :

$$Q^{-1} = \frac{|\text{Im}(Z)| \cdot \omega^\alpha}{\sin(\alpha \frac{\pi}{2})} \quad (58)$$

Les valeurs du coefficient Q du CPE trouvées pour les différents traitements de surface sont données dans le tableau 10. Elles sont indiquées pour les deux valeurs de α possibles, à basse fréquence (Q_{BF}) et à haute fréquence (Q_{HF}).

	Ultrasons eau	Ultrasons alcool	Décapé HF/HNO ₃	Passivé 5j air	Décapé passivé
Q_{BF}	$1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-4}$	$8,8 \cdot 10^{-5}$
Q_{HF}	$1,7 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$1,9 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$

Tableau 10 : valeurs des coefficients Q dans les deux zones linéaires (basses et hautes fréquences) de la courbe $\log(\text{Im}(Z))=f(\log(\text{fréquence}))$, pour les différents traitements de surface considérés

La valeur du coefficient Q est plus élevée à haute fréquence qu'à basse fréquence : $Q_{HF} > Q_{BF}$.
Le calcul doit être en réalité effectué avec les valeurs de α correspondant aux basses fréquences. Il a en effet été montré que la déviation de α vers des valeurs plus faibles aux hautes fréquences est due aux distributions de courant et de potentiel dans l'électrolyte à proximité de la surface de l'électrode [230, 240]. Ces distributions de courant et de potentiel sont directement liées à la géométrie de l'électrode [241]. Les valeurs de Q à considérer sont donc les valeurs basses fréquences Q_{BF} .

Quel que soit le traitement de surface appliqué aux échantillons, le comportement capacitif des aciers inoxydables immergés dans l'eau de rivière artificielle présente toujours un écart à l'idéalité (capacité pure). Il peut être modélisé par un élément de type CPE. Les variations des paramètres du CPE (α , Q) (calculés aux basses fréquences) en fonction du traitement de surface ne sont pas significatives. α est généralement compris entre 0,9 et 0,94 et Q entre 0,8 et $1,2 \cdot 10^{-4} \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^\alpha$. La partie résistive de l'impédance ne semble pas être influencée par la préparation de surface.

Le traitement de surface n'a pas d'influence notable sur l'impédance, et tout traitement de surface peut être employé indifféremment du point de vue de l'impédance électrochimique du système.

3.3.2 Distribution 2D et distribution 3D

L'origine d'un comportement capacitif CPE a été discutée auparavant. La distribution de l'impédance en fonction de la fréquence $Z(\omega)$ provient d'une distribution des constantes de temps des processus mis en jeu. La distribution des constantes de temps provient soit d'une

distribution bidimensionnelle, soit d'une distribution tridimensionnelle. Dans le premier cas, la distribution des constantes de temps est due à une distribution bidimensionnelle non-uniforme en courant et/ou en potentiel dans le plan de la surface de l'électrode, autrement dit dans le plan (x,y). Dans le deuxième cas, la distribution des constantes de temps est due à une distribution tridimensionnelle d'hétérogénéités le long de la normale à la surface, autrement dit le long de l'axe z. Ces hétérogénéités peuvent être de différentes natures : rugosité de surface, porosité de l'électrode, variation de la composition chimique... [239]

La distinction entre une distribution 2D et une distribution 3D donne des renseignements sur la couche d'oxydes. En effet, de nombreux travaux ont montré que la composition chimique de couches d'oxydes développées sur acier inoxydable en milieu aqueux n'est pas uniforme le long de la normale à la surface [165-168, 175, 176]. Ceci a été vérifié en eaux de mer naturelle [73, 169] et artificielle [73, 182]. Certains auteurs parlent même de stratification du film passif [17]. Cette variation de la composition chimique selon l'axe des z doit *a priori* engendrer une distribution 3D de l'impédance.

L'impédance globale de l'échantillon est égale à l'intégrale des impédances locales reliées en parallèle sur la totalité de la surface exposée à l'électrolyte. La distribution des impédances locales est schématisée sur la figure 42.

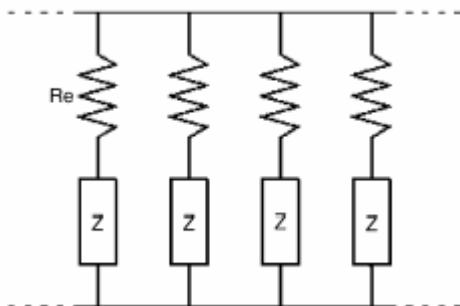


Figure 42 : représentation du circuit électrocinétique équivalent à une distribution locale de l'impédance (CPE local) [239]

Si la distribution est bidimensionnelle, l'impédance locale ne contient pas d'élément CPE. L'impédance globale a alors un comportement capacitif type CPE et l'impédance locale un comportement capacitif idéal.

Si la distribution est tridimensionnelle, la partie capacitive de l'impédance locale est de type CPE. Les impédances globale et locale présentent un comportement capacitif type CPE. Les coefficients α des deux CPE doivent être égaux [239].

La distinction entre distribution 2D et distribution 3D peut donc être faite à l'aide de mesures d'impédance locale. Une impédance locale ayant une partie capacitive de type capacité idéale indique une distribution 2D en courant et/ou en potentiel (liée à la géométrie de l'électrode) dans le plan de la surface de l'échantillon. Une impédance locale ayant une partie capacitive de type CPE va dans le sens d'une distribution 3D, c'est-à-dire dans le cas d'un échantillon en acier inoxydable dans le sens d'une variabilité des propriétés de la couche d'oxydes dans son épaisseur.

3.3.3 Spectroscopie d'impédance électrochimique locale

La figure 43 présente les résultats des mesures des impédances globale et locale, réalisées sur des échantillons d'acier 316L polis au micron, passés aux ultrasons dans l'éthanol et

immergés depuis 24 heures dans l'eau de rivière artificielle. La partie imaginaire de l'impédance est représentée en fonction de la fréquence en coordonnées logarithmiques.

La courbe correspondant à l'impédance globale comprend deux parties linéaires, caractéristiques d'un comportement capacitif de type CPE. Les valeurs des pentes sont d'environ 0,9 pour $\alpha_{\text{global, BF}}$ et de 0,62 pour $\alpha_{\text{global, HF}}$. La présence de deux CPE distincts a déjà été explicitée ; le CPE à haute fréquence correspond à la distribution en courant et en potentiel dans l'électrolyte à proximité de la surface de l'électrode et provient de la géométrie de l'échantillon. Seule la partie basse fréquence est à considérer.

L'impédance locale présente un comportement capacitif de type CPE à basse fréquence. Le coefficient α_{local} de ce CPE est d'environ 0,92 et est dans la même gamme que le coefficient $\alpha_{\text{global, BF}}$ de l'impédance globale :

$$\alpha_{\text{local}} \approx \alpha_{\text{global, BF}}$$

Ainsi, un comportement capacitif de type CPE est retrouvé au niveau de l'impédance locale. Ceci indique que la dispersion de l'impédance en fonction de la fréquence $Z(\omega)$ est due à une distribution 3D au sein de la couche d'oxydes, le long de la normale à la surface. Certaines propriétés de la couche d'oxydes (composition chimique, propriétés diélectriques, porosité...) varient selon l'axe des z et engendrent une distribution de la constante de temps, donc un comportement capacitif non idéal. Ce résultat est cohérent avec les remarques précédentes, notamment avec le fait que le profil des concentrations des différents éléments présents dans le film passif d'un acier inoxydable n'est généralement pas constant sur toute l'épaisseur de la couche d'oxydes.

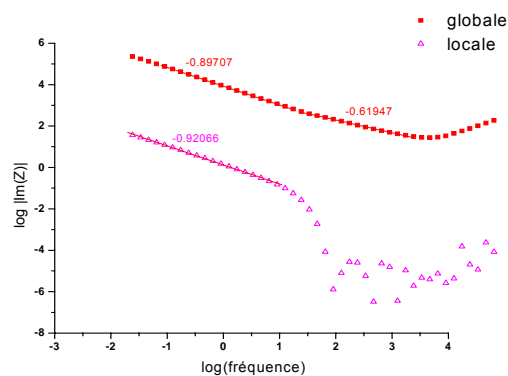


Figure 43 : diagramme d'impédances globale et locale d'échantillons d'acier 316L immergés depuis 24 heures en eau de rivière artificielle

3.3.4 Synthèse

Le traitement de surface employé sur un échantillon d'acier inoxydable a une influence négligeable sur son impédance en eau de rivière artificielle. Le choix de la préparation de surface n'est donc pas primordial du point de vue de la spectroscopie d'impédance électrochimique.

Les mesures d'impédances globale et locale ont montré que le comportement capacitif (partie imaginaire de l'impédance) global et local est non pas de type capacité idéale, mais plutôt de type CPE. Ceci indique une hétérogénéité de la couche d'oxydes selon la normale à la surface. Cette hétérogénéité peut être une hétérogénéité de la composition chimique du film passif – les profils de concentration des éléments constitutifs de la couche passive ne seraient alors pas constants sur toute l'épaisseur- et/ou une hétérogénéité des propriétés diélectriques – la constante diélectrique ϵ ne serait alors pas constante sur toute l'épaisseur.

3.4 Influence de la préparation de surface sur les propriétés de semi-conductivité

Des diagrammes de Mott-Schottky sont acquis sur des échantillons d'acier inoxydable ayant subi les divers traitements de surface, afin d'évaluer l'influence de l'état de surface sur les propriétés de semi-conductivité. Ces mesures sont effectuées sur des échantillons d'acier inoxydable 316L 24 heures après leur immersion dans l'eau de rivière artificielle. Les résultats sont présentés sur la figure 44.

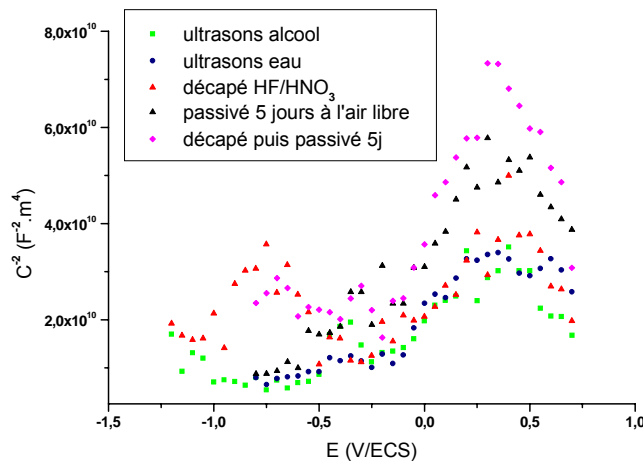


Figure 44 : diagrammes $C^2(E)$ de Mott-Schottky pour des échantillons d'acier 316L polis au micron et immergés depuis 24 heures en eau de rivière artificielle, en fonction du traitement de surface utilisé

Quel que soit le traitement de surface appliqué, le potentiel de bandes plates U_{fb} est toujours proche de $-0,5$ V/ECS. U_{fb} est connu pour varier avec le pH de la solution, qui est ici identique pour toutes les expériences [224].

En dessous de U_{fb} , le comportement capacitif est variable. Les diagrammes des échantillons ayant subi un décapage nitro-fluorhydrique (« décapé HF/HNO₃ » et « décapé puis passivé 5j ») comportent une zone linéaire de pente négative, correspondant à un comportement semi-conducteur de type p. Ce comportement est vraisemblablement lié à la présence d'oxyhydroxydes de chrome au sein de la couche passive [164, 172-175]. Le décapage par HF/HNO₃ est connu pour provoquer un enrichissement en chrome. Dans le cas de l'échantillon « décapé par HF/HNO₃ », la densité des porteurs de charge (accepteurs : lacunes d'électrons ou « trous ») N_a est de $2,3 \cdot 10^{19} \text{ cm}^{-3}$. Elle est difficile à déterminer sur l'échantillon « décapé puis passivé 5j » en raison d'un bruit important. Les autres diagrammes ne présentent pas cette zone linéaire. Le film passif est parfois considéré comme dégénéré aux potentiels inférieurs au potentiel de bandes plates [73].

Les cinq courbes présentent entre U_{fb} ($-0,5$ V/ECS) et environ $0,2$ V/ECS une zone linéaire de pente positive. Le signe de la pente de cette zone linéaire indique que l'acier inoxydable a un comportement semi-conducteur de type n. Une mesure de la pente par régression linéaire permet de calculer la densité des porteurs de charge (c'est-à-dire des électrons dans ce cas précis) à l'aide de la formule (51). L'épaisseur W de la couche de charges d'espace W est calculée par la formule (52). Pour rappel, W et N_a varient en sens inverse.

Les valeurs des densités de porteurs de charge N_d et d'épaisseurs de couche de charges d'espace W trouvées pour les cinq traitements de surface différents sont indiquées dans le tableau 11.

Traitement de surface	« ultrasons alcool »	« ultrasons eau »	« décapé HF/HNO ₃ »	« passivé 5 jours à l'air libre »	« décapé puis passivé 5j »
N_d (cm ⁻³)	$2,4 \cdot 10^{19}$	$2,2 \cdot 10^{19}$	$2,3 \cdot 10^{19}$	$2,0 \cdot 10^{19}$	$1,4 \cdot 10^{19}$
W (nm)	0,20	0,20	0,24	0,26	0,29

Tableau 11 : densités des porteurs de charge et épaisseur de la couche de charges d'espace pour les différents traitements de surface étudiés

N_d est compris entre 1,4 et $2,4 \cdot 10^{19}$ cm⁻³. W est compris entre 0,2 et 0,3 nm. Le traitement de surface a une faible influence sur l'épaisseur de la couche de charges d'espace et sur le taux de dopage du semi-conducteur de type n qu'est le film passif entre U_{fb} et 0,2 V/ECS. La passivation de l'échantillon au contact de l'air ambiant semble provoquer une diminution de N_d (resp. une augmentation de W).

Il faut toutefois noter que l'épaisseur de la couche de charges d'espace est très faible ; une épaisseur de 0,2 nm correspond à 2 angströms, c'est-à-dire à une couche biatomique. Des restrictions doivent alors être apportées à l'utilisation de la technique de Mott-Schottky, qui ne prend pas en compte l'échelle atomique de la couche de charges d'espace. L'assimilation électrocinétique d'une couche biatomique à une capacité peut s'avérer risquée. L'autre critique qui peut être émise envers la méthode de Mott-Schottky est la rapide assimilation de la partie capacitive de l'impédance à une capacité idéale. Les résultats d'impédance globale et locale déjà discutés ont montré que la partie capacitive n'est pas une capacité idéale mais se comporte comme un CPE. En outre, le choix d'une seule fréquence d'acquisition limite forcément la précision de la mesure de la capacité.

Synthèse

Le traitement de surface a une faible influence sur les propriétés semi-conductrices de type n que présente le film passif des aciers inoxydables aux potentiels supérieurs à U_{fb} (environ égal à -0,5 V/ECS). La passivation à l'air libre (stockage de l'échantillon durant 5 jours) a tendance à faire augmenter la densité de donneurs N_d dans la couche de charges d'espace.

Le comportement semi-conducteur aux potentiels inférieurs à U_{fb} paraît être plus affecté par la préparation de surface. En effet, le traitement de décapage par le mélange HF/HNO₃, qui provoque un enrichissement en chrome dans le film passif, fait apparaître un comportement semi-conducteur de type p dans cette gamme de potentiels. Ce comportement type p pourrait être attribué aux oxydes et hydroxydes de chrome [175]. Ces résultats ont été obtenus sur la nuance 316L et sont identiques sur les deux autres nuances (304L, 254SMO) d'acier inoxydable.

3.5 Influence de la préparation de surface sur les caractéristiques énergétiques de surface

Des mesures d'angle de contact sont réalisées sur des échantillons d'acier inoxydable ayant subi divers traitements de surface, afin d'évaluer l'influence de l'état de surface sur les

caractéristiques énergétiques. Les traitements de surface employés ici diffèrent légèrement de ceux qui ont été utilisés pour les mesures électrochimiques.

Les trois protocoles de traitement de surface considérés sont les suivants :

- « ultrasons alcool » ;
- « décapé puis passivé 5j » ;
- « passivé 3j eau » : l'échantillon subit d'abord le traitement de surface « ultrasons alcool », puis il est laissé dans de l'eau distillée pendant 5 jours. L'échantillon est alors prélevé et séché à l'aide d'un mouchoir doux.

Les résultats obtenus en fonction du traitement de surface, présentés dans le tableau 12, montrent que les écart-types sur les mesures sont relativement élevés, laissant supposer une certaine hétérogénéité des surfaces étudiées.

Nuance	Traitement de surface	θ eau	θ diiodométhane	θ formamide
304L	« ultrasons alcool »	58,7 ± 4,5	52,4 ± 2,6	47,9 ± 5,7
	« décapé puis passivé 5j »	89,3 ± 5,1	57,1 ± 3,6	69,0 ± 5,3
	« passivé 3j eau »	86,4 ± 5,6	54,9 ± 2,2	75,5 ± 7,6
316L	« ultrasons alcool »	66,1 ± 9,1	56,8 ± 5,1	60,0 ± 10,5
	« décapé puis passivé 5j »	77,3 ± 9,4	54,9 ± 5,5	70,2 ± 6,3
	« passivé 3j eau »	61,1 ± 4,9	52,9 ± 5,0	50,3 ± 6,5
254SMO	« ultrasons alcool »	66,1 ± 5,3	45,1 ± 2,2	50,3 ± 8,8
	« décapé puis passivé 5j »	91,4 ± 4,6	56,2 ± 1,8	73,5 ± 5,6
	« passivé 3j eau »	89,5 ± 3,1	60,9 ± 2,3	76,0 ± 2,6

Tableau 12 : mesure des angles de contact de l'eau, du diiodométhane et du formamide sur des échantillons d'acier inoxydable ayant subi 3 traitements de surface différents

Les surfaces présentent une variabilité dans leur degré d'hydrophilie en fonction du traitement utilisé. Si l'acier 316L reste moyennement hydrophile quelle que soit la préparation de surface pratiquée, les nuances 304L et 254SMO perdent cette caractéristique lorsque l'échantillon est décapé ou passivé à l'air libre.

Les caractéristiques énergétiques de surface, calculées à partir des valeurs d'angles de contact et de l'équation (43) de Young-Van Oss, sont quant à elles données dans le tableau 13.

Nuance	Traitement de surface	γ_s^{LW}	γ_s^-	γ_s^+	γ_s^{AB}	γ_s
304L	« ultrasons alcool »	32,9 ± 1,5	22,8 ± 7,5	0,8 ± 0,7	8,3 ± 4,9	41,2 ± 5,1
	« décapé puis passivé 5j »	30,3 ± 2,1	3,4 ± 3,6	0,1 ± 0,4	1,4 ± 2,3	31,7 ± 3,1
	« passivé 3j eau »	31,5 ± 1,3	8,9 ± 7,2	0,3 ± 0,7	3,1 ± 4,9	34,6 ± 5
316L	« ultrasons alcool »	30,4 ± 2,9	22,2 ± 15,8	0,1 ± 0,6	3 ± 9,9	33,4 ± 10,3
	« décapé puis passivé 5j »	31,5 ± 3,1	15,5 ± 13	0,1 ± 0,5	2,6 ± 7	34,1 ± 7,7
	« passivé 3j eau »	32,6 ± 2,8	21,5 ± 8,1	0,6 ± 0,8	7,3 ± 5,7	39,9 ± 6,3
254SMO	« ultrasons alcool »	37 ± 1,2	15,3 ± 8,4	0,4 ± 0,7	4,6 ± 5,7	41,6 ± 5,8
	« décapé puis passivé 5j »	30,8 ± 1	3,8 ± 3,7	0 ± 0	0,2 ± 2,3	30,9 ± 2,5
	« passivé 3j eau »	28,1 ± 1,3	6,3 ± 2,9	0 ± 0,1	0,6 ± 1,7	28,6 ± 2,2

Tableau 13 : valeurs des caractéristiques énergétiques de surface pour des échantillons d'acier inoxydable ayant subi 3 traitements de surface différents (mJ.m^{-2})

Quel que soit le traitement de surface employé, l'énergie de surface γ_S est toujours comprise entre 28 et 42 mJ.m⁻². Ces valeurs sont en accord avec les données de la littérature concernant les aciers inoxydables [205, 207].

Le terme lié aux interactions de Lifschitz-Van der Waals ne varie pas de façon significative avec le traitement de surface et est toujours supérieur au terme acido-basique. Dans la composante acido-basique, le terme γ_S^- est toujours supérieur à γ_S^+ , ce qui indique que la surface a un fort caractère donneur d'électrons. La surface est basique au sens de Lewis dans tous les cas, et en particulier lorsque l'échantillon a été poli peu de temps avant la mesure des angles de contact (traitement de surface « ultrasons alcool »).

La composition de la matrice des aciers inoxydables ne semble pas avoir d'influence évidente sur les caractéristiques énergétiques de surface. Il faut toutefois rappeler que les mesures de mouillabilité de surface sont perturbées par la présence d'une couche de molécules organiques adsorbées provenant d'une contamination par l'air ambiant du laboratoire (visible en XPS par exemple). Les mesures d'angles de contact se font sur cette couche organique adsorbée toujours présente à la surface des échantillons, ce qui explique la similarité des valeurs caractérisant en réalité non pas des nuances d'acier inoxydable différentes mais des couches carbonées de contamination différentes [207, 242].

3.6 Conclusion : choix du traitement de surface

➤ Influence du traitement de surface sur E_{corr} et sur l'impédance :

Le traitement de surface peut modifier assez fortement la valeur initiale du potentiel de corrosion libre (durant les premières minutes après l'immersion), toutefois quel que soit le traitement de surface employé la valeur du potentiel d'abandon à 24 heures est toujours stable et comprise entre -100 et +50 mV/ECS. Le traitement de surface n'a pas d'influence notable sur l'impédance des aciers inoxydables. Le choix du traitement de surface n'est pas crucial pour les mesures de E_{corr} et pour les mesures d'impédance.

➤ Influence du traitement de surface sur les propriétés semi-conductrices :

Les propriétés semi-conductrices sont fortement influencées par l'état de surface initial des échantillons : le traitement de décapage par HF/HNO₃ confère aux coupons un comportement semi-conducteur de type p entre -0,8 et -0,5 V/ECS, lié à un enrichissement en chrome de la couche d'oxydes. Cette semi-conductivité de type p est absente dans les échantillons n'ayant pas subi le traitement de décapage.

➤ Influence du traitement de surface sur les caractéristiques énergétiques de surface :

Le protocole de préparation des échantillons a une influence non négligeable sur les caractéristiques énergétiques de surface. Tous les protocoles génèrent une basicité (caractère électron-donneur) et un caractère moyennement hydrophobe de surface. Les échantillons « ultrasons alcool », polis peu de temps avant les mesures d'angle de contact, présentent un caractère électron-donneur plus élevé et une hydrophobicité moins marquée que les autres échantillons.

<p>Le choix a été fait d'utiliser par la suite le traitement de surface « ultrasons alcool », simple à mettre en œuvre, accentuant la basicité et diminuant l'hydrophobie de la surface des échantillons.</p>
--

Chapitre 4 : Aciers inoxydables en eau de rivière naturelle

La surface d'un matériau immergé dans une eau naturelle est colonisée par un consortium de micro-organismes (bactéries, algues, champignons, levures) et d'exopolymères (lipides, polysaccharides, protéines, acides nucléiques), qui forme une matrice biologique complexe appelée biofilm [192, 193]. La présence physique du biofilm et le métabolisme des microorganismes qui le composent sont à l'origine de modifications de la physico-chimie locale de l'électrolyte à proximité de la surface, ce qui peut avoir une influence sur les processus de corrosion du matériau.

Il est actuellement reconnu que le potentiel de corrosion libre E_{corr} des aciers inoxydables immergés en eau de mer naturelle augmente au cours du temps [1-4]. Sa valeur initiale dans les premiers temps d'immersion est généralement comprise entre -100 et -50 mV/ECS. Après augmentation, E_{corr} est situé dans l'intervalle [+100 ; +400 mV/ECS]. Cette augmentation rapproche le potentiel d'abandon du potentiel de piqûre, augmentant ainsi la probabilité d'initiation de la corrosion par piqûres. Il a été prouvé que l'augmentation de E_{corr} observée en eau de mer naturelle est due à la présence et au métabolisme du biofilm qui se développe à la surface du matériau. L'augmentation du potentiel d'abandon (parfois appelée « anoblissement » par traduction littérale de l'anglais *ennoblement*) est en général associée avec une augmentation du courant cathodique [10, 38] due soit à la catalyse de la réaction cathodique préexistante (la réduction de l'oxygène dissous), soit à l'apparition de la réduction d'une nouvelle espèce oxydante. L'effet global est une augmentation de la cinétique des processus cathodiques.

Lors de l'immersion d'échantillons d'acier inoxydable dans des eaux contenant peu d'ions chlorures, qu'il s'agisse d'eaux naturelles (rivières, lacs, estuaires) ou d'eaux artificielles (eaux usées), le potentiel de corrosion libre augmente dans la plupart des cas jusqu'à atteindre des valeurs comprises entre +250 et +450 mV/ECS environ [4, 23-26, 34, 35]. L'augmentation de E_{corr} semble se produire dans les eaux douces comme en eau de mer naturelle. Elle est aussi associée avec une augmentation du courant cathodique [25, 34, 36, 50, 51]. Toutefois, d'après la littérature, l'augmentation du potentiel d'abandon n'est pas forcément systématique en eaux peu chlorurées [34].

L'objectif de cette partie est de confirmer (ou d'infirmer) l'aspect systématique de l'augmentation de E_{corr} , d'identifier les phénomènes provoquant cette augmentation, d'étudier la biocontamination des surfaces et de caractériser la couche passive d'échantillons d'acier inoxydable (nuances 304L, 316L et 254SMO) immergés en eau de rivière naturelle.

Leur comportement électrochimique est caractérisé par plusieurs méthodes :

- mesures du potentiel de corrosion libre, afin de confirmer (ou d'infirmer) la littérature dans des conditions expérimentales fixées ;
- courbes de polarisation anodiques et cathodiques, afin de comprendre les mécanismes de l'augmentation de E_{corr} et d'évaluer l'influence du biofilm sur la résistance à la corrosion par piqûres ;
- mesures d'impédance électrochimique et par des mesures de capacité selon la méthode de Mott-Schottky, afin d'estimer le rôle joué par le biofilm sur le système interfacial matériau/film passif/électrolyte.

Les suivis du potentiel de corrosion libre sont effectués sur les trois sites d'immersion. En revanche, pour des raisons pratiques, les courbes électrochimiques dynamiques, nécessitant l'utilisation de potentiostats et d'échantillons enrobés, ne sont réalisées que sur deux sites (Choisy-le-Roi et Flins).

Des observations de surface, des analyses de surface et des dénombrements bactériens permettent de caractériser le biofilm, de déterminer son influence sur l'état de surface du matériau et d'étudier les mécanismes conduisant aux variations de E_{corr} .

4.1 Mesures électrochimiques

4.1.1 Evolution du potentiel de corrosion libre E_{corr} au cours du temps

4.1.1.1 Influence du lieu d'exposition

Le potentiel de corrosion libre d'échantillons de platine et d'acier inoxydable 304L, 316L et 254SMO est mesuré au cours du temps sur les trois sites d'immersion dans la Seine, Choisy-le-Roi (en amont de Paris), Flins (en proche aval de Paris) et Poses-Amfreville (aval de Paris, près de Rouen) [268]. Les résultats sont présentés sur les figures 45-47, avec les dates d'immersion et les températures initiales de l'eau de Seine.

Dans les premiers instants de l'immersion à Choisy-le-Roi, le potentiel de corrosion libre des trois nuances d'acier inoxydable est compris entre -250 et -120 mV/ECS. Le potentiel reste stable pendant quelques jours, puis augmente rapidement jusqu'à atteindre des valeurs comprises entre +130 et +320 mV/ECS. La durée de l'augmentation est de 3 ou 4 jours environ. Le temps entre l'immersion et l'augmentation de E_{corr} , appelé temps de latence ou temps d'incubation, est d'environ 25 jours dans les conditions expérimentales considérées. La température de l'eau en début d'immersion est de 8°C. Les valeurs du potentiel de corrosion libre ne sont pas significativement différentes entre les trois nuances testées. L'évolution du potentiel de corrosion libre des aciers inoxydables en eau de rivière naturelle ne dépend pas de la composition chimique de l'acier.

Le potentiel d'abandon de l'échantillon de platine augmente aussi au cours du temps. Il passe de +650 mV/ECS juste après l'immersion à une valeur maximale de +770 mV/ECS. L'augmentation est plus faible que pour les aciers inoxydables. Toutefois, un accroissement du potentiel d'abandon se produit, confirmant que le phénomène d'augmentation de E_{corr} n'apparaît pas que sur des échantillons d'acier inoxydable. Les valeurs du potentiel d'abandon de l'échantillon de platine sont élevées, ce qui indique que l'eau de Seine du site de Choisy est un milieu très oxydant.

Des instabilités de potentiel sont visibles sur tous les graphiques. Elles pourraient correspondre à de très courtes pertes de contact électrique avec les échantillons. De plus, l'agitation de l'eau (due à la circulation navale sur le fleuve, aux remous...) est telle que le biofilm peut être localement endommagé, voire décroché. De telles dégradations locales du biofilm peuvent aussi expliquer les instabilités de potentiel relevées sur les graphes expérimentaux.

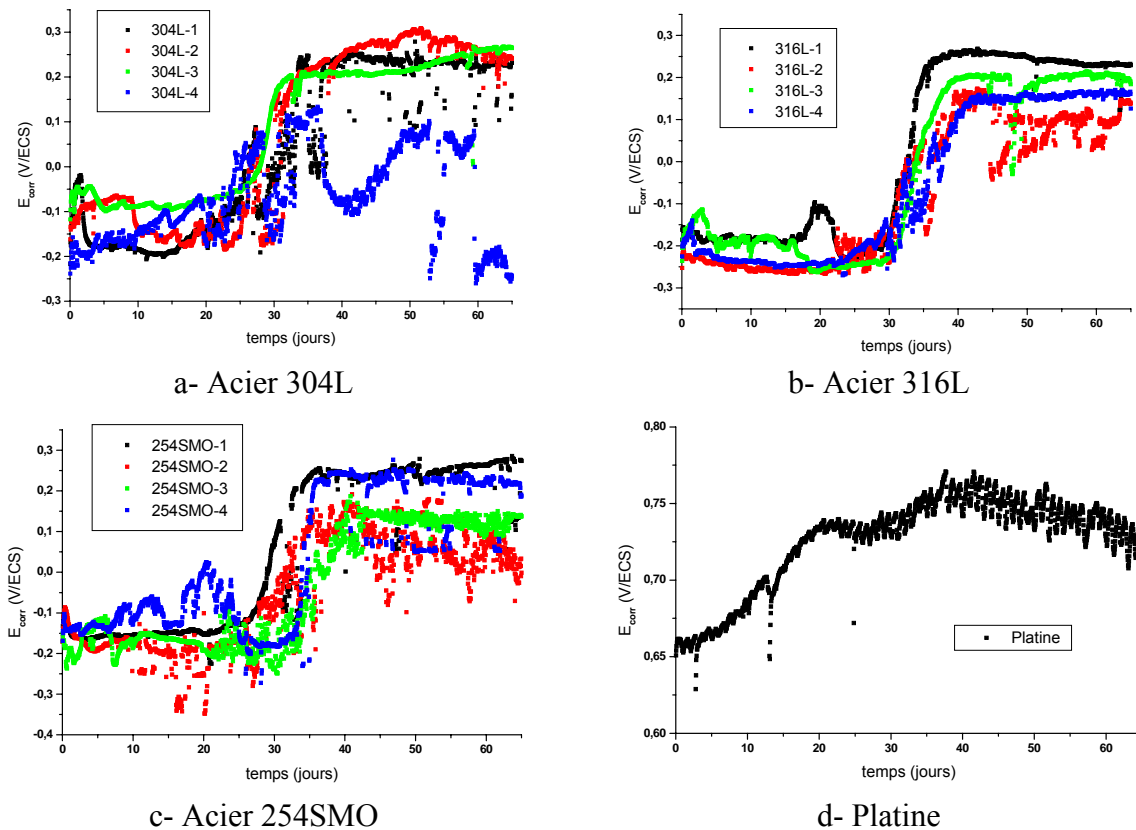


Figure 45 : suivi du potentiel de corrosion libre d'échantillons métalliques immergés le 21 Janvier dans la Seine sur le site de Choisy-le-Roi ($T = 8^{\circ}\text{C}$)

Dans les premiers instants d'immersion sur le site de Flins, le potentiel de corrosion libre des échantillons d'acier inoxydable est compris entre -220 et -70 mV/ECS. Le potentiel d'abandon reste constant durant environ 3 jours, puis augmente rapidement (en 3 ou 4 jours) jusqu'à atteindre des valeurs comprises entre +140 et +400 mV/ECS. Les trois nuances d'acier inoxydable ont le même comportement : du point de vue du potentiel de corrosion libre, aucune différence notable ne distingue les trois nuances 304L, 316L et 254SMO. La température au moment de l'immersion est de 14°C .

L'évolution du potentiel de corrosion libre est quasiment la même sur le site de Choisy-le-Roi et sur le site de Flins. La seule différence importante est la valeur du temps de latence avant augmentation de E_{corr} . Il est en effet beaucoup plus court durant l'immersion à Flins (3-4 jours) que durant l'immersion à Choisy-le-Roi (25 jours). Il est important de souligner que les températures de l'eau de Seine sont aussi différentes (respectivement 14 et 8°C).

Le potentiel d'abandon de l'échantillon de platine évolue aussi au cours du temps. Après immersion, il diminue rapidement pour se fixer à une valeur stable de -180 mV/ECS. Puis, 4 jours après l'immersion, il augmente rapidement (en 3 ou 4 jours) pour atteindre environ +230 mV/ECS. Cette augmentation de 420 mV est tout à fait comparable aux augmentations mesurées sur les échantillons d'acier inoxydable. Le comportement du platine est identique au comportement des aciers inoxydables en terme d'augmentation du potentiel d'abandon.

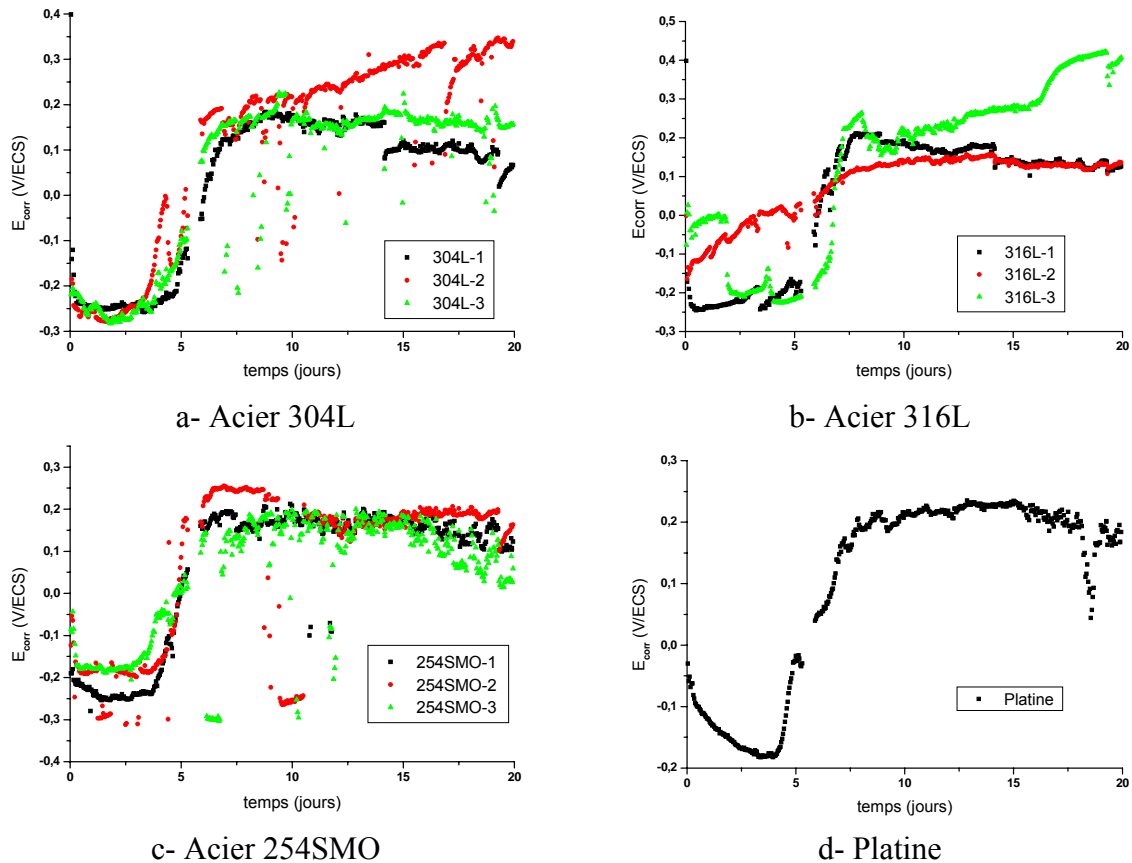


Figure 46 : suivi du potentiel de corrosion libre d'échantillons métalliques immergés le 20 Septembre dans la Seine sur le site de Flins ($T=14^{\circ}\text{C}$)

Dans les premiers instants de l'immersion sur le site de Poses-Amfreville, le potentiel de corrosion libre des échantillons d'acier inoxydable est compris entre -240 et -30 mV/ECS. Le potentiel d'abandon reste stable aux alentours de sa valeur initiale pendant environ 1 jour et demi, puis augmente jusqu'à atteindre des valeurs comprises entre +50 et +260 mV/ECS. L'augmentation est assez rapide, elle se fait en 3 ou 4 jours. Les trois nuances d'acier inoxydable ont un comportement identique. La composition de l'alliage n'influe pas sur l'évolution de son potentiel de corrosion libre.

Le temps de latence avant augmentation de E_{corr} est ici très court, entre 1 et 3 jours. C'est le même ordre de grandeur que sur le site de Flins, et beaucoup plus court que sur le site de Choisy. La température de l'eau de Seine au moment de l'immersion est ici de 14°C . Les temps de latence les plus courts (inférieurs à 4 jours à Poses-Amfreville et à Flins) correspondent à la température de l'électrolyte la moins froide (14°C). Il semble y avoir un lien direct entre le temps de latence et la température de l'eau.

Le potentiel d'abandon de l'échantillon de platine évolue aussi au cours du temps. Il prend une valeur comprise entre 180 et 280 mV/ECS dans les premiers temps de l'immersion, pendant environ 4 jours, puis augmente assez progressivement, jusqu'à atteindre une valeur maximale de 580 mV/ECS. Cette augmentation d'environ 350 mV/ECS est dans la même gamme que l'augmentation du potentiel d'abandon des aciers inoxydables. Le phénomène d'augmentation de E_{corr} n'est pas limité aux aciers inoxydables, d'autres matériaux subissent ce processus.

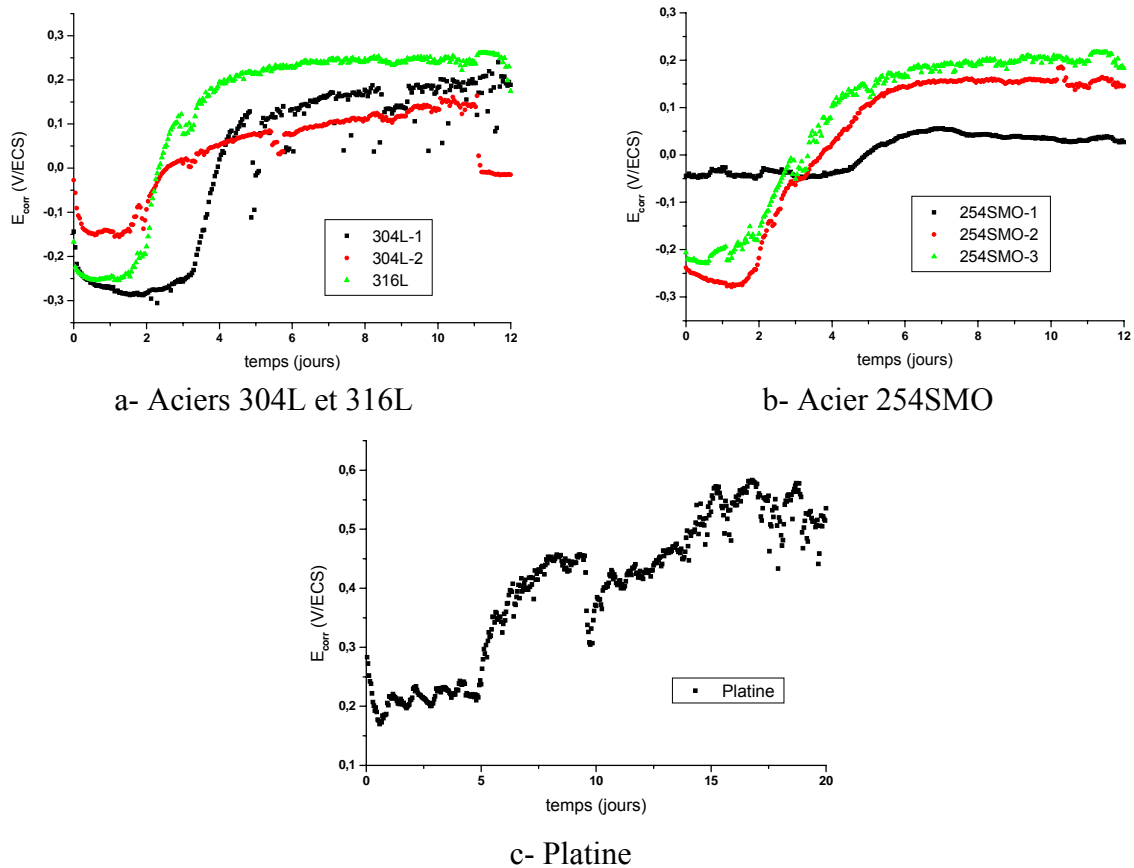
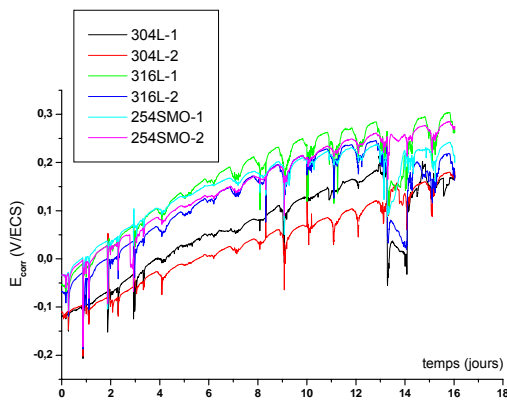


Figure 47 : suivi du potentiel de corrosion libre d'échantillons métalliques immergés le 20 Septembre dans la Seine sur le site de Poses-Amfreville ($T=14^\circ\text{C}$)

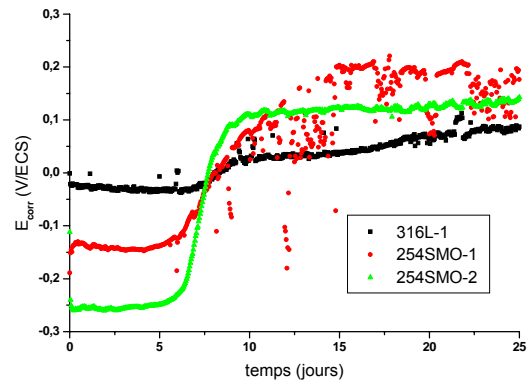
4.1.1.2 Influence de la température sur le temps de latence

L'augmentation de E_{corr} n'est jamais instantanée. Il y a toujours un temps de latence, une durée précédant la hausse du potentiel d'abandon. D'après les résultats présentés auparavant, il semble que la température de l'eau est un facteur primordial qui détermine la valeur du temps de latence. Pour confirmer cette idée, plusieurs immersions ont été réalisées sur le site de Choisy-le-Roi à différentes saisons. La température de l'eau de Seine varie avec la saison, ce qui permet de voir l'effet de la température sur l'évolution de E_{corr} . Les résultats obtenus sont visibles sur la figure 48 ; en particulier, le tableau de la figure 48-d résume les temps de latence mesurés en fonction de la température de l'eau de Seine.

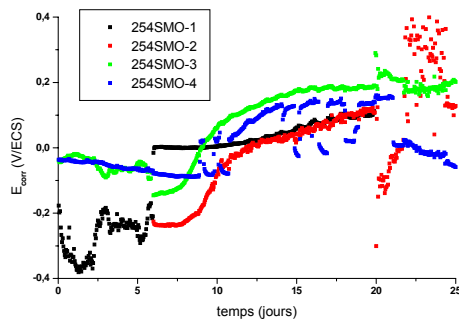
Les trois graphiques représentant $E_{corr}(t)$ montrent que quelle que soit la température de l'eau, le potentiel de corrosion libre augmente au cours du temps. Ici, la valeur maximale atteinte est +300 mV/ECS. Si l'on exclut l'expérience du 3 Avril, qui diffère des autres et sera interprétée plus loin, les résultats prouvent que le temps de latence dépend directement de la température de l'eau. Le temps de latence le plus élevé (25,3 jours) correspond à la température la plus faible (8°C), alors que le temps de latence le plus faible (5,9 jours) est trouvé pour la température la plus élevée (22°C). L'augmentation du potentiel de corrosion libre se produit d'autant plus tôt que la température de l'eau de rivière naturelle est élevée.



a- Immersion du 3 Avril (T = 15°C)



b- Immersion du 10 Juin (T = 22°C)



c- Immersion du 18 Octobre (T = 14°C)

Date d'immersion	Temps de latence (jours)
21 Janvier (8°C)	25,3
3 Avril (15°C)	0
10 Juin (22°C)	5,9
18 Octobre (14°C)	7,4

d- Temps de latence en fonction de la température

Figure 48 : suivi du potentiel de corrosion libre et temps de latence moyens pour des échantillons d'acier inoxydable immergés à différentes dates dans la Seine sur le site de Choisy-le-Roi

Ceci confirme l'idée émise précédemment, à savoir que la température de l'eau fixe la valeur du temps de latence. Ce résultat va dans le même sens que les travaux de Chamritski *et al.* [23, 31]

Il faut préciser que la température n'est certainement pas le seul paramètre ayant une influence sur le temps de latence précédant l'augmentation de E_{corr} . En particulier, la teneur en Carbone Organique Total (COT) et la vitesse de circulation de l'électrolyte sont susceptibles de modifier la vitesse de colonisation de la surface, la vitesse de formation du biofilm, et donc le temps de latence. Le COT prend en compte toutes les molécules organiques carbonées et est lié à la quantité de nutriments que reçoivent les microorganismes du biofilm. Le flux de nutriments est aussi dépendant de la vitesse de circulation de l'eau. De plus, une vitesse de circulation du fluide élevée à proximité de la surface de l'échantillon peut décrocher ou endommager le biofilm. Ces deux paramètres, COT et vitesse du fluide, pourraient donc avoir une influence sur le temps de latence. Certains travaux mentionnent cette influence, en particulier en eau de mer naturelle [10, 14, 47].

4.1.1.3 Influence du cycle jour/nuit sur l'évolution de E_{corr}

La figure 48–a diffère des autres évolutions du potentiel d'abandon. En effet, E_{corr} augmente immédiatement après l'immersion, et une oscillation semble s'ajouter sur la tendance globale à l'augmentation. La période de ces oscillations est de 24 heures. Ceci a pu être remarqué en raison d'une modification de la fréquence d'acquisition des potentiels. Dans les autres expériences, cette fréquence est de 1 heure, alors que pour le graphique –a, la fréquence d'acquisition est de 10 minutes. Les points plus rapprochés mettent bien en évidence l'ajout

d'une oscillation de période 24 heures sur le signal continu d'augmentation de E_{corr} . L'amplitude maximale des oscillations est de 70 mV, le signal « alternatif » n'est qu'une modulation du signal « continu ». Toutefois, l'existence de ces faibles oscillations peut apporter un éclairage nouveau sur le phénomène d'augmentation du potentiel d'abandon.

La période de ces oscillations indique qu'elles sont dues au cycle jour/nuit. Le cycle jour/nuit a donc une influence sur l'évolution du potentiel de corrosion libre.

L'alternance jour/nuit peut modifier de deux façons l'évolution du potentiel d'abandon. Tout d'abord, elle a un effet sur la température de l'eau, paramètre influençant les variations de E_{corr} . Cet effet est toutefois assez minime, car la rivière est un thermostat. L'alternance jour/nuit induit aussi une évolution périodique de l'éclairement. Une telle variation de l'éclairement a un impact fort sur le métabolisme des espèces microbiennes photosynthétiques du biofilm. Durant les périodes diurnes, ces espèces reçoivent beaucoup d'énergie lumineuse et produisent une quantité importante d'oxygène dissous. En revanche, durant les périodes nocturnes, l'absence d'éclairement limite très fortement la production d'oxygène par photosynthèse. Or la production locale d'oxygène au sein du biofilm et à l'interface biofilm/couche passive, en apportant une quantité supplémentaire d'oxygène, modifie le courant cathodique, donc le potentiel de corrosion libre. La photosynthèse du biofilm pourrait avoir une influence sur l'évolution de E_{corr} .

Ces observations vont dans le même sens que la littérature portant sur le sujet. Des mesures du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de mer naturelle lors d'alternances jour/nuit montrent que le potentiel varie entre les conditions éclairées et les conditions obscures [21]. L'immersion d'échantillons d'acier inoxydable 304 dans une eau de rivière souterraine a montré que l'augmentation de E_{corr} est bien plus importante en conditions éclairées (biofilm contenant des algues) que dans l'obscurité (biofilm uniquement bactérien). Il est conclu à partir de cette constatation que les microalgues photosynthétiques sont capables, par leur production d'oxygène à une échelle locale, de faire augmenter le courant de réduction de O_2 et par conséquent d'induire une augmentation du potentiel d'abandon [27, 28]. En particulier, certaines diatomées photosynthétiques peuvent générer une hausse du potentiel de corrosion libre d'environ 200 mV [32,33].

Enfin, les algues sont souvent les microorganismes les plus présents dans les biofilms d'eau douce. Tout ceci permet de penser que les oscillations du potentiel d'abandon sont dues à des variations de la production locale d'oxygène par les microorganismes photosynthétiques présents dans le biofilm, cette production étant plus quantitative dans des conditions éclairées (jour) que dans des conditions obscures (nuit).

4.1.1.4 Synthèse : évolution de E_{corr} au cours de l'immersion

Toutes les expériences d'immersion dans la Seine donnent des résultats en accord avec la littérature portant sur l'évolution du potentiel d'abandon des aciers inoxydables en eau de mer naturelle (§1.1.1.1) et en eau douce naturelle (§1.1.1.2). Elles permettent de fournir quelques précisions sur ce phénomène.

➤ **Augmentation systématique de E_{corr} :**

Lorsqu'un échantillon d'acier inoxydable est immergé dans une eau de rivière naturelle, son potentiel de corrosion libre augmente au cours du temps. La valeur maximale atteinte se situe dans l'intervalle [+100 ; +400 mV/ECS], ce qui montre que la dispersion des valeurs est relativement importante.

Cette augmentation ayant été observée pour tous les échantillons, elle peut être considérée comme systématique. Dans la limite des nuances testées, elle ne dépend pas de la composition de l'acier inoxydable. De plus, ce phénomène d'augmentation de E_{corr} ne se limite pas aux aciers inoxydables mais concerne aussi d'autres matériaux, tels que le platine par exemple.

➤ **Temps de latence avant augmentation de E_{corr} :**

Dans les conditions de cette étude, l'augmentation du potentiel de corrosion libre n'a quasiment jamais été immédiate. Il existe un laps de temps entre l'immersion dans l'eau de rivière naturelle et le début de l'accroissement de E_{corr} . Ce laps de temps est appelé « temps de latence » ou « temps d'incubation », car il doit être lié au temps nécessaire au biofilm pour se développer et croître à la surface des échantillons (sur le modèle des courbes de croissance microbienne). Le temps de latence avant augmentation du potentiel d'abandon est ici compris entre 0 et 26 jours. Il dépend fortement des conditions expérimentales, et en particulier de la température. Une faible température de l'eau de rivière naturelle génère un temps de latence élevé, autrement dit retarde l'augmentation de E_{corr} . Une faible teneur en COT et une vitesse de circulation d'eau élevée pourraient avoir un rôle similaire.

L'explication du phénomène la plus courante dans la littérature met en corrélation l'augmentation de E_{corr} avec une amplification des réactions cathodiques. Des courbes intensité-potentiel ont été réalisées sur des échantillons immergés en eau de Seine vers les potentiels cathodiques afin de connaître l'évolution du courant cathodique au cours du temps pendant l'immersion.

4.1.2 Evolution du courant cathodique au cours du temps

L'objectif de ce paragraphe est de déterminer l'évolution de la densité de courant cathodique (notée j et toujours discutée en valeur absolue) au cours du temps durant une immersion en eau de rivière naturelle, afin de considérer si cette hypothétique évolution peut être à l'origine de l'augmentation de E_{corr} . Pour cela, des mesures électrochimiques dynamiques sont effectuées sur des échantillons d'acier inoxydable dans les premiers temps de l'immersion (potentiel de corrosion libre faible, situé entre -200 et -50 mV/ECS) et après augmentation de E_{corr} (potentiel de corrosion libre compris entre +100 et +400 mV/ECS). La comparaison des résultats permet de mesurer le courant cathodique avant et après augmentation de E_{corr} , et de visualiser ainsi une éventuelle augmentation de la densité de courant cathodique.

La technique employée ici est la polarisation cathodique, qui consiste à tracer des courbes intensité-potentiel en effectuant un balayage en potentiel depuis E_{corr} jusqu'à des valeurs de potentiels plus faibles (ici -2 V/ECS). De telles courbes de polarisation cathodique sont tracées sur les trois nuances d'acier inoxydables avant et après augmentation de E_{corr} , au niveau des sites de Choisy-le-Roi et de Flins. La vitesse de balayage choisie est de 5 mV/s.

Sur les différents sites d'immersion en eau de rivière naturelle, il n'a pas été possible de mettre en place un dispositif expérimental permettant des mesures électrochimiques dynamiques *in situ* sur des échantillons enrobés, trop compliqué à mettre en oeuvre. En revanche, le protocole de « quasi *in situ* » a pu être utilisé (§2.3.1.4).

Des courbes de polarisation cathodique sont tracées sur site sur des échantillons d'acier inoxydable immergés depuis 30 minutes dans de l'eau de Seine prélevée sur le site même et introduite dans un bécher. Ces courbes sont ainsi acquises avant augmentation de E_{corr} . Par ailleurs, des échantillons (non enrobés) immergés dans la Seine depuis plusieurs mois (sur un portique d'immersion servant aux mesures de E_{corr}) et ayant subi une augmentation de potentiel de corrosion libre ont été prélevés, introduits rapidement (après au maximum 1 minute de passage à l'air) dans un bécher contenant l'eau du site, puis soumis à un balayage en potentiel du côté des potentiels plus cathodiques. Les courbes de polarisation cathodique

ainsi obtenues ne sont pas à proprement parler des mesures *in situ*, c'est la raison pour laquelle elles sont qualifiées de « quasi *in situ* ». Elles permettent d'avoir une bonne idée du courant cathodique dans l'eau de rivière naturelle. Le faible temps de passage à l'air limite l'évolution de l'interface biofilm/couche passive/métal. Cependant, la réduction de l'oxygène est certainement différente des conditions *in situ*, en raison d'un gradient de O_2 différent dans la solution.

4.1.2.1 Influence du lieu d'exposition

Des courbes de polarisation cathodique sont tracées suivant le protocole « quasi *in situ* » sur les sites de Choisy-le-Roi et de Flins, avant et après augmentation de E_{corr} . Les résultats obtenus à Choisy sont présentés pour les nuances 316L et 254SMO entre -1,5 et +0,5 V/ECS sur la figure 49.

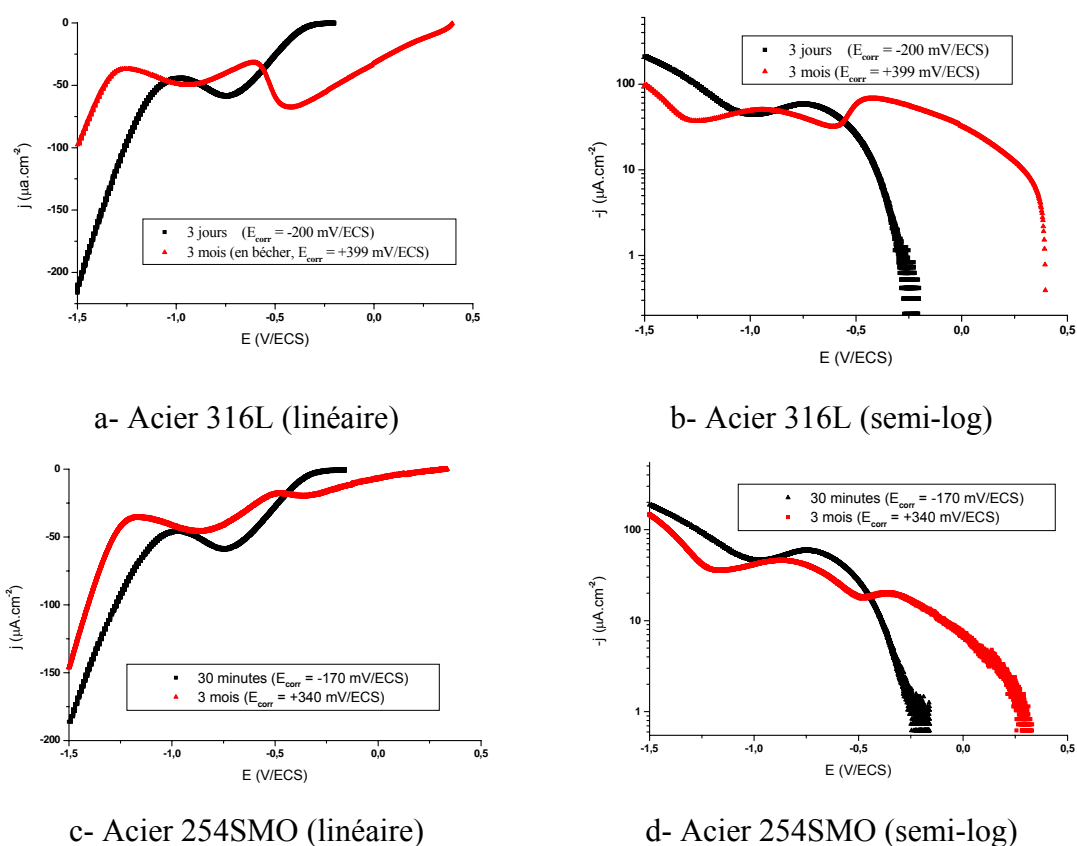


Figure 49 : courbes de polarisation cathodique réalisées « quasi *in situ* » sur des échantillons d'acier inoxydable immergés dans la Seine sur le site de Choisy-le-Roi, à différents temps d'immersion, avant et après augmentation de E_{corr} (vitesse de balayage : 5 mV/s, échelles linéaire et semi-logarithmique).

Sur le site de Choisy-le-Roi, la réduction de l'oxygène se fait sur l'échantillon témoin (avant augmentation de E_{corr}) à des potentiels inférieurs à -0,3 V/ECS. La densité de courant maximale de la réduction de O_2 , sur le palier limite de diffusion, est d'environ $59 \mu A \cdot cm^{-2}$ sur les deux nuances (figures 49–b et –d).

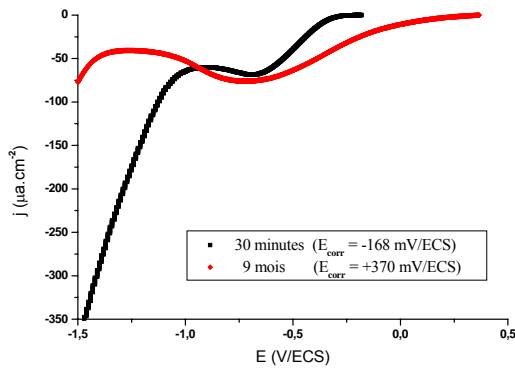
En revanche, sur l'échantillon immergé depuis 3 mois, le courant cathodique augmente (en valeur absolue) à proximité de E_{corr} , à des surtensions cathodiques très faibles. La densité de courant est déjà de $9,5 \mu A \cdot cm^{-2}$ à +300 mV/ECS, alors qu'il faut atteindre un potentiel aussi faible que -400 mV/ECS pour obtenir cette valeur de densité de courant sur l'échantillon témoin. Un premier maximum local de $|j|$ est effectivement obtenu entre -460 et -380

mV/ECS. Ce maximum semble correspondre à une nouvelle réduction, la réduction d'un oxydant qui n'était pas présent après seulement 30 minutes d'immersion. Cet oxydant est limité par la diffusion, il est présent à l'état dissous dans l'électrolyte à proximité de la surface. La réduction de l'oxygène dissous est ensuite retrouvée aux potentiels inférieurs à -0,5 V/ECS, atteignant un maximum sur le palier de diffusion à -0,75 V/ECS. Ce maximum est assez proche (quoique légèrement plus faible, cf. tableau 14) de la densité de courant maximale de la réduction de O₂ sur les échantillons témoins.

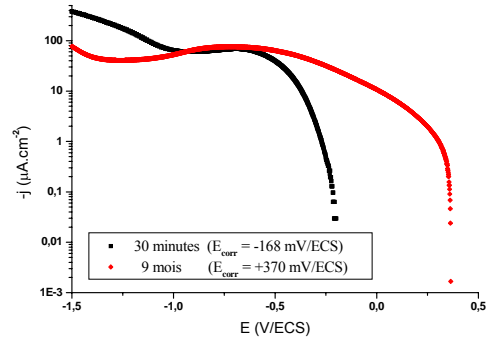
Au cours de l'immersion, une nouvelle réduction est apparue entre E_{corr} et -0,5 V/ECS. Ces courbes de polarisation cathodique peuvent expliquer l'augmentation du potentiel de corrosion libre : une nouvelle espèce oxydante est présente en solution à proximité de la surface métallique (très probablement synthétisée par le biofilm en son sein) et est réduite à une faible surtension cathodique (plus faible que la surtension de la réduction de l'oxygène), ce qui implique une augmentation du courant cathodique (en valeur absolue) à de faibles surtensions cathodiques entraînant une augmentation du potentiel de corrosion libre.

Les résultats sont identiques sur les deux nuances et peuvent être étendus à l'acier 304L. La composition chimique de l'acier inoxydable ne modifie pas l'évolution du courant cathodique au cours de l'immersion.

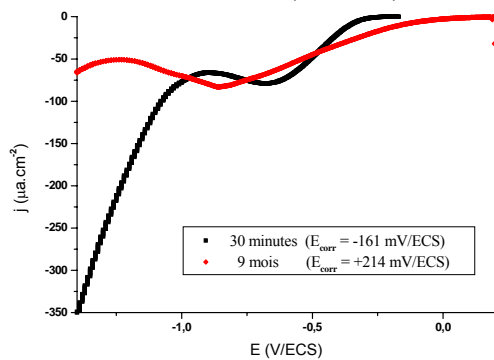
Les six courbes de polarisation cathodique tracées en béccher sur le site de Flins (protocole « quasi *in situ* ») sont visibles sur la figure 50.



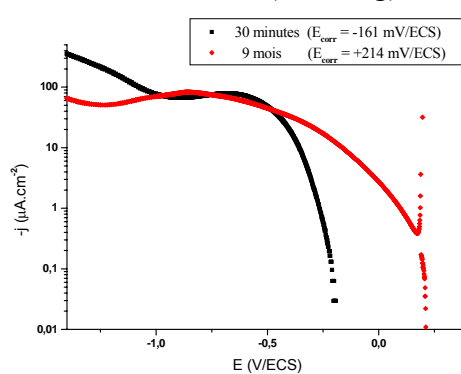
a- Acier 304L (linéaire)



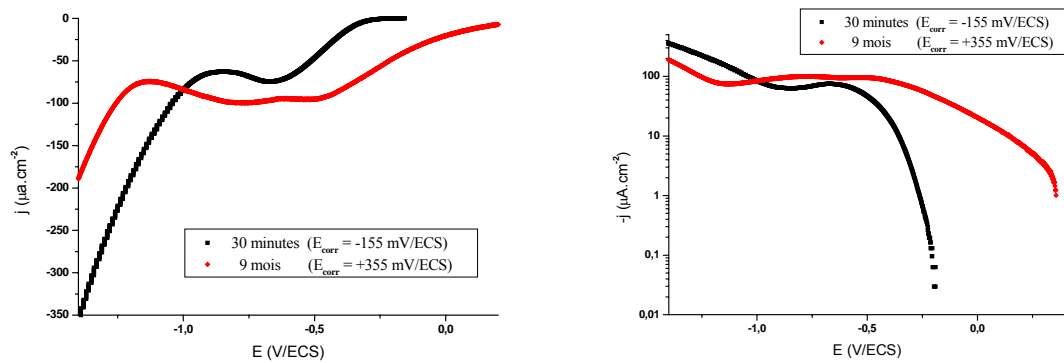
b- Acier 304L (semi-log)



c- Acier 316L (linéaire)



d- Acier 316L (semi-log)



e- Acier 254SMO (linéaire)

f- Acier 254SMO (semi-log)

Figure 50 : courbes de polarisation cathodique réalisées sur des échantillons d’acier inoxydable prélevés à deux temps d’immersion différents (avant et après augmentation de E_{corr}) dans la Seine sur le site de Flins et immergés dans un bécher contenant l’eau du site (vitesse de balayage : 5 mV/s, échelles linéaire et semi-logarithmique, « faux *in situ* »)

Les trois courbes tracées 30 minutes apr es immersion ressemblent aux courbes de polarisation cathodique témoins du site de Choisy-le-Roi : la densité de courant cathodique reste très faible depuis E_{corr} jusqu’à -0,3 V/ECS, puis la réduction de l’oxygène (et des oxydes du film passif) apparaît. Le palier de diffusion de l’oxygène se situe entre -1 et -0,6 V/ECS. La réduction de l’eau a lieu aux potentiels inférieurs à -1 V/ECS.

En revanche, la densité de courant cathodique augmente (en valeur absolue)   des potentiels plus élevées lorsque les échantillons ont été immergés pendant 9 mois et ont un potentiel de corrosion libre supérieur à +200 mV/ECS. La densité de courant cathodique est déjà importante à des potentiels cathodiques faibles, proches de E_{corr} . Par exemple, la valeur de $-10 \mu A \cdot cm^{-2}$ n’est atteinte qu’à -370 mV/ECS sur un échantillon d’acier 304L immergé depuis 30 minutes, alors qu’elle est déjà atteinte à 15 mV/ECS pour un échantillon d’acier 304L immergé depuis 9 mois.

Le courant cathodique s’élève à des potentiels plus positifs lorsque le temps d’immersion augmente, ce qui pourrait correspondre à une diminution de la surtension de la réduction de O_2 . Une telle accélération de la cinétique de réduction de l’oxygène durant l’immersion aurait pour conséquence directe une augmentation du potentiel d’abandon. Comme sur le site de Choisy-le-Roi, l’élévation de $|j|$   des valeurs de potentiel élevées peut aussi correspondre à la réduction d’un nouvel oxydant synthétisé dans le biofilm au cours de l’immersion.

La densité de courant du palier de diffusion de l’oxygène ne varie pas de façon significative avec le temps d’immersion, ce qui indique que la concentration en oxygène dissous à proximité de la surface ne varie pas au cours de l’immersion. Le biofilm ne limite pas l’apport d’oxygène par diffusion vers la surface. Les densités de courant cathodique du palier de diffusion de O_2 des différentes expériences sont données dans le tableau 14.

Site	Choisy-le-Roi		Flins		
	316L	254SMO	304L	316L	254SMO
Nuance d’acier inoxydable	316L	254SMO	304L	316L	254SMO
ΔE_{corr} (mV)	599	510	538	375	510
Avant augmentation de E_{corr} ($\mu A/cm^2$)	- 59	-59	-67	-80	-74
Après augmentation de E_{corr} ($\mu A/cm^2$)	- 50	-47	-76	-82	-99

Tableau 14 : valeurs de la densité de courant cathodique sur le plateau de diffusion de O_2 pour des échantillons d’acier inoxydables immergés dans l’eau de Seine, avant et après augmentation de E_{corr}

Ainsi, sur le site de Flins, l'augmentation du potentiel d'abandon des aciers inoxydables paraît être due soit à une augmentation de la cinétique de réduction de l'oxygène dissous, se traduisant par une diminution de la surtension cathodique de cette réaction, soit à la synthèse d'un nouvel oxydant par les microorganismes du biofilm au cours de l'immersion.

Sur le site de Choisy-le-Roi, la cinétique de la réduction de l'oxygène n'évolue pas de façon significative, en revanche il semble qu'une nouvelle espèce oxydante présente à proximité de la surface métallique soit réduite à de faibles surtensions cathodiques, à des potentiels plus élevés que l'oxygène. Ce nouveau composé est probablement synthétisé à l'intérieur même du biofilm.

4.1.2.2 Synthèse : évolution du comportement cathodique au cours de l'immersion

➤ Amplification des réactions cathodiques :

La densité de courant cathodique évolue au cours du temps sur les deux sites considérés. Dans les deux cas, elle s'élève en valeur absolue à des potentiels plus élevés après un long temps de séjour dans l'eau de Seine qu'après quelques minutes d'immersion.

➤ Influence du lieu d'exposition :

Sur l'un des sites (Choisy-le-Roi), une nouvelle réduction apparaît à partir d'une surtension cathodique largement inférieure (en valeur absolue) à la surtension de la réduction de l'oxygène. Une nouvelle espèce oxydante présente à proximité de la surface est réduite entre -0,45 V/ECS et E_{corr} . La cinétique de réduction de l'oxygène n'est pas modifiée. L'augmentation du potentiel de corrosion libre peut s'expliquer sur le site de Choisy-le-Roi par la synthèse dans le biofilm d'un oxydant puissant apporté à la surface par diffusion et réduit à des potentiels plus élevés que l'oxygène.

Sur l'autre site (Flins), l'élévation du courant cathodique à des potentiels élevés peut correspondre soit à une évolution temporelle de la cinétique de réduction de l'oxygène dissous, soit à la réduction d'un nouvel oxydant. Aucune vague de réduction nouvelle n'étant détectée, cet oxydant serait nécessairement en contact direct avec l'électrode.

Dans les deux cas, la hausse de la densité de courant à de faibles surtensions cathodiques (potentiels légèrement inférieurs à E_{corr}) entraîne l'accroissement du potentiel d'abandon.

4.1.3 Evolution du comportement anodique au cours du temps

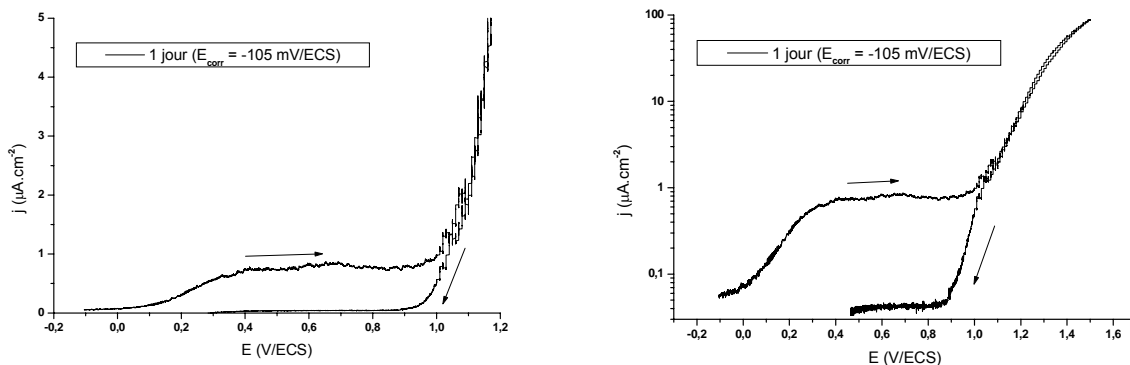
L'augmentation du potentiel de corrosion libre en eau de rivière naturelle a été démontrée. Cette hausse de E_{corr} est un danger réel si le potentiel d'abandon dépasse la valeur du potentiel de piqûre E_{piq} . En effet, des piqûres de corrosion peuvent alors se former et dégrader l'échantillon d'acier inoxydable.

Pour analyser le risque engendré par une immersion en eau de rivière naturelle, l'évolution du potentiel de piqûre au cours du temps doit être connue. Pour cela, des courbes de polarisation anodique et des chronopotentiométries galvanostatiques à $10 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ sont tracées avant et après augmentation de E_{corr} , sur les sites de Choisy-le-Roi et de Flins. Comme pour les courbes de polarisation cathodique, les expériences sont réalisées selon le protocole qualifié de « quasi *in situ* ».

4.1.3.1 Courbes de polarisation anodique

Le tracé d'un balayage aller-retour en potentiel du côté des potentiels anodiques (depuis E_{corr} jusqu'à 1,5 V/ECS, puis retour à E_{corr}) sur un échantillon d'acier 304L immergé depuis 1 jour dans l'eau de Seine sur le site de Choisy est visible sur la figure 51. L'absence de boucle hystérésis caractéristique de la corrosion par piqûres est très nette. Aucune corrosion par piqûres ne se développe sur l'échantillon d'acier 304L, ce qui est due à la faible teneur en ions chlorures (environ 20 mg/L). Certains ions présents dans le milieu naturel peuvent par ailleurs jouer le rôle d'inhibiteur de corrosion et empêcher l'amorçage des piqûres (présence de SO_4^{2-} à une concentration de 31 mg/L et de NO_3^- à une concentration de 25 mg/L). La nuance 304L est celle qui présente la résistance à la corrosion par piqûres la plus faible, et le tracé des courbes de polarisation anodique des autres nuances indique qu'elles ne subissent pas non plus de corrosion par piqûres. L'eau de rivière naturelle est donc tellement peu chargée en ions agressifs (Cl) et tellement chargée en ions inhibiteurs que la corrosion par piqûres ne peut affecter aucune des nuances d'acier inoxydable choisies, dans les conditions expérimentales de cette étude.

La densité de courant augmente à partir de +100 mV/ECS et prend une valeur d'environ $0,8 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ entre +400 et +900 mV/ECS. Ce courant anodique, qui ne correspond ni à de la corrosion par piqûres ni à l'oxydation de l'eau (potentiels trop faibles), est nécessairement dû à une (ou des) oxydation(s) se produisant au niveau de la couche d'oxydes (ou éventuellement dans le biofilm). Dans cet intervalle de potentiels, le courant est le plus souvent attribué à l'oxydation du fer(II) en fer(III) et/ou du chrome(III) en chrome(VI) dans la couche passive. Aux potentiels supérieurs à 1 V/ECS, la réaction d'oxydation prépondérante est l'oxydation de l'eau produisant un dégagement gazeux de dioxygène.



a- Coordonnées linéaires

b- Coordonnées semi-logarithmiques

Figure 51 : courbe de polarisation anodique acquise selon le protocole « quasi *in situ* » sur un échantillon d'acier 304L immergé depuis 1 jour dans la Seine sur le site de Choisy-le-Roi (vitesse de balayage : 0,15 mV/s, échelles linéaire et semi-logarithmique)

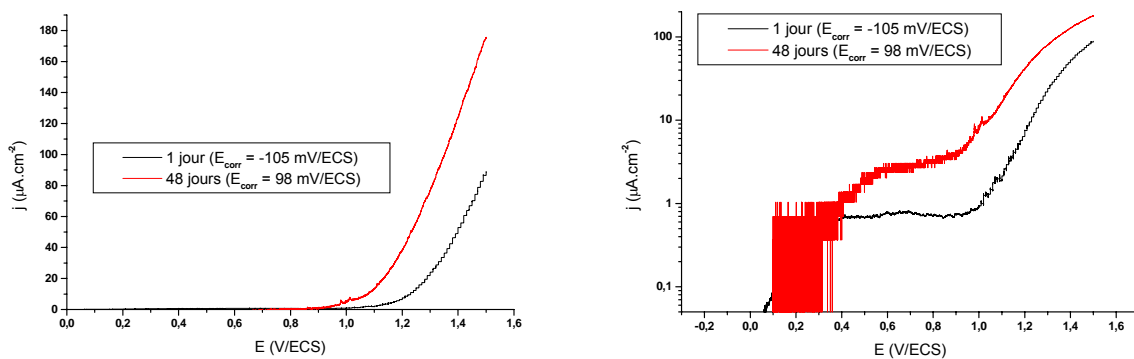
Des courbes de polarisation anodique (depuis E_{corr} jusqu'à 1,5 V/ECS) réalisées à Choisy-le-Roi sur des échantillons d'acier inoxydable 304L sont tracées sur la figure 52. Les mesures sont faites à deux temps d'immersion différents (1 jour et 48 jours), dates se situant avant et après l'augmentation du potentiel de corrosion libre.

Le courant anodique sur l'acier inoxydable 304L varie peu au cours de l'immersion. Entre 0,4 et 0,9 V/ECS, le courant anodique est légèrement plus élevé après 48 jours d'immersion qu'après 1 jour de contact avec l'eau de rivière naturelle. Le courant passif à +700 mV/ECS est de $2,8 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ à 48 jours, alors qu'il n'est que de $0,8 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ après 1 jour. L'oxydation des éléments réducteurs (fer(II) et/ou chrome(III)) contenus dans le film passif paraît plus quantitative en fin d'immersion. Ceci incite à penser que la couche d'oxydes formant le film

passif évolue (faiblement durant l'immersion). Très vraisemblablement, l'une des deux oxydations (fer(II) en fer(III), chrome(III) en chrome(VI)) est majoritaire, et l'évolution de la composition chimique du film passif au contact de l'eau de rivière naturelle va dans le sens d'une augmentation de la quantité en élément oxydé majoritairement (et par conséquent d'une diminution de l'autre élément). La teneur de cet élément augmentant dans la couche passive, le courant de son oxydation augmente. D'après les résultats obtenus en XPS (cf. §4.4), le film passif de l'acier 304L s'enrichit en chrome au cours de l'immersion dans le milieu « eau de rivière naturelle ». L'oxydation majoritaire semble par conséquent être celle du chrome(III) en chrome(VI).

Sur le site de Choisy-le-Roi, l'évolution de la composition chimique du film passif au contact de l'eau de rivière naturelle a pour conséquence une légère augmentation du courant anodique aux potentiels légèrement supérieurs au potentiel de corrosion libre (entre +400 et +900 mV/ECS).

La surtension anodique à partir de laquelle se produit le dégagement gazeux de dioxygène ne semble pas évoluer avec le temps d'immersion (figure 52-b). Elle reste comprise entre 0,9 et 1 V/ECS. En revanche, le courant anodique augmente beaucoup plus vite une fois cette valeur de potentiel franchie : en effet, aux potentiels supérieurs à 1 V/ECS, la pente de la courbe intensité-potential est plus élevée après 48 jours d'immersion qu'après 1 seul jour de contact avec l'eau de rivière naturelle. La réactivité de la surface vis-à-vis de l'oxydation de l'eau et du dégagement gazeux de O_2 semble augmenter avec le temps d'immersion.



a- Acier 304L (coordonnées linéaires)

b- Acier 304L (coordonnées semi-log)

Figure 52 : courbe de polarisation anodique d'un échantillon d'acier 304L immergé dans la Seine sur le site de Choisy-le-Roi, à deux temps d'immersion différents, avant et après augmentation de E_{corr} (vitesse de balayage : 0,15 mV/s, échelles linéaire et semi-logarithmique, protocole « quasi *in situ* »)

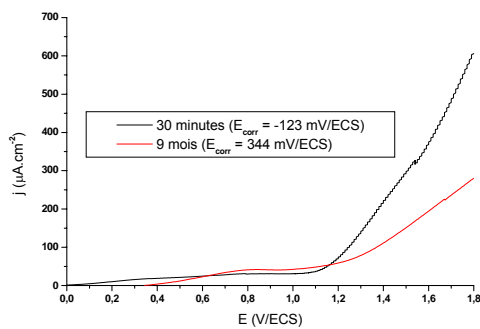
Des mesures similaires sont réalisées sur des échantillons d'acier inoxydable 304L et 254SMO immergés dans l'eau de Seine sur le site de Flins. Les résultats sont indiqués sur la figure 53. Ils sont identiques pour les deux nuances d'acier inoxydable. La composition chimique ne semble pas avoir d'influence sur le comportement anodique.

Le courant anodique pour des potentiels compris entre 0,6 et 1,1 V/ECS est légèrement plus élevé après 9 mois d'immersion qu'après 30 minutes de contact avec l'eau de rivière naturelle. Ce courant anodique est lié à l'oxydation du fer(II) en fer(III) et/ou à l'oxydation du chrome(III) en chrome(VI). L'évolution de la couche d'oxydes durant l'immersion sur le site de Flins se fait au bénéfice de l'élément oxydé majoritairement (et par conséquent au détriment de l'élément oxydé minoritairement), quelle que soit la nuance considérée. Dans le paragraphe 4.4, les analyses XPS indiquent des différences de composition chimique entre le film passif de l'acier 304L et celui de l'acier 254SMO. La couche d'oxydes formée en eau de rivière naturelle sur la nuance 304L est enrichie en chrome (par rapport à un échantillon témoin immergé en eau de rivière artificielle à 0,3 g/L de NaCl), alors que la couche d'oxydes

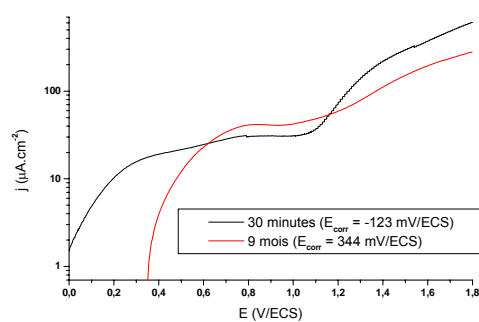
formée sur la nuance 254SMO est fortement enrichie en fer. Malgré ces différentes évolutions des couches passives, le courant anodique entre 0,6 et 1,1 V/ECS varie dans le même sens au cours de l'immersion.

Sur le site de Flins, l'évolution de la composition chimique du film passif au contact de l'eau de rivière naturelle a pour conséquence une légère augmentation du courant anodique aux potentiels supérieurs au potentiel de corrosion libre (entre +600 et +1100 mV/ECS), quelle que soit la nuance considérée.

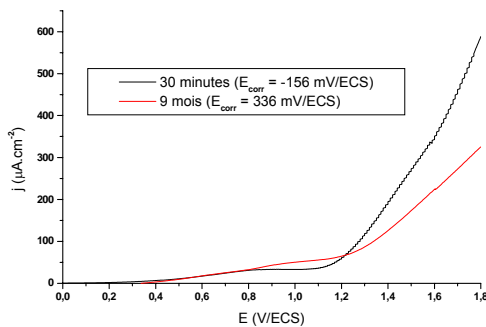
La surtension anodique nécessaire à la production d'oxygène n'évolue pas significativement au cours du temps. Elle reste comprise entre +0,95 et +1,1 V/ECS. En revanche, aux potentiels supérieurs à 1,1 V/ECS, la pente de la courbe est plus faible après un long temps d'immersion (9 mois) que sur l'échantillon immergé pendant 30 minutes. La réactivité de la surface vis-à-vis de l'oxydation de l'eau et du dégagement gazeux de O₂ semble diminuer au cours de l'immersion, pour les deux nuances testées. Cette réactivité dépend de la composition chimique de l'extrême surface du film passif, qui évolue lors de l'immersion dans l'eau de Seine.



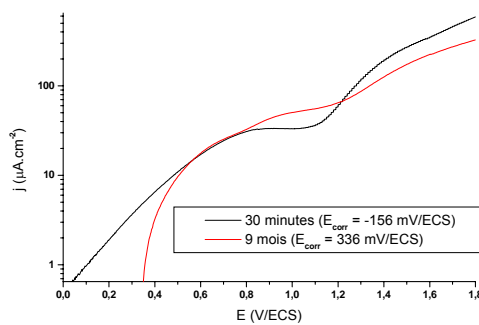
a- Acier 304L (coordonnées linéaires)



b- Acier 304L (coordonnées semi-log)



c- Acier 254SMO (coordonnées linéaires)



d- Acier 254SMO (coordonnées semi-log)

Figure 53 : courbe de polarisation anodique d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans la Seine sur le site de Flins, à deux temps d'immersion différents, avant et après augmentation de E_{corr} (vitesse de balayage : 5 mV/s, échelles linéaire et semi-logarithmique, protocole « quasi *in situ* »)

Les résultats obtenus par polarisation anodique ne sont pas parfaitement identiques d'un site à l'autre. Dans les deux cas, la densité de courant augmente faiblement durant l'immersion pour des potentiels compris *grosso modo* entre 0,5 et 1 V/ECS. Dans cette gamme de potentiels, le courant anodique est généré par l'oxydation du fer(II) en fer(III) et/ou par l'oxydation du chrome(III) en chrome(VI). L'évolution des couches passives des différents aciers inoxydables au contact de l'eau de rivière naturelle génère le même courant d'oxydation des espèces réductrices du film passif (fer(II) et chrome(III)) durant un balayage en potentiel. En revanche, la réactivité de surface vis-à-vis de l'oxydation de l'eau en oxygène ne varie pas de la même façon au cours de l'immersion sur les deux sites.

Sur les deux sites d'immersion, le comportement anodique ne varie que très peu durant l'exposition des échantillons d'acier inoxydable au milieu « eau de rivière naturelle ».

4.1.3.2 Chronopotentiométrie galvanostatique

Cette méthode, développée par Frangini *et al.* [233-235], est employée uniquement sur le site de Flins. Elle consiste à mesurer l'évolution du potentiel au cours du temps lorsque l'échantillon est soumis à une polarisation galvanostatique de $10 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$. Les résultats obtenus sur les trois nuances d'acier inoxydable, soit après 30 minutes, soit après 9 mois d'immersion dans l'eau de Seine du site de Flins, sont donnés sur la figure 54. Ils sont identiques pour les trois nuances d'acier inoxydable et confirment que la corrosion par piqûre ne peut pas se développer dans les conditions expérimentales du milieu naturel.

Pour l'échantillon immergé depuis 30 minutes, le potentiel augmente rapidement jusqu'à atteindre 1,1 V/ECS après environ 5 minutes. Cette valeur correspond à la surtension nécessaire à la production d'oxygène sur le matériau.

Pour l'échantillon immergé depuis 9 mois, l'augmentation du potentiel est plus lente entre 0,6 et 0,9 V/ECS. L'inflexion de la courbe aux alentours de +750 mV/ECS indique qu'une oxydation se produit. Cette oxydation correspond à l'oxydation du fer(II) en fer(III) et/ou à l'oxydation du chrome(II) en chrome(III). Puis le potentiel atteint une valeur stationnaire d'environ 1 V/ECS à partir de laquelle a lieu le dégagement de dioxygène sur le matériau.

Cette technique complémentaire permet de mettre en perspective les résultats obtenus par polarisation potentiodynamique sur le site de Flins. Les courbes de polarisation anodique ne montrent pas de réelle évolution du potentiel de la production d'oxygène, alors que la méthode galvanostatique indique que ce potentiel diminue avec le temps d'immersion. De plus, la méthode galvanostatique révèle une différence au niveau de l'oxydation du fer(II) et/ou du chrome(III) entre les deux types d'échantillons : les courbes tracées à 30 minutes ne présentent pas d'inflexion entre 0,6 et 0,9 V/ECS, ce qui veut dire que l'oxydation du fer(II) et/ou du chrome(III) est négligeable en début d'immersion, alors qu'elle devient quantitative après 9 mois de contact avec l'eau de rivière naturelle. Ce résultat accentue l'interprétation des courbes de polarisation anodique, sur lesquelles le courant d'oxydation entre 0,6 et 1 V/ECS diffère légèrement à 30 minutes et à 3 mois.

Les résultats acquis par cette méthode stationnaire et les résultats obtenus par le balayage potentiodynamique à 5 mV/s sont complémentaires. Cette vitesse de balayage rapide a été choisie notamment pour éviter des perturbations dues à des évolutions de la couche passive, mais elle ne permet pas de mesurer des courants stationnaires. La méthode galvanostatique, qui n'utilise pas de balayage, permet de suivre les évolutions du film passif.

Il semble que sur le site de Flins, la surtension du dégagement gazeux de O_2 diminue légèrement avec le temps d'immersion, ce qui est mis en évidence par les expériences de chronopotentiométrie mais pas par les balayages en potentiel vers les valeurs anodiques. Il semble aussi que l'oxydation des éléments réducteurs du film passif (fer(II), chrome(III), autres espèces réductrices éventuellement déposés ou biodéposés) devienne plus quantitative au fur et à mesure de l'immersion, ce qui est démontré par les deux techniques.

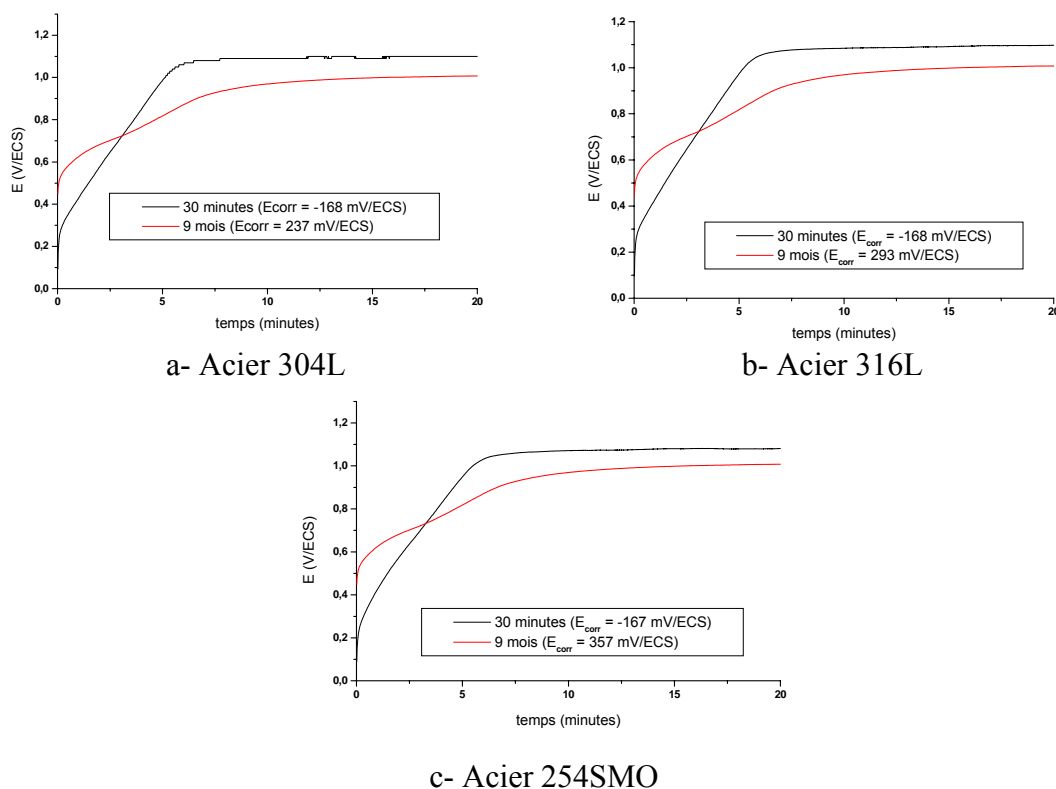


Figure 54 : chronopotentiométrie à $10 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans la Seine sur le site de Flins, à deux temps d'immersion différents, avant et après augmentation de E_{corr}

4.1.3.3 Synthèse

➤ Absence de corrosion par piqûres pour le type d'échantillons utilisé

L'eau de rivière naturelle considérée contient suffisamment peu d'ions chlorures agressifs et une quantité suffisante d'ions inhibiteurs (nitrates, sulfates) pour empêcher l'apparition de la corrosion par piqûres. Aucun échantillon immergé dans l'eau de Seine ne présente de piqûre de corrosion, et les courbes intensité-potential côté anodique (ainsi que les chronopotentiométries galvanostatiques à $10 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$) montrent que, même à des potentiels élevés, aucune piqûre de corrosion ne se forme. Pour le type d'échantillons utilisé, le risque de développement de corrosion par piqûres est donc quasiment nul dans les conditions expérimentales de cette étude, et ce même lorsque le potentiel de corrosion libre des échantillons augmente. Toutefois, pour des échantillons présentant des préparations de surface et/ou des géométries différentes, un développement de corrosion localisée (par effet de crevasse par exemple) est toujours possible. L'augmentation du potentiel de corrosion libre représente alors une augmentation réelle du risque de corrosion localisée.

➤ Evolution du courant anodique au cours de l'immersion :

Les manipulations effectuées sur la nuance 304L au niveau du site de Choisy-le-Roi montrent que la couche passive évolue au contact de l'eau de rivière naturelle. La réactivité de la surface vis-à-vis du dégagement gazeux de O_2 augmente légèrement avec le temps d'immersion. De plus, les espèces du film passif susceptibles d'être oxydées (majoritairement le fer(II) et le chrome(III)) ont une stoechiométrie qui varie au cours de l'immersion. Le courant d'oxydation de ces espèces (entre 0,4 et 1 V/ECS) est plutôt plus important après 48 jours d'immersion qu'après 1 jour. L'évolution de la composition chimique du film passif

semble se faire au bénéfice de l'espèce dont l'oxydation est majoritaire dans cette gamme de potentiels. Cette élévation du courant anodique paraît dans tous les cas très faible.

Les résultats obtenus sur les trois nuances d'acier inoxydable au niveau du site de Flins montrent que le temps d'immersion n'a qu'une très légère influence sur le courant anodique. L'effet de l'immersion sur la réactivité de surface vis-à-vis de l'oxydation de l'eau en oxygène semble différer d'un site à l'autre : cette réactivité augmente au cours du temps à Choisy-le-Roi mais diminue à Flins. Toutefois, dans les deux cas, cette évolution reste faible. Les courbes de polarisation anodique et les chronopotentiométries galvanostatiques mettent en évidence le même phénomène qu'à Choisy-le-Roi. Elles tendent à montrer qu'après 9 mois d'immersion sur le site de Flins, la quantité de matière des espèces réductrices (potentiellement oxydables) du film passif (et des éventuels dépôts de surface pouvant être oxydés) soit un peu plus importante qu'après 30 minutes. Ceci provient soit de l'évolution de la composition chimique de la couche passive (au bénéfice de l'espèce dont l'oxydation est majoritaire entre 0,6 et 0,9 V/ECS), soit du dépôt d'une espèce réductrice sur la surface des échantillons (assez peu probable, les dépôts étant généralement des oxydes). Les trois nuances ont un comportement anodique identique, la composition de l'alliage ne modifie pas l'évolution du courant passif dans l'eau de rivière naturelle.

➤ **L'augmentation de E_{corr} est due principalement à l'évolution des réactions cathodiques.**

Pour conclure, l'évolution du courant anodique sur un échantillon d'acier inoxydable en contact avec une eau de rivière naturelle peut être significative mais est faible en valeur absolue. Le courant varie très peu entre une mesure effectuée avant et une mesure effectuée après l'augmentation de E_{corr} . Les légères variations du comportement anodique, en particulier les variations du courant d'oxydation du fer(II) et/ou du chrome(III) et de la réactivité de la surface par rapport à l'oxydation de l'eau en oxygène, sont probablement dues à l'évolution de la couche passive au contact de l'eau de rivière naturelle. Les analyses XPS permettront de connaître cette évolution.

Toutefois, l'évolution du courant anodique est trop faible pour pouvoir entraîner une variation significative du potentiel de corrosion libre. **La cause principale de l'augmentation de E_{corr} est donc l'évolution du courant cathodique.**

4.1.4 Impédance électrochimique en eau de rivière naturelle

Des mesures d'impédance électrochimique sont effectuées sur les trois sites (Choisy-le-Roi, Flins et Poses-Amfreville) pour caractériser les interfaces du système métal/film passif/biofilm/électrolyte en eau de rivière naturelle. Comme pour les autres mesures dynamiques, ces expériences sont réalisées selon le protocole « quasi *in situ* » avant et après augmentation du potentiel de corrosion libre.

Les mesures d'impédance sur les sites de Choisy-le Roi et de Flins sont visibles respectivement sur les figures 55 et 56. Les échantillons du site de Poses-Amfreville sont utilisés d'une manière différente mais servent aussi à étudier l'effet du biofilm sur l'impédance du système électrochimique. Ils sont prélevés dans l'eau de Seine du site de Poses puis réintroduits en bécher dans cette même eau. Une mesure d'impédance est alors effectuée (jusqu'ici, le mode opératoire est conforme au protocole « quasi *in situ* »). Le biofilm des échantillons est ensuite décroché mécaniquement par écouvillonnage, puis une mesure d'impédance est réalisée. La comparaison des diagrammes d'impédance en la

présence et en l'absence du biofilm peut donner des indications sur la contribution du biofilm à l'impédance des échantillons (figure 57).

4.1.4.1 Influence du lieu d'exposition

Les diagrammes de Nyquist des trois nuances d'acier inoxydable sur le site de Choisy-le-Roi indiquent que l'impédance varie peu durant l'immersion. Les autres représentations graphiques des données expérimentales, non représentées ici, n'indiquent pas non plus d'évolution de l'impédance. Le contact avec l'eau de rivière naturelle n'a pas d'effet majeur sur l'impédance. La capacité et la résistance du film passif n'évoluent pas significativement.

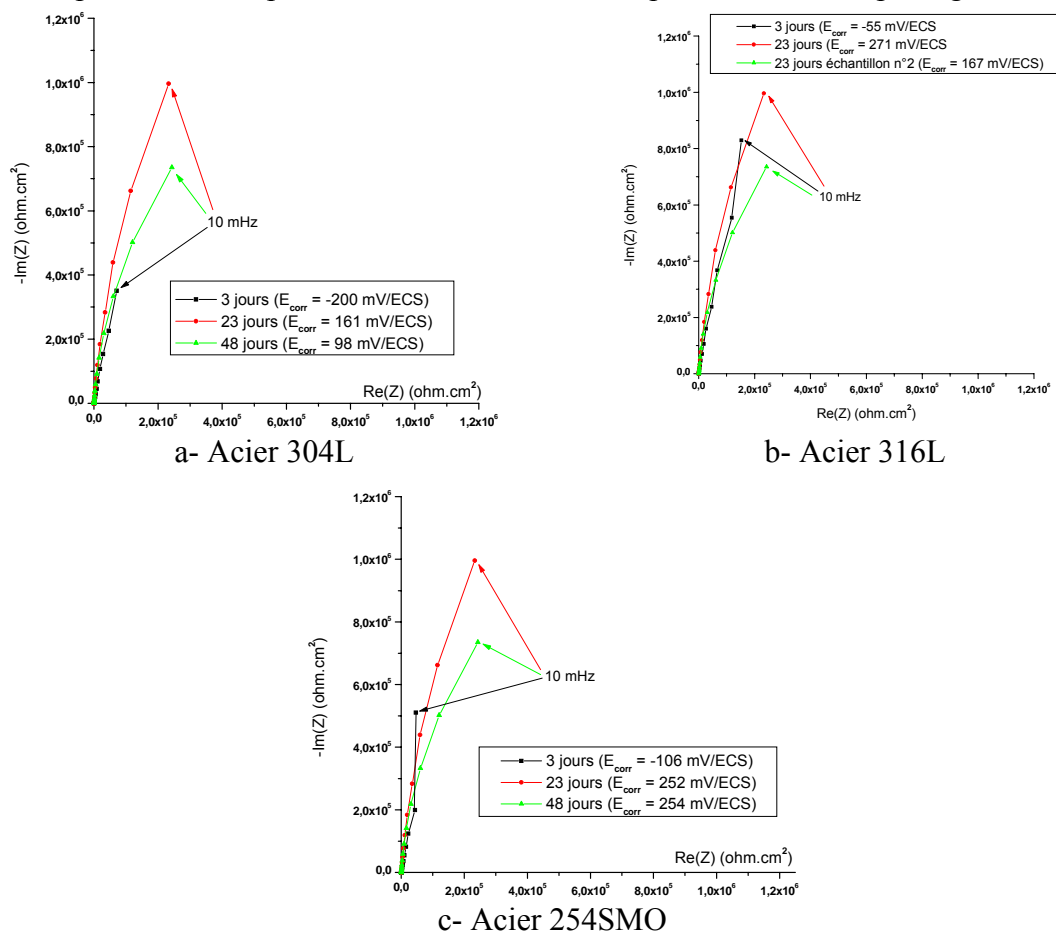
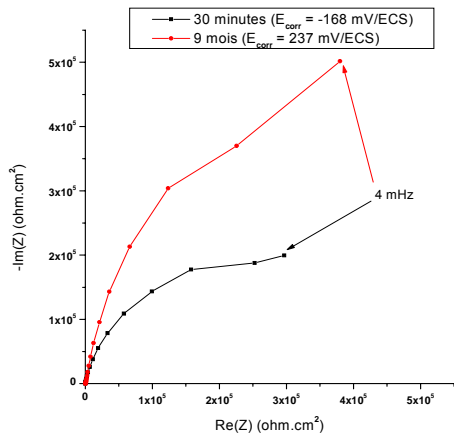
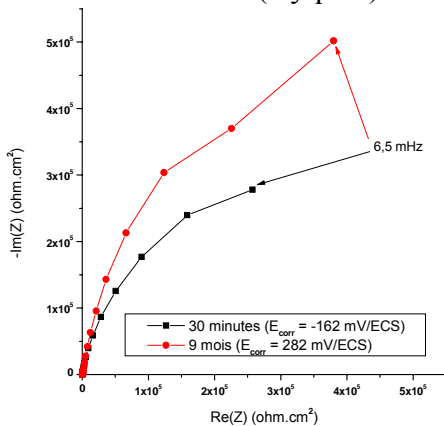


Figure 55 : diagrammes d'impédance électrochimique obtenus « quasi *in situ* » sur des échantillons d'acier inoxydable immergés dans la Seine sur le site de Choisy-le-Roi, à différents temps d'immersion, avant et après augmentation de E_{corr} (avec correction de la chute ohmique)

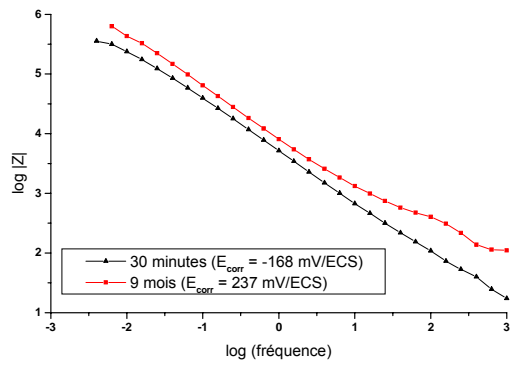
Sur le site de Flins, la comparaison des diagrammes de Nyquist tracés après 30 minutes ou 3 mois d'immersion montre que l'impédance augmente avec le temps d'immersion. Il a été prouvé auparavant que les échantillons ne peuvent pas subir de la corrosion par piqûres. Il semble ici que dans ce milieu naturel peu chargé en ions chlorures, l'évolution de la couche d'oxydes améliore légèrement sa passivité. La résistance du film passif a sensiblement augmenté après 9 mois d'immersion. Ceci peut aussi être visualisé sur le diagramme de Bode en module représenté en figure 56–b pour l'échantillon d'acier 304L. L'augmentation du module de l'impédance traduit l'augmentation de la résistance de la couche passive.



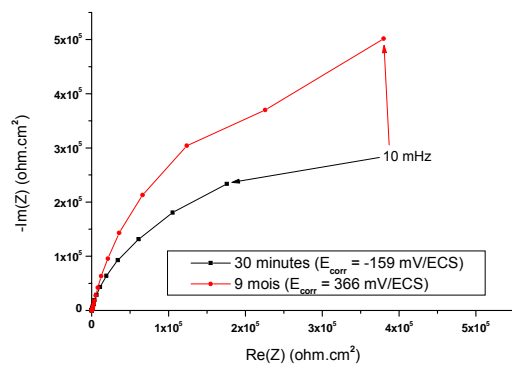
a- Acier 304L (Nyquist)



c- Acier 316L



b- Acier 304L (Bode en module)



d- Acier 254SMO

Figure 56 : diagrammes d'impédance électrochimique obtenus « quasi *in situ* » sur des échantillons d'acier inoxydable immergés dans la Seine sur le site de Flins, à différents temps d'immersion, avant et après augmentation de E_{corr} (avec correction de la chute ohmique)

4.1.4.2 Influence du biofilm sur l'impédance électrochimique

D'après les diagrammes de Nyquist tracés sur les trois nuances d'acier inoxydable immergées dans l'eau de Seine du site de Poses-Amfreville, la présence du biofilm a une influence négligeable sur les valeurs d'impédance : les boucles capacitatives sont à peu près confondues « avec » et « sans » biofilm. Le décrochage du biofilm par écouvillonnage n'affecte pas l'impédance du système électrochimique. Le biofilm, qui par son métabolisme génère une forte augmentation du potentiel de corrosion libre (prouvée sur les trois sites) et est capable de modifier le courant cathodique (démonstré sur les sites de Choisy-le-Roi et Flins), ne semble pas modifier significativement l'impédance électrochimique des échantillons, donc les caractéristiques électriques du film passif (capacité et résistance).

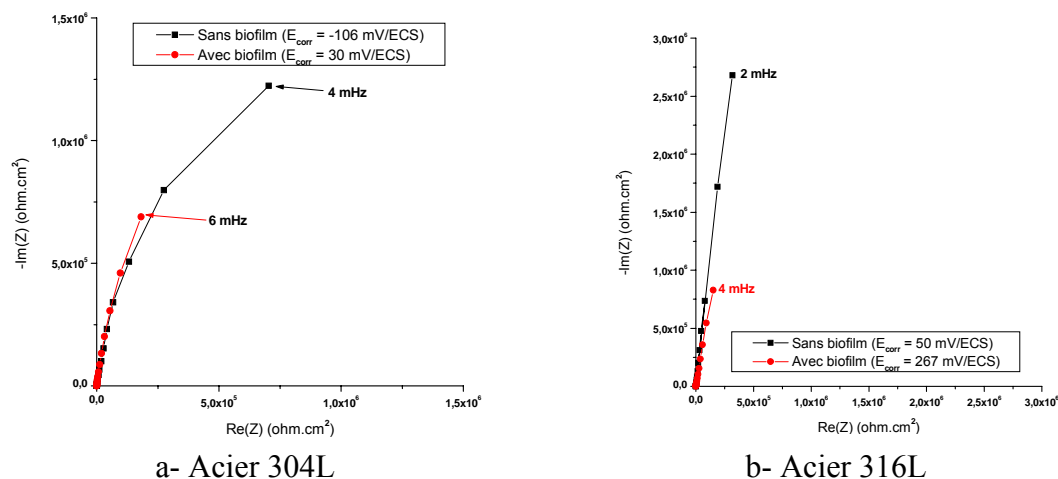


Figure 57 : diagrammes d'impédance électrochimique d'échantillons d'acier inoxydable prélevés dans la Seine sur le site de Poses-Amfreville et réimmergés en laboratoire dans l'eau du site, avec effet d'un décrochage mécanique du biofilm par écouvillonnage (avec correction de la chute ohmique)

4.1.4.3 Synthèse

Le biofilm peut générer certaines modifications électrochimiques sur les échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de rivière naturelle : augmentation du potentiel de corrosion libre (systématique sur les trois sites), modification du courant cathodique (par formation d'un nouvel oxydant réduit à des potentiels relativement élevés sur le site de Choisy-le-Roi, par catalyse de la réduction de O₂ ou par formation d'un nouvel oxydant en contact direct avec la surface et réduit à des potentiels relativement élevés sur le site de Flins), modification de la réactivité de la surface vis-à-vis du dégagement d'oxygène, modification du courant anodique entre 0,5 et 1 V/ECS (oxydation du fer(II) et/ou du chrome(III)). Toutefois, le biofilm ne semble pas affecter significativement l'impédance électrochimique des aciers inoxydables. La seule évolution de l'impédance au cours de l'immersion correspond à une légère amélioration de la passivité de la couche d'oxydes, visualisée par une augmentation de la résistance électrique de la couche passive.

4.1.5 Synthèse : mesures électrochimiques

➤ Evolution de E_{corr} en eau de rivière naturelle :

Tout échantillon d'acier inoxydable immergé dans une eau de rivière naturelle voit son potentiel de corrosion libre augmenter au cours du temps. La valeur la plus élevée est généralement comprise entre +100 et +400 mV/ECS et atteinte au maximum 26 jours après immersion dans les conditions expérimentales de ce travail. La composition de l'acier inoxydable n'a pas d'influence sur l'élévation de son potentiel d'abandon. De plus, ce phénomène d'augmentation de E_{corr} ne concerne pas que les aciers inoxydables, d'autres matériaux y sont aussi sujet (le platine par exemple). Le temps de latence avant augmentation de E_{corr} dépend des conditions expérimentales, et en particulier de la température de l'eau de rivière naturelle.

La hausse du potentiel d'abandon, déjà connue en eau de mer naturelle, est systématique en eau de rivière naturelle, dans la limite des conditions expérimentées dans cette étude. De nombreux travaux antérieurs ont prouvé (par comparaison avec une eau stérile) que cette augmentation est due à la colonisation de la surface des échantillons par le biofilm.

➤ **Evolution des comportements cathodique et anodique :**

Le développement du biofilm ne provoque pas d'évolution significative de l'impédance électrochimique des échantillons, mais entraîne des modifications du comportement cathodique et anodique des aciers inoxydables.

Les modifications du comportement cathodique et du comportement anodique ne sont pas exactement identiques d'un site à l'autre mais impliquent des évolutions de potentiel de corrosion libre comparables.

Sur le site de Choisy-le-Roi, l'augmentation du potentiel de corrosion libre est due à la production et à la réduction subséquente d'un nouvel oxydant, absent en début d'immersion mais présent en solution à proximité de l'électrode après un temps d'immersion suffisamment long. La réduction de cet oxydant se fait entre -0,45 et 0,2 V/ECS environ. Par ailleurs, une légère augmentation du courant anodique apparaît entre E_{corr} et +750 mV/ECS, due à l'évolution de la couche d'oxydes au contact de l'électrolyte.

Sur le site de Flins, l'augmentation du potentiel de corrosion libre provient majoritairement de l'augmentation du courant cathodique entre -0,3 V/ECS et E_{corr} . Cette augmentation du courant à faible polarisation cathodique reflète soit une catalyse de la réduction de l'oxygène dissous, soit la réduction d'un nouvel oxydant étant en contact direct avec l'électrode (pas de palier de diffusion). L'effet global résultant est une accélération de la cinétique des processus de réduction durant le contact avec l'eau de rivière naturelle. A cette étape du raisonnement, aucun choix ne peut être effectué entre les deux hypothèses envisagées.

Sur les deux sites, l'augmentation de E_{corr} est majoritairement due à **l'évolution des processus cathodiques** au cours de l'immersion.

➤ **Pluralité des mécanismes :**

L'évolution du courant cathodique sur les échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de rivière naturelle n'est pas identique sur les différents sites d'immersion considérés. Les mécanismes de l'augmentation de E_{corr} peuvent mettre en jeu soit une catalyse de la réduction de l'oxygène, soit la réduction d'un nouvel oxydant. Quel que soit le mécanisme impliqué, l'évolution du courant cathodique génère une augmentation similaire du potentiel de corrosion libre. Ainsi, deux hausses comparables de E_{corr} pourraient provenir de deux mécanismes différents, dans un même cours d'eau. La généralisation des mécanismes est difficile, et chaque site doit être étudié isolément, en tenant compte de toutes ses spécificités.

4.2 Observations et analyses de surface

Des observations et analyses de surface sont effectuées sur les échantillons d'acier inoxydable immergés dans l'eau de rivière naturelle, afin de mieux connaître le biofilm et d'avancer des hypothèses quant au mécanisme de l'augmentation du potentiel de corrosion libre.

4.2.1 Observations de surface (MEB)

4.2.1.1 Influence du temps d'exposition

Des observations sont réalisées au microscope électronique à balayage (MEB), afin de visualiser la colonisation de la surface des échantillons par le biofilm. La figure 58 présente

des observations réalisées sur des coupons d'acier inoxydable immergés pendant 3 jours dans l'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi. La colonisation est très discontinue et peu quantitative (vue globale 58-a). Des dépôts organiques ont adhéré sur la surface. Peu de microorganismes sont présents ; les microorganismes majoritaires sont les diatomées (58-b et -c), quelques bacilles sont aussi visibles. Aucune différence notable n'est constatée entre les trois nuances d'acier inoxydable.

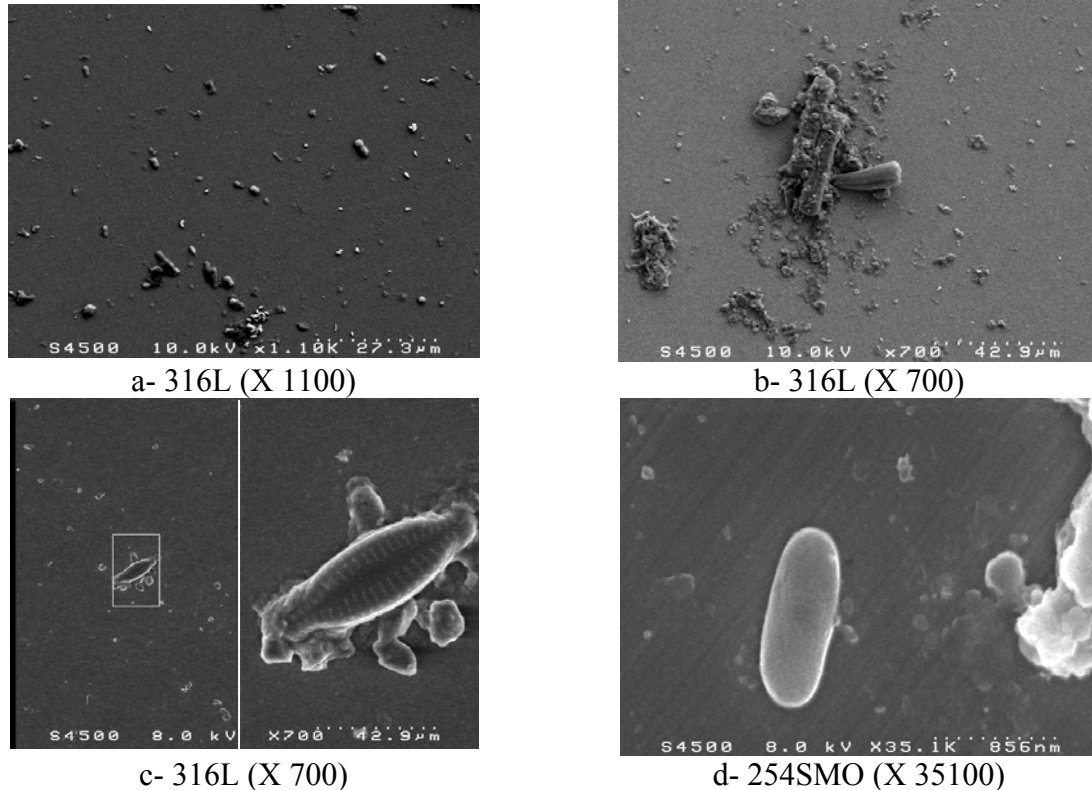


Figure 58 : observations de la surface d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans l'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi pendant 3 jours (MEB)

Les observations de la surface des échantillons d'acier inoxydable immergés pendant une durée plus longue (4 mois) dans l'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi sont visibles sur la figure 59. Les trois nuances d'acier inoxydable ne révèlent aucune différence au niveau de leur colonisation de surface comme de leur aspect visuel.

Après 4 mois d'immersion, le biofilm ne recouvre toujours pas toute la surface des échantillons (59-a). Discontinu, il recouvre toutefois une surface beaucoup plus importante qu'après 3 jours d'immersion. De nombreuses structures d'origine biologique font partie du biofilm. En particulier, le biofilm comprend de nombreux bacilles (59-b à -d), de nombreuses diatomées (59-e et -f) et une grande quantité d'exopolymères (59-a par exemple).

Ces observations sont conformes au concept actuel de biofilm, qui, loin d'être une couche compacte et continue de microorganismes, est en réalité une matrice de microorganismes et de macromolécules imbriquées formant des agglomérats discontinus à la surface du support.

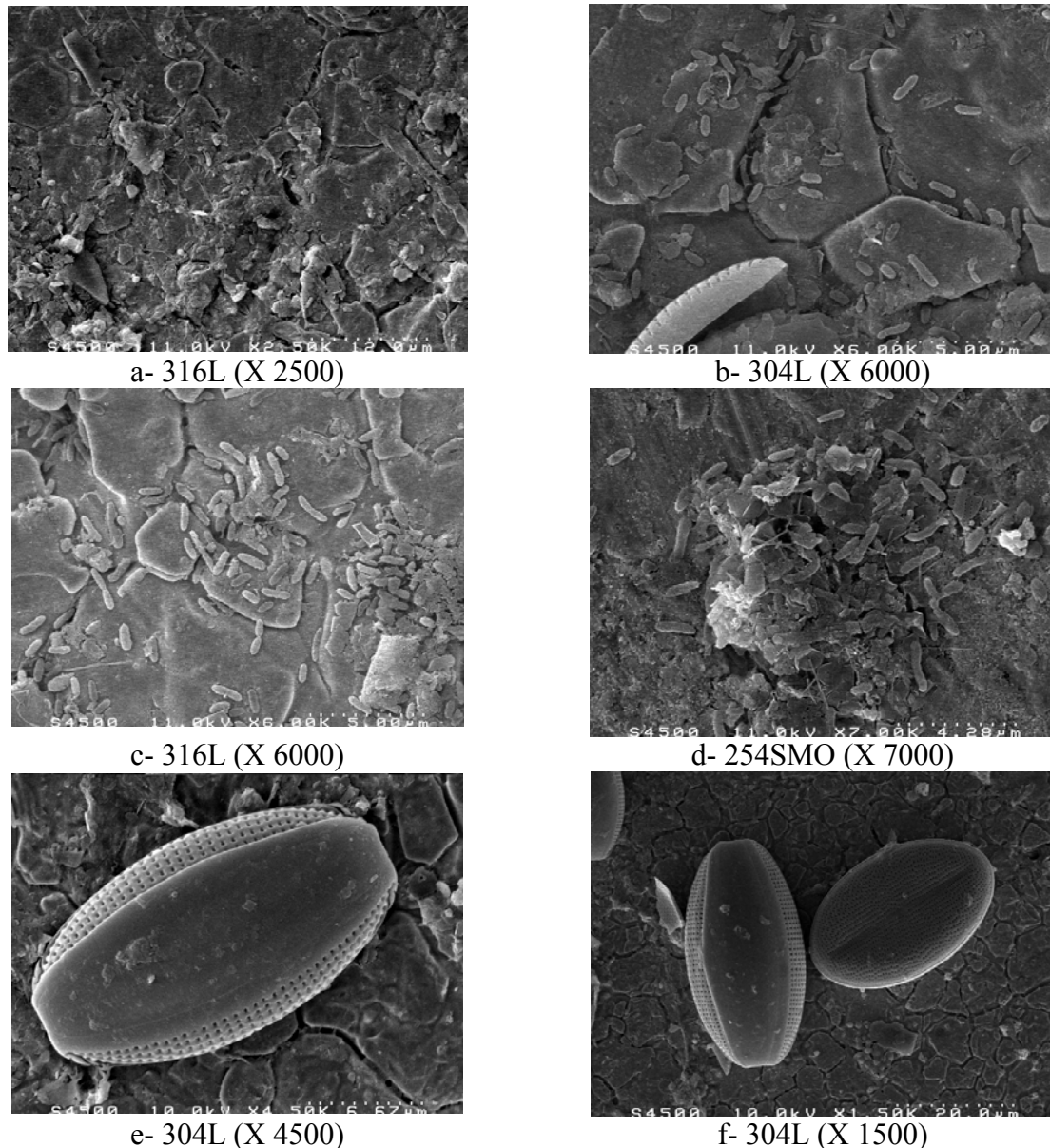


Figure 59 : observations de la surface d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans l'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi pendant 4 mois (MEB)

4.2.1.2 Influence du lieu d'exposition

Les observations de surface d'échantillons immergés durant 43 jours dans l'eau de Seine sur le site de Flins sont assez semblables (figure 60). Le biofilm ne recouvre pas la totalité de la surface des échantillons (60-a). Il renferme de nombreux microorganismes ainsi que leurs exopolymères, et révèle une grande diversité et une forte hétérogénéité (60-b). Les microorganismes majoritaires sont les bacilles (60-c et -d) et les diatomées (60-a, -b et -e). Des levures sont aussi observées (60-f). Le biofilm prend une allure localement très « gélatineuse », une couche de macromolécules recouvre la surface et même certains microorganismes (60-c et -d). Les microorganismes semblent ainsi pris dans une gangue polymérique. Les trois nuances d'acier inoxydable sont colonisées de manière identique.

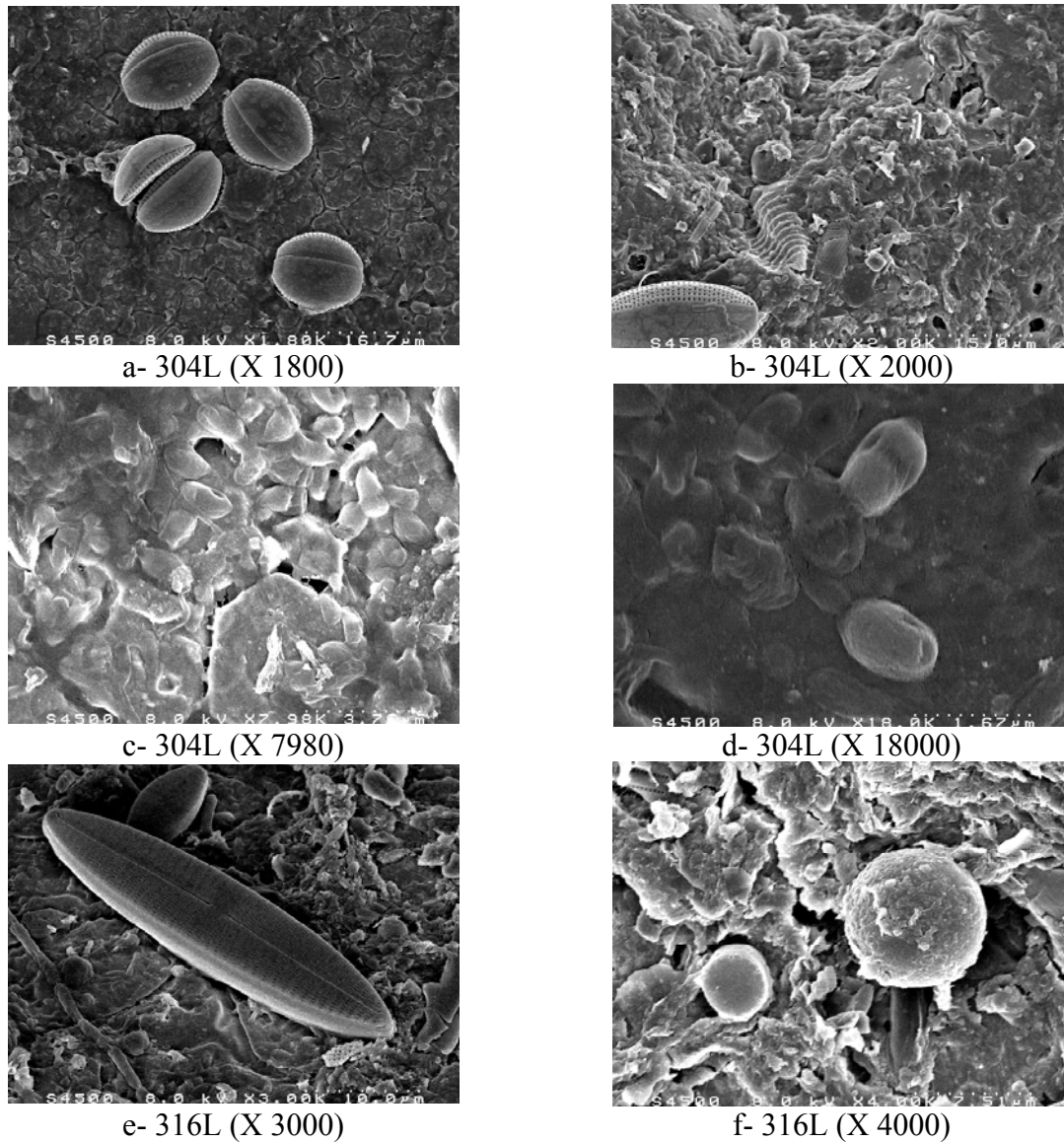
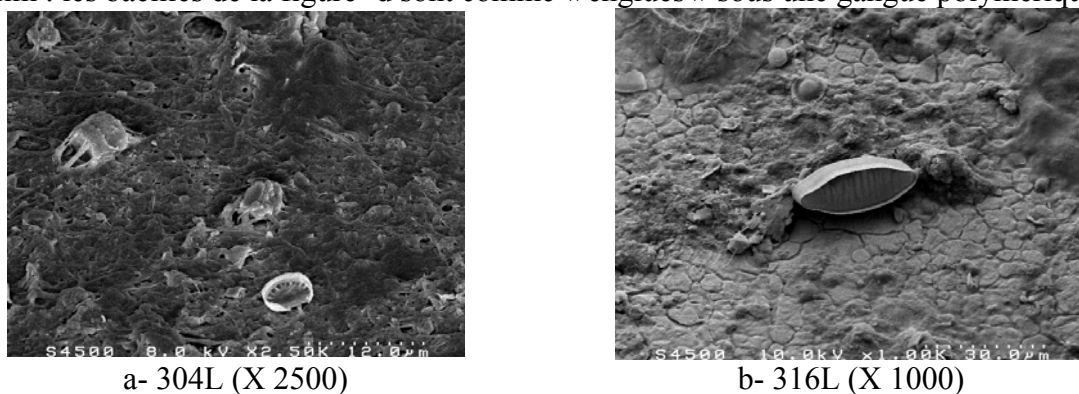
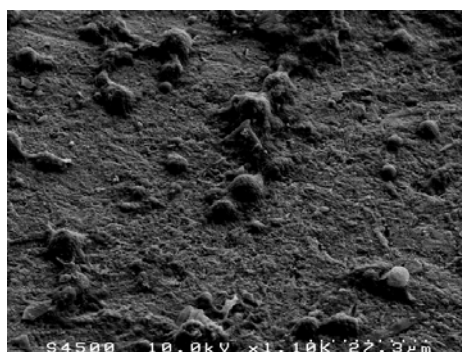


Figure 60 : observations de la surface d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans l'eau de Seine sur le site de Flins pendant 43 jours (MEB)

Les observations de surface sont similaires sur le site de Poses-Amfreville (figure 61). Les surfaces ne sont pas totalement recouvertes par le biofilm, mais le taux du recouvrement de surface par le voile biologique est loin d'être négligeable (vues globales 61-a, -b et -c). Le biofilm est complexe, fortement hétérogène, discontinu. Les microorganismes majoritaires sont les bacilles (61-d) et les diatomées (61-e et -f). Une couche organique semble recouvrir le biofilm : les bacilles de la figure -d sont comme « englués » sous une gangue polymérique.

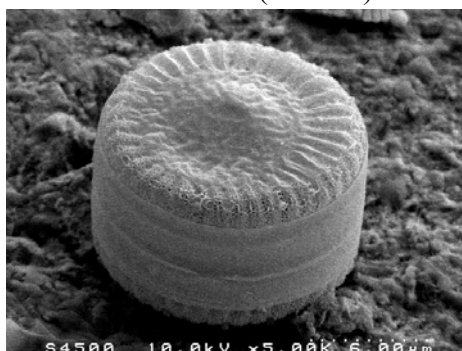




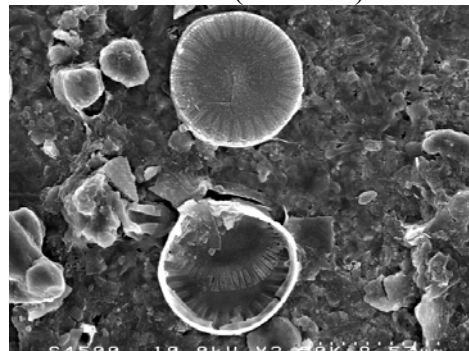
c- 254SMO (X 1100)



d- 316L (X 11000)



e- 254SMO (X 5000)



f- 254SMO (X 3500)

Figure 61 : observations de la surface d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans l'eau de Seine sur le site de Poses-Amfreville pendant 43 jours (MEB)

4.2.1.3 Synthèse

Tous les échantillons d'acier inoxydable 304L, 316L et 254SMO immergés en eau de rivière naturelle sont recouverts par un biofilm.

Les biofilms observés à la surface des coupons d'acier inoxydable sont semblables sur les trois sites d'exposition. Les surfaces sont recouvertes par un ensemble complexe, discontinu et très hétérogène de macromolécules et de microorganismes. Les microorganismes prédominants dans ces biofilms d'eau de rivière naturelle sont les diatomées et des bacilles bactériens. Quelques levures et coques sont aussi visibles. Un voile de molécules organiques recouvre généralement la surface de l'échantillon et le biofilm.

La colonisation de la surface et le développement du biofilm ne sont pas instantanés. Après 3 jours d'immersion, les surfaces sont très peu colonisées. Le biofilm se forme assez lentement et n'est pas continu, même après 43 jours d'exposition.

4.2.2 Analyses de surface (MEB/EDS)

Les observations MEB ont permis de visualiser les biofilms développés dans l'eau de Seine. En complément, les analyses EDS permettent de caractériser la composition chimique élémentaire de la surface des échantillons. Elles sont pratiquées sur des échantillons d'acier inoxydable immergés pendant 9 mois sur le site de Flins et sur des échantillons immergés pendant 3 mois sur le site de Choisy-le-Roi, et sont plus particulièrement intéressantes sur les échantillons provenant de Flins, comme cela va être montré ci-dessous.

4.2.2.1 Influence du lieu d'exposition

➤ Site de Flins

Le spectre d'un échantillon « témoin » d'acier 316L (poli au micron puis immergé pendant 20 heures dans l'eau de Seine du site de Flins) est donné sur la figure 62. Les éléments majoritaires sont le fer, le chrome, le nickel et le molybdène, c'est-à-dire les éléments constitutifs du matériau. La composition chimique de l'acier inoxydable 316L est retrouvée. Par ailleurs, du silicium est aussi détecté, il provient des disques de polissage en carbure de silicium SiC.

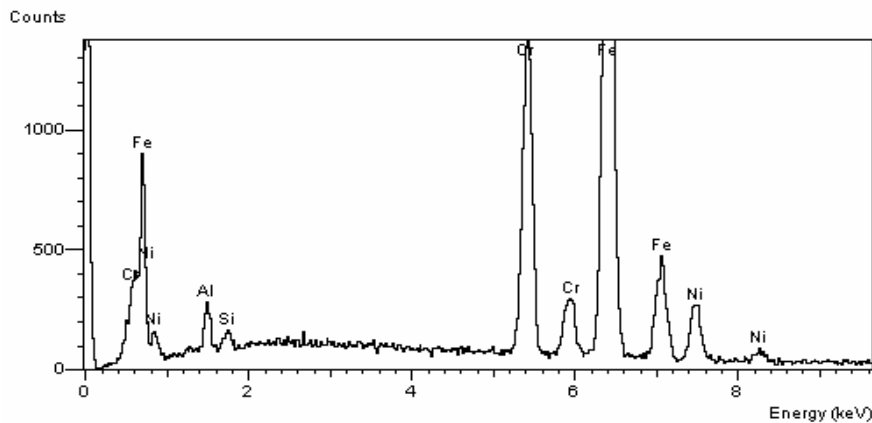


Figure 62 : spectre EDS d'un échantillon témoin d'acier inoxydable 316L immergé pendant 20 heures dans l'eau de rivière naturelle du site de Flins (absence de biofilm, $E_{\text{corr}} = -169 \text{ mV/ECS}$)

Des observations MEB couplées avec des analyses EDS sont effectuées sur des échantillons d'acier inoxydable 316L immergés pendant 9 mois dans l'eau de Seine sur le site de Flins. La surface des échantillons est partiellement recouverte par un biofilm complexe, formé d'une matrice de macromolécules et de nombreux microorganismes, parmi lesquels les diatomées et les bacilles bactériens semblent prédominants (figure 63). La densité de diatomées est très élevée. Entre les diatomées, les grains de l'acier inoxydable sont parfois visibles.

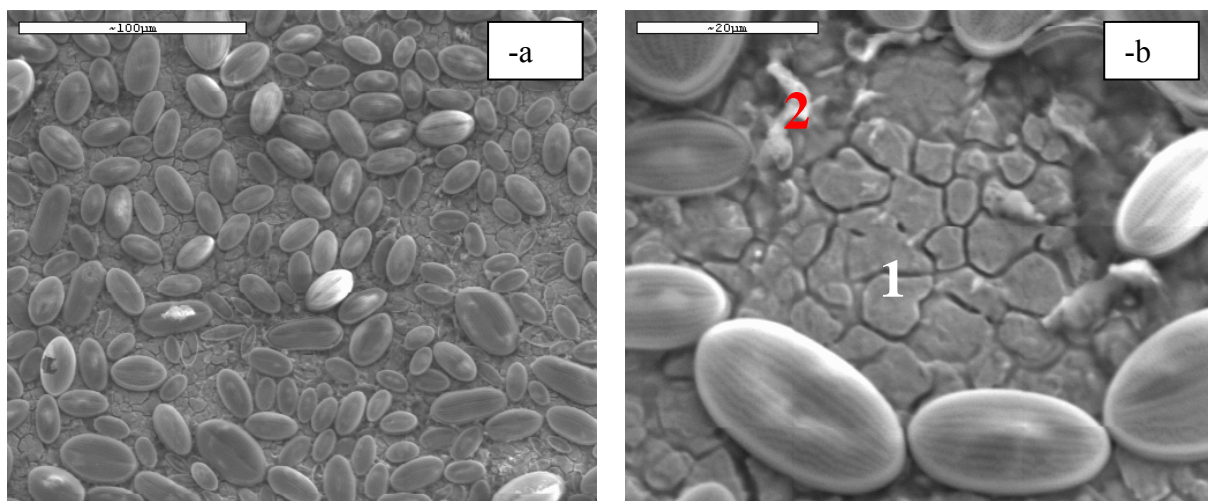
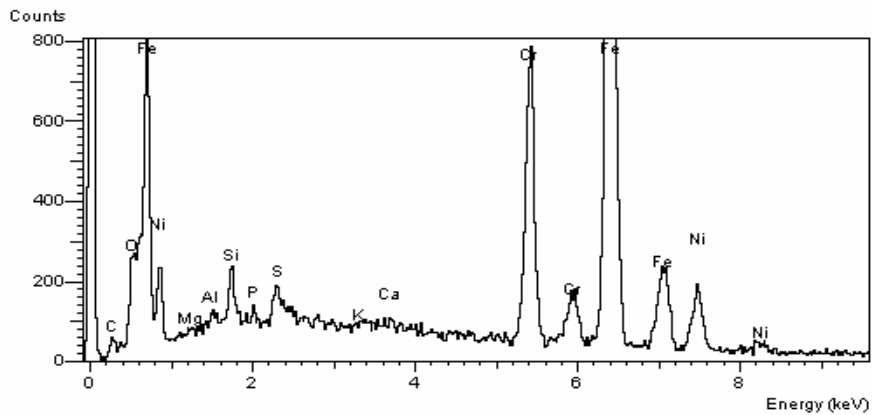


Figure 63 : observations MEB de la surface d'un échantillon d'acier inoxydable 316L immergé dans l'eau de Seine sur le site de Flins pendant 9 mois ($E_{\text{corr}} = +298 \text{ mV/ECS}$)

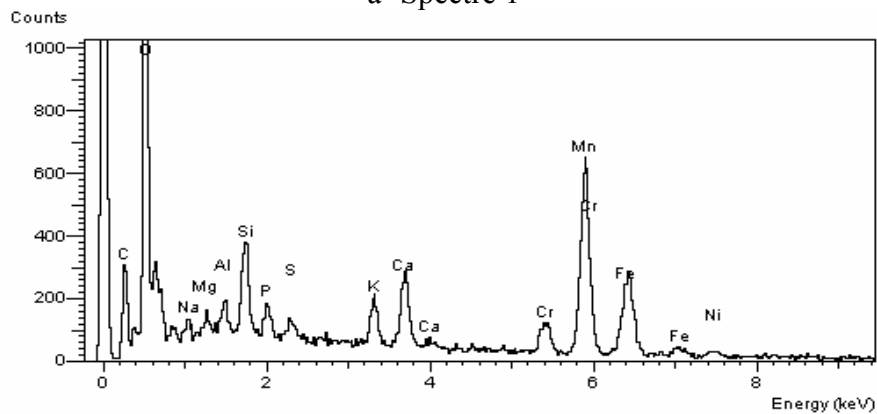
Deux spectres EDS locaux sont réalisés sur la zone visualisée dans la figure 63-b. Le spectre 1 (figure 64-a) est acquis dans la zone de grains séparant les diatomées (notée 1); le spectre de l'acier inoxydable est retrouvé : les éléments majoritaires sont le fer, le chrome et le nickel.

Il est à noter que les deux pics $K\alpha$ (5,414 keV) et $K\beta$ (5,947 keV) du chrome sont visibles, et que l'aire du pic $K\alpha$ est nettement supérieure à l'aire du pic $K\beta$. Ceci est conforme avec l'attribution de ces deux pics aux raies $K\alpha$ et $K\beta$ du chrome : l'intensité du pic $K\alpha$ d'un élément (transition électronique du niveau L au niveau K) est toujours supérieure à l'aire du pic $K\beta$ du même élément (transition électronique du niveau M au niveau K). Le chrome est correctement identifié.

Le spectre 2 (figure 64-b) réalisé sur la zone blanche notée 2 est très différent du spectre précédent. En effet, le pic présent à 5,947 keV a une aire largement supérieure à celle du pic à 5,414 keV : le ratio des intensités de pic s'est inversé. Ceci ne peut s'expliquer que si le pic à 5,947 keV comprend une contribution supplémentaire au $K\beta$ du chrome, contribution qui n'est pas présente sur le spectre 1. Or le pic de la transition $K\alpha_1$ du manganèse se trouve à une énergie de 5,899 keV et est donc très proche du pic $K\beta$ du chrome. Ainsi, le pic obtenu serait une superposition du pic $K\alpha_1$ du manganèse et du pic $K\beta$ du chrome. L'inversion de pics ne peut *a priori* pas provenir du manganèse inclus dans la matrice métallique de l'échantillon (teneur très faible). Par conséquent, du manganèse a vraisemblablement été déposé sur l'échantillon au cours des 9 mois d'immersion.



a- Spectre 1



b- Spectre 2

Figure 64 : spectres EDS locaux réalisés un échantillon d'acier inoxydable 316L immergé pendant 9 mois dans l'eau de Seine sur le site de Flins, au niveau des zones notées 1 et 2 sur la figure 63

La cartographie de la figure 65 présente les résultats d'analyse EDS sur l'image de la figure 63. Le silicium détecté provient de la paroi des diatomées. Le chrome et le fer sont détectés dans toutes les zones non recouvertes par les diatomées. Enfin, le manganèse est détecté en particulier dans la zone en haut à gauche, notée 2 sur la figure 63. Les coups attribués au manganèse dans la zone 1 de l'image peuvent être en réalité liés à une présence de chrome, en raison de la superposition des pics précédemment évoquée. Toutefois, l'interprétation du

spectre 2 prouve que les coups attribués au manganèse au niveau de la zone 2 sont bien liés à la présence de manganèse.

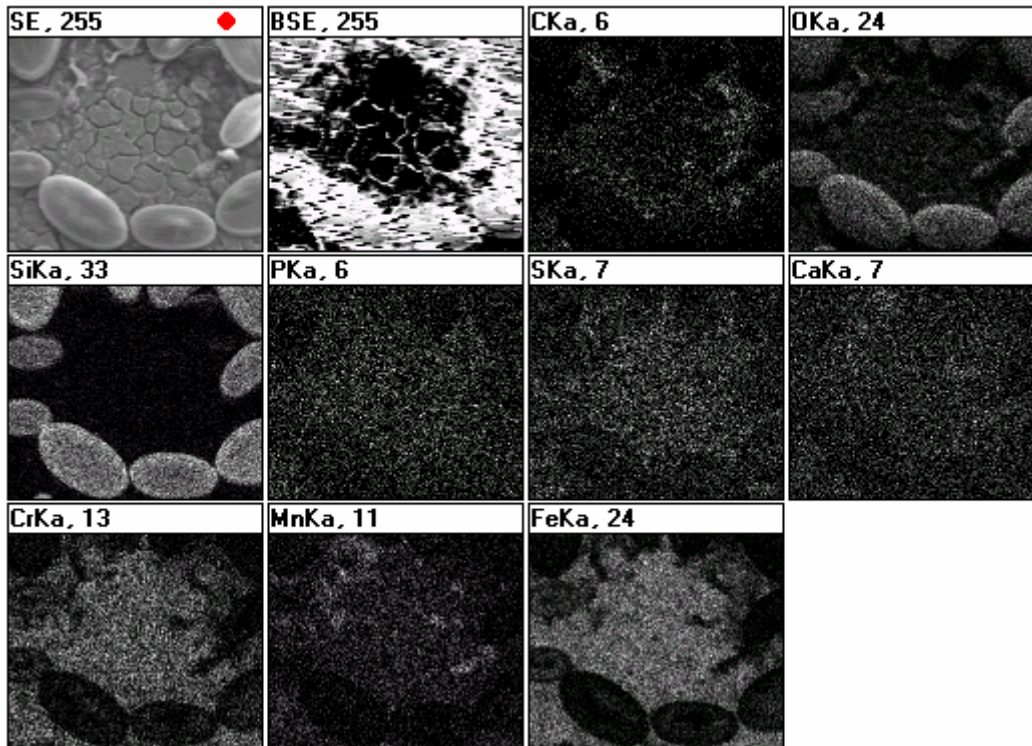


Figure 65 : cartographie EDS de la zone visualisée sur la figure -b d'un échantillon d'acier inoxydable 316L immergé pendant 9 mois dans l'eau de Seine sur le site de Flins

Ainsi, les analyses EDS indiquent la présence de manganèse à la surface des échantillons d'acier 316L immergés pendant 9 mois dans l'eau de rivière naturelle du site de Flins.

La présence de manganèse ne dépend pas de la nuance d'acier inoxydable considérée. Pour exemple, une image de la surface d'un échantillon d'acier 254SMO immergé 9 mois dans l'eau de Seine du site de Flins est donnée sur la figure 66, ainsi que le spectre EDS acquis au niveau de la zone marquée d'un X. Comme sur le spectre 2, l'aire du pic à 5,947 keV est nettement supérieure à l'aire du pic à 5,414 keV. Ceci représente une inversion des intensités des pics attribués aux raies K α et K β du chrome par rapport à un échantillon témoin. Comme pour le 316L, ceci s'explique par la superposition du pic K β du chrome et du pic K α 1 du manganèse.

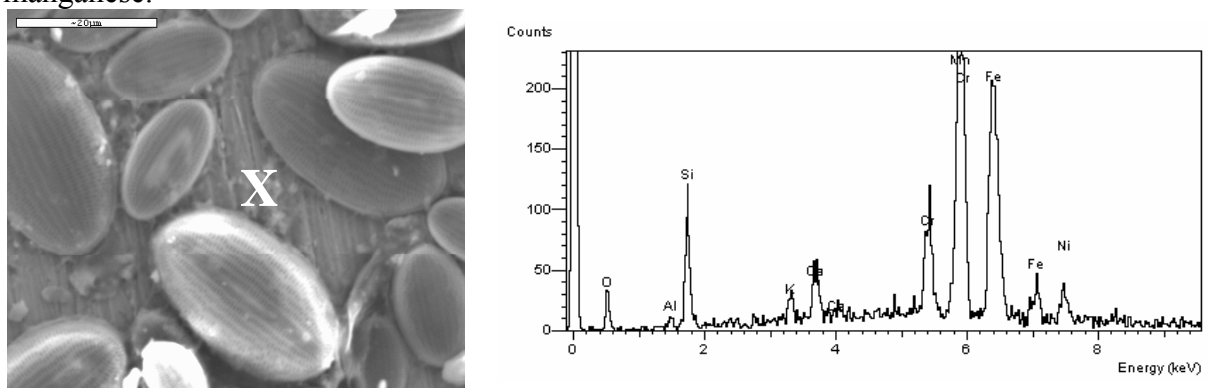


Figure 66 : observation MEB de la surface d'un échantillon d'acier inoxydable 254SMO immergé dans l'eau de Seine sur le site de Flins pendant 9 mois et spectre local EDS acquis sur la zone marquée d'un X ($E_{\text{corr}} = +187$ mV/ECS)

Les analyses EDS de la surface d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans l'eau de Seine sur le site de Flins montrent que du manganèse a été déposé sur la surface des coupons.

➤ **Site de Choisy-le-Roi :**

Des analyses EDS locales sont aussi réalisées sur des échantillons d'acier inoxydable immergés 3 jours (échantillons témoins) et sur des échantillons immergés 3 mois dans l'eau de Seine du site de Choisy-le-Roi. L'inversion de l'intensité des pics à 5,414 keV et à 5,947 keV n'est pas retrouvée. Aucune preuve d'un éventuel dépôt de manganèse n'est décelée. Sur le site de Choisy-le-Roi, aucun dépôt de manganèse ne semble se former sur la surface des échantillons, dans la limite de détection de la technique employée.

4.2.2.2 *Synthèse*

➤ **Détection de manganèse à la surface des échantillons sur un seul site (Flins)**

Les échantillons d'aciers inoxydables mis en contact pendant 9 mois avec l'eau de Seine du site de Flins sont couverts d'un biofilm principalement constitué de macromolécules organiques, d'algues diatomées et de bacilles bactériens. Le biofilm contient aussi quelques levures et coques. Des dépôts de manganèse épars et peu recouvrants ont été trouvés à la surface des échantillons.

Les biofilms observés sur les échantillons immergés à Choisy-le-Roi ont la même allure générale que les biofilms développés sur acier inoxydable au niveau du site de Flins. Toutefois, aucun dépôt de manganèse n'a été trouvé sur les échantillons immergés dans l'eau de Seine du site de Choisy-le-Roi.

Ces résultats peuvent être comparés aux tracés des courbes de polarisation cathodique dans l'eau des deux sites. Sur le site de Flins, après augmentation de E_{corr} , la densité de courant cathodique augmente fortement (en valeur absolue) dès que le potentiel devient inférieur à environ 0,2 V/ECS, ce qui a été attribué soit à une catalyse de la réduction de l'oxygène, soit à la réduction d'un nouvel oxydant synthétisé durant l'immersion et déposé sur l'échantillon (contact direct, pas de palier de diffusion). Sur le site de Choisy-le-Roi, la réduction d'une nouvelle espèce oxydante présente en solution (existence d'un palier de diffusion) apparaît, se traduisant par une augmentation du courant cathodique entre -0,4 et 0,2 V/ECS environ.

Le manganèse déposé à la surface des échantillons sur le site de Flins est vraisemblablement sous forme oxydée. La réduction des oxydes de manganèse pourrait engendrer une augmentation du courant aux faibles surtensions cathodiques, d'après un mécanisme « classique » et reconnu en eau de rivière naturelle (§1.2.2.1). Il a effectivement été montré que les oxydes de manganèse peuvent être un meilleur oxydant que l'oxygène dissous dans les conditions expérimentales régnant au sein d'une eau naturelle. Ils sont alors réduits à un potentiel plus élevé que l'oxygène, autrement dit la surtension cathodique de la réduction des oxydes de manganèse est plus faible que la surtension cathodique de la réduction de O_2 . L'augmentation du courant aux faibles surtensions cathodiques qui se produit au cours de l'immersion peut être due à la réduction d'oxydes de manganèse biodéposés. La quantité de manganèse déposée sur la surface semble faible (dépôts épars), mais elle pourrait néanmoins influencer significativement le courant cathodique.

Au niveau du site de Choisy-le-Roi, une nouvelle réduction apparaît aux faibles surtensions cathodiques, cependant aucun dépôt d'oxyde de manganèse n'est trouvé à la surface des échantillons. La technique de détection du manganèse n'est toutefois pas infaillible, d'autant plus que les dépôts de manganèse peuvent être très localisés et recouvrir des aires très faibles.

Toutefois, l'espèce oxydante formée est dissoute dans l'électrolyte et non déposée à la surface du matériau. *A priori*, le nouvel oxydant formé au cours de l'immersion à Choisy n'est pas un oxyde de manganèse.

➤ **Identification du mécanisme de l'augmentation de E_{corr} sur le site de Flins**

Sur le site de Flins, l'explication proposée pour l'augmentation de E_{corr} est que la présence de manganèse à la surface des échantillons affecte significativement le courant cathodique. L'augmentation (en valeur absolue) du courant cathodique dès que le potentiel devient inférieur à environ 0,2 V/ECS paraît liée à la réduction des oxydes de manganèse précipités à la surface des échantillons au cours de l'immersion.

Les mesures et observations réalisées au niveau du site de **Flins** sont conformes au **mécanisme de l'augmentation de E_{corr} lié à la réduction des oxydes de manganèse déposés** à la surface des aciers inoxydables.

Quant au site de Choisy, la nouvelle réduction apparaissant au cours de l'immersion ne semble pas être la réduction d'oxydes de manganèse. Par élimination, au vu des deux grands modèles proposés dans la littérature (§1.2), l'espèce oxydante provoquant l'augmentation de E_{corr} pourrait être le peroxyde d'hydrogène. Sa présence en solution et la nouvelle vague de réduction apparue durant l'exposition (maximum enregistré entre -460 et -380 mV/ECS) sont en accord avec les observations effectuées en eaux de mer naturelle [17, 66] et artificielle [73]. Le modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase » et son adaptation aux eaux peu chlorurées sont étudiés au chapitre suivant.

4.2.3 Synthèse : observations et analyses de surface

Les expérimentations décrites dans cette partie ont permis à la fois de connaître l'aspect général du biofilm et de la surface des échantillons et de poursuivre l'identification des mécanismes provoquant l'augmentation du potentiel de corrosion libre.

➤ **Colonisation des surfaces par le biofilm**

Lorsqu'un acier inoxydable est immergé dans une eau de rivière naturelle, sa surface est colonisée par un biofilm complexe, hétérogène, discontinu, comprenant une grande quantité d'exopolymères et des microorganismes, parmi lesquels les diatomées et les bacilles bactériens sont majoritaires. Cette colonisation n'est pas immédiate, il faut un certain temps pour que le taux de recouvrement de la surface augmente et atteigne une valeur stationnaire. Ce temps est vraisemblablement lié au temps de latence avant augmentation de E_{corr} .

➤ **Mécanismes de l'augmentation de E_{corr}**

Les mécanismes de l'augmentation de E_{corr} en eau de rivière naturelle semblent dépendre fortement du lieu d'immersion. Les résultats obtenus sur les deux sites étudiés plus particulièrement dans ce travail montrent cette diversité des mécanismes. Sur le site de Flins, du manganèse se dépose sur la surface des échantillons d'acier inoxydable durant l'immersion. La réduction du manganèse (vraisemblablement biodéposé sous forme oxydée) correspond à l'augmentation de la densité de courant à faible polarisation cathodique sur les courbes intensité-potentiel. La faible quantité de manganèse oxydé déposée délivre un courant non négligeable. L'augmentation de E_{corr} est due à la réduction des oxydes de manganèse déposés par le biofilm durant l'immersion.

Sur le site de Choisy-le-Roi, l'espèce oxydante réduite à des valeurs de potentiel assez élevées n'est pas un oxyde de manganèse. A cette étape de l'étude, il peut être supposé que cette espèce oxydante est le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Le mécanisme de l'augmentation de E_{corr} lié à la production enzymatique de H_2O_2 est étudié et transposé en eau de rivière artificielle au chapitre 5. La preuve de la validité de ce mécanisme sur le site de Choisy-le-Roi y est effectuée.

4.3 Dénombrements bactériens

Les observations au microscope électronique à balayage ont montré que les microorganismes prédominants dans les biofilms se développant sur acier inoxydable en eau de rivière naturelle sont certaines diatomées et certains bacilles bactériens. Le choix de s'intéresser plus particulièrement à la composante bactérienne du biofilm a été fait à la lueur des connaissances actuelles en Corrosion Induite par les Microorganismes (CIM). En effet, la plupart des études de CIM portent de façon quasi-exclusive sur le rôle joué par le métabolisme bactérien. Les bactéries sont très souvent considérées comme les microorganismes les plus dangereux pour les matériaux métalliques. Dans le cas des aciers inoxydables, la plupart des articles traitant de l'augmentation du potentiel de corrosion libre en eaux naturelles incriminent les bactéries et leur métabolisme. Toutefois, comme il a été précisé auparavant, plusieurs auteurs ont montré que certaines espèces d'algues (et en particulier de diatomées) sont aussi capables d'engendrer une augmentation de E_{corr} , en particulier par le biais de leur production locale d'oxygène par photosynthèse au sein du biofilm [27, 28, 32, 33]. De plus, les suivis du potentiel de corrosion libre sur le site de Choisy-le-Roi ont mis en évidence une influence du cycle jour/nuit, vraisemblablement attribuable à la variation d'éclairement et à son impact sur le métabolisme des microorganismes photosynthétiques du biofilm. Les algues sont donc tout à fait susceptibles de contribuer au phénomène d'élévation du potentiel d'abandon. Le choix de se focaliser sur la fraction bactérienne du biofilm est critiquable mais dépend aussi fortement des facilités d'expérimentation.

4.3.1 Dénombrements bactériens dans le milieu naturel

Pour avoir une meilleure connaissance de la flore bactérienne du milieu naturel, des dénombrements bactériens sont effectués sur des prélèvements de l'eau des trois sites (Choisy-le-Roi, Flins, Poses-Amfreville), sur des prélèvements de « croûte » (feuillet de produits de corrosion) arrachée de palplanches (Flins, Poses-Amfreville), sur des écouvillonnages de palplanches (Flins, Poses-Amfreville) et sur des prélèvements de boue (Flins, Poses-Amfreville). Les différents dénombrements effectués concernent la flore totale aérobie (milieu gélosé PCA), la flore totale anaérobie (milieu gélose PCA), les entérobactéries (milieu gélosé Mc Conkey), les bactéries sulfato-réductrices BSR (milieu liquide de Starkey, technique NPP) et les bactéries thiosulfato-réductrices BTR (milieu liquide de Magot, technique NPP).

4.3.1.1 Dénombrements bactériens sur le site de Choisy-le-Roi

Sur le site de Choisy-le-Roi, de l'eau de Seine est prélevée à deux saisons différentes, en hiver (mois de Décembre) et en été (mois de Juillet). Des dénombrements bactériens sont effectués sur ces deux types de prélèvements (tableau 15).

Mois	Flore totale aérobie (UFC/mL)	Flore totale anaérobie (UFC/mL)	Entérobactéries (UFC/mL)	BSR (bactéries/mL)	BTR (bactéries/mL)
Décembre	$1,1 \cdot 10^3$	$1,1 \cdot 10^3$	< 1	$2,5 \cdot 10^2$	$6 \cdot 10^3$
Juillet	$1,4 \cdot 10^4$ $\pm 7,9 \cdot 10^3$	$9,3 \cdot 10^3$ $\pm 3,7 \cdot 10^3$	ND	$4,2 \cdot 10^1$ $\pm 1,8 \cdot 10^1$	$1,3 \cdot 10^5$ $\pm 1,2 \cdot 10^5$

Tableau 15 : dénombrements bactériens de prélèvement d'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi, en fonction de la saison (ND : non détecté)

Quelle que soit la saison, le milieu naturel est peu chargé en bactéries viables cultivables. Comme bien souvent en conditions naturelles, les BTR sont beaucoup plus nombreuses que les BSR.

La température est favorable au développement bactérien : globalement, les bactéries sont plus nombreuses en été qu'en hiver. L'effet de la saison (et de la température) sur les différents dénombrements bactériens peut être mis en parallèle avec l'effet de la saison sur l'évolution du potentiel de corrosion libre : le temps de latence avant augmentation de E_{corr} diminue lorsque la température augmente. Le nombre de bactéries est plus élevé et le temps de latence plus faible en été qu'en hiver.

4.3.1.2 Dénombrements bactériens sur le site de Flins

Sur le site de Flins, des prélèvements d'eau de Seine, de boue, d'écouvillonnages et de croûte de palplanches sont effectués au mois de Décembre. Les dénombrements bactériens réalisés sur ces prélèvements sont donnés dans le tableau 16.

Echantillon	Flore totale aérobie	Flore totale anaérobie	Entérobactéries	BSR	BTR
Eau de Seine	$5,6 \cdot 10^4$ UFC/mL	$3,0 \cdot 10^4$ UFC/mL	$2,5 \cdot 10^4$ UFC/mL	$2,5 \cdot 10^4$ bactéries/mL	$5,0 \cdot 10^5$ bactéries/mL
Boue	$1,4 \cdot 10^4$ UFC/g	$3,9 \cdot 10^4$ UFC/g	$3,3 \cdot 10^4$ UFC/g	$1,9 \cdot 10^3$ bactéries/g	$3,8 \cdot 10^7$ bactéries/g
Ecouvillons de palplanche	$1,5 \cdot 10^5$ UFC/cm ²	$1,9 \cdot 10^5$ UFC/cm ²	$3,1 \cdot 10^4$ UFC/cm ²	$1,7 \cdot 10^2$ bactéries/cm ²	$3,7 \cdot 10^4$ bactéries/cm ²
Croûte de palplanche	$1,6 \cdot 10^6$ UFC/g	$2,2 \cdot 10^6$ UFC/g	$1,1 \cdot 10^6$ UFC/g	$1,9 \cdot 10^4$ bactéries/g	$2,0 \cdot 10^4$ bactéries/g

Tableau 16 : dénombrements bactériens sur différents prélèvements du milieu naturel sur le site de Flins au mois de Décembre

A la même date de prélèvement, l'eau de Seine contient beaucoup plus de bactéries sur le site de Flins que sur le site de Choisy-le-Roi. L'écart atteint des valeurs supérieures à un facteur 10 sur tous les dénombrements excepté le dénombrement en bactéries sulfato-réductrices. En particulier, l'eau de Seine contient ici un grand nombre de BSR et de BTR : la flore sulfurogène totale est élevée. Comme à Choisy-le-Roi, la quantité de BTR est plus importante que la quantité de BSR. Les entérobactéries sont présentes en grande quantité dans la croûte.

4.3.1.3 Dénombrements bactériens sur le site de Poses-Amfreville

Les mêmes types de prélèvements sont effectués sur le site de Poses-Amfreville. Les résultats des dénombrements bactériens sur les prélèvements d'eau de Seine, de boue, d'écouvillonnages de palplanche et de croûte de palplanche peuvent être lus dans le tableau 17.

Echantillon	Flore totale aérobie	Flore totale anaérobie	Entérobactéries	BSR	BTR
Eau de Seine	$1,5 \cdot 10^3$ $\pm 0,1 \cdot 10^3$ UFC/mL	$1,3 \cdot 10^3$ $\pm 0,3 \cdot 10^3$ UFC/mL	$5 \cdot 10^1$ UFC/mL	$1,5 \cdot 10^1$ $\pm 1 \cdot 10^1$ bactéries/mL	$4,2 \cdot 10^4$ $\pm 1,8 \cdot 10^4$ bactéries/mL
Boue	$4 \cdot 10^6$ UFC/g	$2,6 \cdot 10^7$ UFC/g	$3,5 \cdot 10^6$ UFC/g	$1,3 \cdot 10^3$ bactéries/g	$\geq 2,5 \cdot 10^5$ bactéries/g
Ecouvillons de palplanche	$9 \cdot 10^4$ $\pm 4 \cdot 10^4$ UFC/cm ²	$1,1 \cdot 10^5$ $\pm 2,6 \cdot 10^4$ UFC/cm ²	$2,8 \cdot 10^4$ UFC/cm ²	ND	$\geq 2,5 \cdot 10^5$ bactéries/cm ²
Croûte de palplanche	$2,5 \cdot 10^6$ UFC/g	$3,4 \cdot 10^6$ UFC/g	$2,6 \cdot 10^6$ UFC/g	$0,6 \cdot 10^1$ bactéries/g	$\geq 2,5 \cdot 10^5$ bactéries/g

Tableau 17 : dénombrements bactériens sur différents prélèvements du milieu naturel sur le site de Poses-Amfreville au mois de Septembre

L'eau de la Seine sur le site de Poses-Amfreville n'est pas très chargée microbiologiquement. Les flores totales aérobies et anaérobies sont comparables à celles du site de Choisy-le-Roi et nettement inférieures à celles du site de Flins d'un facteur 10 environ. L'eau contient toutefois une quantité importante de bactéries thiosulfato-réductrices. Il est également important de souligner que les entérobactéries sont largement présentes dans la boue et la croûte.

Comme sur les deux autres sites, la quantité de BTR est beaucoup plus importante que la quantité de BSR, dans tous les types de prélèvements.

4.3.1.4 Synthèse

L'eau de Seine du site de Choisy-le-Roi est un milieu microbiologiquement assez pauvre : les flores totales aérobies et anaérobies sont relativement faibles. L'eau ne contient quasiment pas d'entérobactéries. Un effet de la saison est visible : lorsque la température augmente, les flores totales et la quantité de bactéries thiosulfato-réductrices augmentent. La quantité de BTR est élevée en été.

L'eau de Seine du site de Flins est la plus chargée en bactéries. En particulier, la flore sulfurogène est très élevée. Beaucoup de bactéries sont trouvées dans tous les types de prélèvements, qu'il s'agisse de l'eau du site, de la boue ou de la surface des palplanches. Les flores totales aérobie et anaérobie ainsi que la quantité de BTR sont très élevées à la surface des palplanches.

L'eau de Seine du site de Poses-Amfreville est un milieu microbiologiquement assez pauvre, comparable à l'eau du site de Choisy-le-Roi. La quantité d'entérobactéries y est légèrement plus forte et la quantité de bactéries sulfato-réductrices légèrement plus faible. Les quantités de bactéries sont en revanche très importantes dans la boue et à la surface des palplanches. Ces surfaces présentent plutôt moins de BSR mais plus de BTR que les surfaces des palplanches immergées sur le site de Flins.

Dans les trois eaux de site, le nombre de bactéries thiosulfato-réductrices est toujours plus élevé que le nombre de bactéries sulfato-réductrices. Ceci est aussi valable à la surface des pièces métalliques immergées dans l'eau de rivière naturelle (palplanches).

4.3.2 Dénombrements bactériens sur des échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de rivière naturelle

Des dénombrements bactériens sont aussi effectués sur des échantillons d'acier inoxydable et sur des échantillons d'acier au carbone XC18 (pour comparaison) immergés depuis 6 mois dans l'eau de rivière naturelle sur le site de Choisy-le-Roi. Ils sont réalisés après décrochage du biofilm par passage des échantillons aux ultrasons. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 18.

Echantillon	E_{corr} (mV/ECS)	Flore totale aérobie (UFC/cm ²)	Flore totale anaérobie (UFC/cm ²)	BSR (bactéries/cm ²)	BTR (bactéries/cm ²)
304L	190	$7,6 \cdot 10^3$	$8,2 \cdot 10^3$	$8,1 \cdot 10^0$	$> 1,6 \cdot 10^5$
316L	78	$1,1 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^4$	$3,4 \cdot 10^1$	$4,4 \cdot 10^4$
254SMO	92	$3,2 \cdot 10^5$	$2,3 \cdot 10^5$	$3,4 \cdot 10^1$	$> 1,6 \cdot 10^5$
XC18	9	$8,6 \cdot 10^3$	$9,8 \cdot 10^3$	$3,4 \cdot 10^3$	$4,4 \cdot 10^4$

Tableau 18 : dénombrements bactériens effectués sur des échantillons d'acier immergés dans l'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi prélevé en Juillet après 6 mois d'immersion

Tous les échantillons sont recouverts par un biofilm dont la fraction bactérienne viable cultivable est non négligeable : les flores totales sont supérieures à 10^3 UFC.cm⁻². Il semblerait que la quantité de bactéries présentes à la surface de l'échantillon soit plus importante sur le 254SMO que sur le 316L, et qu'elle soit aussi plus importante sur le 316L que sur le 304L. Ceci est valable pour les flores totales aérobie et anaérobie ainsi que pour les BSR. Cette disparité d'adhésion pourrait être due aux différences dans la composition chimique de la couche passive et/ou à la teneur en molybdène dans la composition des matrices des différentes nuances d'acier inoxydable. La présence de molybdène dans l'alliage semble favoriser l'adhésion bactérienne. L'influence du molybdène sur l'adhésion bactérienne est controversée dans la littérature ; les cations issus de la dissolution des atomes de molybdène pourraient faciliter le processus d'attachement des cellules microbiennes à la surface du support métallique [243]. Toutefois, une fois que les cellules sont adhérentes, l'effet du molybdène serait inverse, en raison d'une toxicité envers certaines bactéries sessiles remarquée dans plusieurs publications [244-246]. Des différences de dénombrements bactériens ont été remarquées en eau potable sur des échantillons d'acier inoxydable 304 et 316 (moins de bactéries sessiles sur le 316) et ont été attribuées à un rôle néfaste du molybdène sur la viabilité des bactéries du biofilm [247-249]. Il semblerait en particulier que le molybdène soit néfaste à la colonisation par la flore sulfurogène [250, 251]. Dans les conditions expérimentales de cette étude, la présence de molybdène semble plutôt favoriser l'adhésion bactérienne.

L'adhésion est plutôt faible sur l'acier au carbone XC18, dont les dénombrements sont assez proches de ceux obtenus sur le 304L. La seule différence notable est que les BSR semblent se développer beaucoup plus fortement sur le XC18 que sur les trois nuances d'acier inoxydable.

Les BTR sont quant à elles très nombreuses sur toutes les surfaces. D'autres prélèvements sont effectués sur le site de Choisy-le-Roi en Octobre après 3 mois d'immersion pour améliorer la caractérisation de l'adhésion des BTR. Lorsque ces résultats (présentés dans le tableau 19) sont comparés aux résultats précédents, aucune tendance ne se dégage. Des BTR sont en tout cas retrouvées sur toutes les surfaces immergées. Des dénombrements de BSR sur ces mêmes échantillons ont donné une quantité non détectable de BSR viables cultivables. La quantité de BSR adhérente était très faible. Les BTR sont trouvées en plus grand nombre à la fois dans l'eau de rivière naturelle sur les différents sites d'immersion mais aussi au sein des biofilms recouvrant les aciers.

Echantillon	304L	316L	254SMO
BTR (bactéries/cm ²)	2,5.10 ²	2,5.10 ³	6.10 ³

Tableau 19 : dénombrements bactériens effectués sur des échantillons d'acier inoxydable immergés dans l'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi prélevés en octobre après 3 mois d'immersion

4.4 Caractérisation des films passifs en eau de rivière naturelle

L'objectif de ce paragraphe est de caractériser le film passif des aciers inoxydables dans le milieu « eau de rivière naturelle » (échantillons immergés dans la Seine), afin de déterminer l'influence du biofilm sur la couche d'oxydes, en particulier en terme de composition chimique.

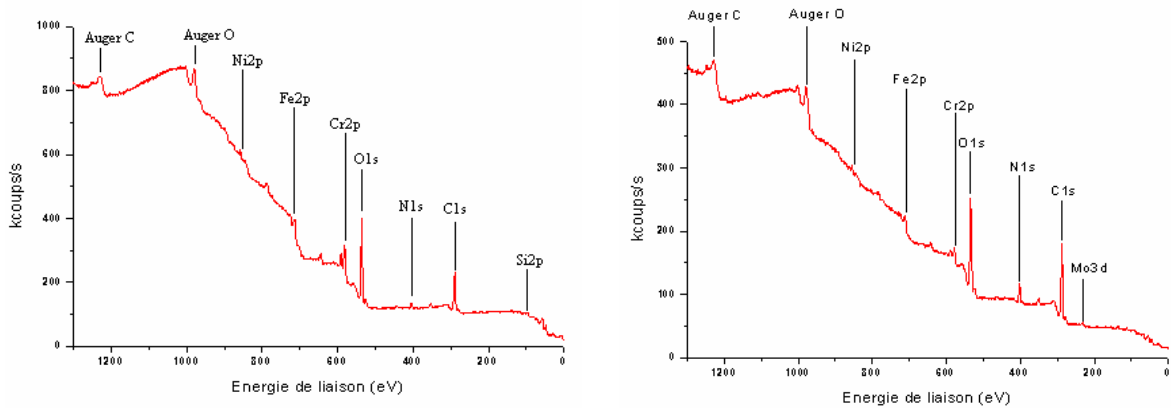
La couche d'oxydes formée en eau de rivière naturelle est analysée par XPS, et ses propriétés de semi-conductivité sont étudiées par la technique de Mott-Schottky.

4.4.1 Analyse des couches d'oxydes par spectrométrie de photoélectrons (XPS)

Des échantillons d'acier 304L et d'acier 254SMO immergés pendant 6 mois dans l'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi sont analysés par XPS. Ils ont été prélevés du milieu naturel, stockés pendant une heure dans un flacon contenant l'eau du site, nettoyés par écouvillonnage (« grattage ») du biofilm, puis introduits dans la chambre d'analyse du spectroscope. Ces analyses sont faites en incidence normale.

4.4.1.1 Spectre général

Un spectre général est tracé en premier lieu, afin de connaître les éléments présents à la surface des échantillons. Les spectres des deux nuances d'acier inoxydable sont visibles sur la figure 67.



a- Acier 304L

b- Acier 254SMO

Figure 67 : spectre général obtenu sur un échantillon d'acier 304L et sur un échantillon d'acier 254SMO immergés pendant 6 mois dans l'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi

Le choix a été fait d'acquérir de façon plus fine les pics obtenus sur le spectre général. Les pics étudiés sont indiqués dans le tableau 20.

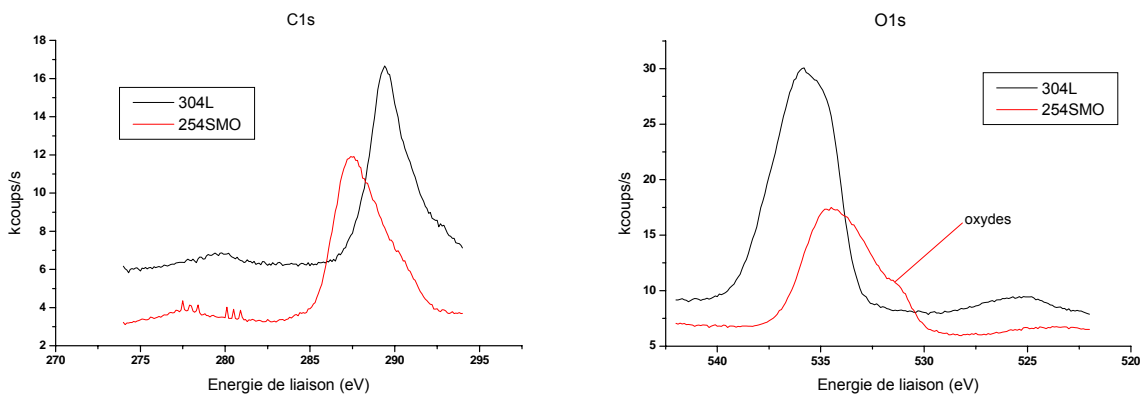
Spectre	Général	C1s	Cr2p	Fe2p	Mo3d	Ni2p	O1s	Si2p	N1s
Gamme d'énergie (eV)	0-1300	274-294	570-595	700-740	223-240	848-888	522-542	96-110	393-404
Pas (eV)	1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Tableau 20 : spectres enregistrés lors d'une acquisition

Les spectres vont d'abord être présentés éléments par éléments, puis la discussion portera sur les deux quantifications relatives effectuées.

4.4.1.2 Spectres obtenus

Les différents spectres obtenus (C1s, O1s, Cr2p, Fe2p) sont visibles sur les figures 68 et 69.



a- Spectre de C1s

b- Spectre de O1s

Figure 68 : spectres de C1s et O1s sur les échantillons d'aciers 304L et 254SMO prélevés après 6 mois d'immersion dans l'eau de rivière naturelle (site de Choisy)

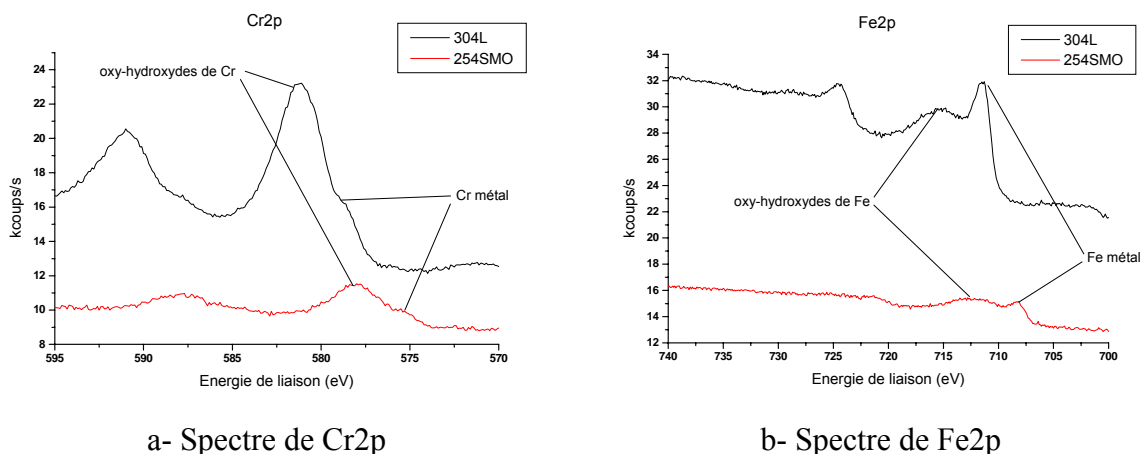


Figure 69 : spectres de Cr2p et Fe2p sur les échantillons d'aciers 304L et 254SMO prélevés après 6 mois d'immersion dans l'eau de rivière naturelle (site de Choisy)

4.4.1.3 Quantification relative de tous les éléments

La quantification relative de tous les éléments pris en compte est faite en incidence normale (tableau 21). Le Fe métal et le Cr métal sont détectés, des photoélectrons proviennent d'une zone métallique plus profonde que la couche d'oxydes, par conséquent la totalité de la couche d'oxydes est analysée. L'épaisseur de la couche d'oxydes est inférieure à l'épaisseur de la zone analysée, ce qui est cohérent avec les valeurs d'épaisseur de quelques nanomètres données dans la littérature pour des couches d'oxydes développées en milieux aqueux sur des aciers inoxydables.

Les deux éléments les plus présents sont le carbone et l'oxygène. Ces deux éléments proviennent à la fois de contaminations, mais aussi (et surtout) de l'adsorption de molécules organiques au cours des six mois d'immersion dans l'eau de rivière naturelle, ainsi que de l'adhésion de microorganismes. Le voile biologique, ou biofilm, formé par l'ensemble des micro-organismes adhérents et des macromolécules organiques adsorbées à la surface de l'échantillon est la source principale de carbone et d'oxygène, et ce malgré l'écouvillonnage réalisé. Le biofilm (microorganismes et macromolécules organiques) est aussi responsable de la teneur élevée en azote.

Du silicium est trouvé en très faible quantité à la surface des échantillons. Il provient à la fois de l'eau de rivière naturelle et de la présence sur la surface de microorganismes possédant un exosquelette à base de silicium, comme les diatomées par exemple.

Cette quantification semble indiquer que l'échantillon d'acier 254SMO est particulièrement enrichi en fer. Toutefois, pour améliorer la connaissance de la couche d'oxydes, une quantification relative ne prenant en compte que les deux éléments prédominants du film passif, le chrome et le fer, doit être effectuée.

	C	O	Cr	Fe	Ni	N	Si
304L	42,6	42,0	6,6	4,5	0,5	2,8	1,0
254SMO	55,3	28,4	1,7	8,6	0,5	5,4	0,1

Tableau 21 : composition du film passif (en pourcentages atomiques relatifs) obtenus sur des échantillons d'aciers 304L et 254SMO immergés 6 mois dans l'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi

4.4.1.4 Quantification relative des éléments fer et chrome

Les résultats sont donnés en terme de pourcentage de fer métal, de chrome métal, de fer oxydé et de chrome oxydé dans le tableau 22.

Les deux nuances d'acier inoxydable ont des compositions de couche d'oxydes très différentes. Le film passif de l'acier 304L est constitué majoritairement de chrome, alors que l'élément prédominant du film passif de l'acier 254SMO est le fer. Le rapport Fe/Cr dans le film est de 3,56 pour l'acier 254SMO, alors qu'il n'est que de 0,26 pour l'acier 304L. L'immersion en eau de rivière naturelle n'induit pas la même évolution de composition chimique dans la couche d'oxydes. Les épaisseurs de film semblent en revanche sensiblement identiques (rapports %métal / %oxydes voisins).

Nuance d'acier	%Fe métal	%Cr métal	% Fe oxydé	% Cr oxydé
304L	28,1	13,1	12,3	46,5
254SMO	37	1,9	47,7	13,4

Tableau 22 : résultats XPS (en pourcentages atomiques relatifs) obtenus sur le film passif d'échantillons d'aciers 304L et 254SMO immergés 6 mois dans l'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi

La caractérisation de la couche d'oxydes formée sur les deux nuances d'acier inoxydable en eau de rivière naturelle est représentée sur la figure 70. La quantité de métal total détectée (fer et chrome) est sensiblement la même sur les deux aciers inoxydables, ce qui traduit des épaisseurs de film passif comparables. La différence de composition est en revanche très nette. Le pourcentage de fer oxydé est très élevé dans le film passif de l'acier 254SMO. L'enrichissement en fer du film passif de l'acier 254SMO immergé en eau de rivière naturelle est analogue à son enrichissement lors d'une immersion en eau de rivière naturelle [73].

La différence de composition chimique mise en évidence en XPS n'est pas retrouvée sur les courbes de polarisation anodique effectuées sur le site de Flins (site d'immersion différent), qui ont une allure tout à fait comparable pour les deux nuances d'acier inoxydable.

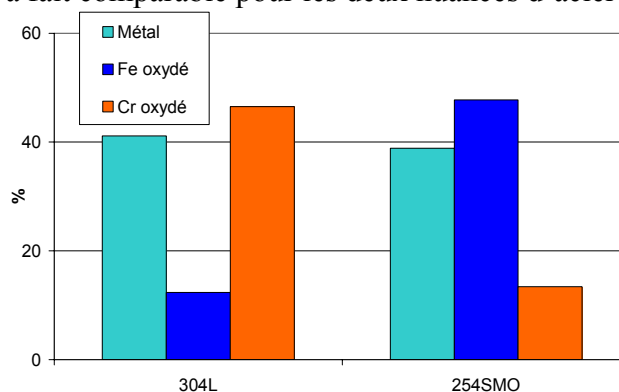


Figure 70 : pourcentages de métal total (Fe + Cr), de Fe oxydé et de Cr oxydé obtenus par analyse XPS sur des échantillons d'acier inoxydable 304L et 254SMO immergés en eau de rivière naturelle

Ces résultats seront comparés au chapitre 5 avec les caractérisations des couches d'oxydes formées dans les différentes solutions mises en jeu dans l'étude du modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase » de production de peroxyde d'hydrogène.

4.4.2 Détermination des propriétés de semi-conductivité des couches d'oxydes par la technique de Mott-Schottky

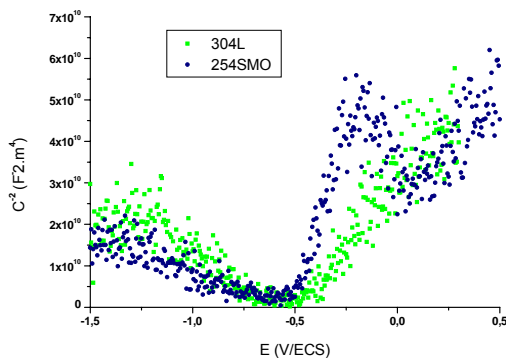
L'objectif de ce paragraphe est de déterminer l'influence du biofilm sur les propriétés semi-conductrices du film passif. Il semblerait que certaines espèces bactériennes soient capables de modifier ces propriétés [265].

Des échantillons d'acier inoxydable 304L et 254SMO immergés pendant 6 mois dans l'eau de la Seine sur le site de Choisy-le-Roi sont prélevés, stockés pendant une heure dans l'eau du site, puis introduits dans un bécher contenant de l'eau de Seine. Des mesures de capacité de Mott-Schottky sont ensuite réalisées sur ces échantillons, afin de connaître les propriétés semi-conductrices de ces échantillons dans le milieu naturel. Les résultats (diagrammes de Mott-Schottky et valeurs calculées de U_{fb} , N_d , N_a et W) sont présentés sur la figure 71.

Le potentiel de bandes plates U_{fb} est proche de -0,5 V/ECS, ce qui est compatible avec les résultats de la bibliographie à pH neutre ou légèrement basique (§1.3.4.1). En effet, le pH de l'eau de la Seine est d'environ 7,9. Il a été montré dans plusieurs travaux que le potentiel de bandes plates U_{fb} varie avec le pH. Plus le pH est acide, plus U_{fb} est élevé. U_{fb} augmente de 60 mV lorsque le pH diminue de 1 [73, 224].

Les deux types d'échantillons présentent un caractère semi-conducteur type p aux potentiels inférieurs à U_{fb} et un caractère semi-conducteur type n aux potentiels supérieurs à U_{fb} . Les valeurs de U_{fb} , des densités de porteurs de charge (N_d pour la zone de semi-conductivité de type n, N_a pour la zone de semi-conductivité de type p) et de l'épaisseur de la couche de charges d'espace (pour les deux types de semi-conductivité) sont indiquées dans le tableau de la figure 71.

Pour la zone linéaire de pente négative, les densités de donneurs sont faibles, proches de celles calculées en eau de rivière artificielle pour l'acier 316L (chapitre 3). N_d ne semble pas évoluer significativement au contact de l'eau de rivière naturelle, qui ne paraît pas avoir d'influence notable sur les propriétés de semi-conductivité du film passif.



Nuance	U_{fb} (V/ECS)	N_d/N_a (cm^{-3})	W (nm)
304L	-0,49	$2,0 \cdot 10^{19}$ / $3,8 \cdot 10^{19}$	0,26 /0,20
254SMO	-0,53	$9,3 \cdot 10^{18}$ / $8,4 \cdot 10^{19}$	0,25 /0,16

Figure 71 : diagrammes de Mott-Schottky et valeurs calculées des paramètres de semi-conductivité (**n/p**) pour des échantillons d'acier 304L et 254SMO immergés en eau de rivière naturelle

Dans la zone linéaire de pente négative, correspondant à une semi-conductivité de type p, la densité N_a des porteurs de charge (accepteurs : lacunes d'électrons ou « trous ») est de $3,8 \cdot 10^{19} \text{ cm}^{-3}$ pour l'acier 304L et de $8,4 \cdot 10^{19} \text{ cm}^{-3}$ pour l'acier 254SMO. Les épaisseurs de couches de charge d'espace respectivement associées sont 0,20 nm et 0,16 nm. Les études de film passif par la technique de Mott-Schottky attribuent généralement cette semi-conductivité de type p aux potentiels inférieurs à U_{fb} aux oxydes de chrome [175, 178, 182, 184]. Pour rappel, la densité de trous pour un échantillon d'acier 316L ayant subi un décapage nitro-

fluorhydrique et immergé en eau de rivière artificielle est d'environ $2,3 \cdot 10^{19} \text{ cm}^{-3}$. L'ordre de grandeur est le même, l'immersion en eau de rivière naturelle ne semble pas affecter significativement les propriétés de semi-conductivité de type p détectées aux potentiels inférieurs à $-0,5 \text{ V/ECS}$. En revanche, cette semi-conductivité semble présente sur tous les échantillons, ce qui n'était pas le cas des échantillons d'acier 316L ayant subi les différents traitements de surface.

Ces résultats seront comparés au chapitre 5 avec les propriétés de semi-conductivité des couches d'oxydes formées dans les différentes solutions mises en jeu dans l'étude du modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase ».

4.5 Synthèse générale

➤ Biofilms d'eau de rivière naturelle :

Lorsqu'un échantillon d'acier inoxydable est immergé dans une eau de rivière naturelle, sa surface se recouvre progressivement d'un voile biologique discontinu contenant des microorganismes, parmi lesquels les diatomées et les bacilles bactériens sont prédominants, et des exopolymères. Les molécules organiques entrant dans la composition du biofilm sont produites par les microorganismes mais peuvent aussi provenir de l'électrolyte.

➤ Élévation du potentiel de corrosion libre :

Le potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de rivière naturelle augmente au cours du temps. L'élévation du potentiel se fait toujours après un certain temps de latence, qui dépend fortement de la température de l'eau. Ce temps de latence est vraisemblablement lié à un temps caractéristique du biofilm, correspondant à un certain taux de recouvrement, à un certain stade de développement cellulaire, ou à une durée nécessaire pour que les conséquences des modifications métaboliques soient pérennes à l'interface couche passive/biofilm.

➤ Mécanismes de l'augmentation de E_{corr} :

Les causes de cette augmentation peuvent être multiples, ce qui paraît être le cas dans cette étude sur les deux sites d'immersion choisis dans un même fleuve.

Sur le site de Flins, un dépôt de manganèse discontinu se forme sur l'échantillon. Il contient probablement du manganèse sous forme oxydée, et la réduction de ce manganèse à des potentiels plus élevés que la valeur initiale de E_{corr} entraîne le déplacement du potentiel d'abandon vers des valeurs plus anodiques.

Sur le site de Choisy-le-Roi, une espèce oxydante présente dans l'électrolyte à proximité de la surface est réduite à des potentiels plus élevés que la valeur initiale de E_{corr} , ce qui provoque l'augmentation du potentiel de corrosion libre. Cette espèce n'est pas un oxyde de manganèse mais pourrait être du peroxyde d'hydrogène. Le comportement électrochimique des aciers inoxydables en présence de H_2O_2 est étudié en eau de rivière artificielle au chapitre 5, afin de déterminer la validité de ce mécanisme (valable en eau de mer) dans les eaux peu chlorurées.

Le dépôt de manganèse oxydé (Flins) et la synthèse de l'autre espèce oxydante présente en solution (Choisy) sont très certainement engendrés par le biofilm.

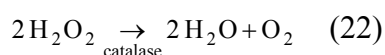
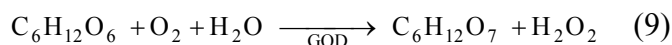
➤ **Evolution de la couche passive sous l'influence du biofilm**

Sous l'influence du biofilm, il semblerait que le film passif de l'acier 304L soit enrichi en chrome au détriment du fer, alors que la couche d'oxydes de l'acier 254SMO serait enrichie en fer au détriment du chrome. Les épaisseurs des deux films sont en revanche comparables. Concernant les propriétés de semi-conductivité, les diagrammes de Mott-Schottky indiquent un potentiel de bandes plates U_{fb} d'environ -0,5 V/ECS. La couche d'oxydes présente un caractère semi-conducteur de type n aux potentiels supérieurs à U_{fb} et un caractère semi-conducteur de type p moins marqué aux potentiels inférieurs à U_{fb} .

Chapitre 5 : Modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase » - Production de peroxyde d'hydrogène

Comme cela a été rappelé au chapitre 1, l'augmentation du potentiel de corrosion libre E_{corr} des aciers inoxydables observée en eaux naturelles est due à la présence et au métabolisme du biofilm qui se développe à la surface des échantillons.

Un des mécanismes proposés pour expliquer cette augmentation de E_{corr} est un mécanisme enzymatique : la valeur du potentiel de corrosion libre serait liée à la présence d'une enzyme catalysant la production de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et d'une enzyme catalysant sa dégradation (§1.2.1). Dans les études de laboratoire, les deux enzymes utilisées sont généralement la glucose-oxydase (GOD) et la catalase, qui catalysent respectivement les réactions (9) et (22).



C₆H₁₂O₆ est le glucose et C₆H₁₂O₇ l'acide gluconique. Le terme « réactifs enzymatiques » sera utilisé pour décrire l'ensemble constitué de la glucose-oxydase (GOD) et de son substrat le glucose. Si les concentrations ne sont pas explicitées, elles sont alors de 100 u/L pour la GOD et de 20 mmol/L pour le glucose (solution « réactifs enzymatiques ») [73].

Le terme « produits enzymatiques » désignera le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et l'acide gluconique.

Il a été montré dans différents types d'eau de mer que l'introduction de la glucose-oxydase et de son substrat entraîne une augmentation du potentiel d'abandon des aciers inoxydables, et que cette augmentation est très semblable à celle obtenue en eau de mer naturelle [71, 72, 80]. Dans ce chapitre, la transposition du modèle « oxydases/catalase-peroxydase » de production enzymatique de H₂O₂ va être transposée au cas des eaux de rivière. Après avoir précisé la physico-chimie des solutions du modèle enzymatique et leur influence sur le film passif des aciers inoxydables, le comportement électrochimique sera étudié en présence des différents composés du modèle enzymatique, afin de voir si ce modèle peut expliquer certains cas d'augmentation de E_{corr} dans les eaux naturelles à faible teneur en chlorures.

5.1 Physico-chimie de la solution

La cinétique de la réaction enzymatique (9) va être étudiée dans ce paragraphe. Elle aura une influence sur les expériences d'électrochimie et peut aider à choisir les paramètres expérimentaux, en particulier l'échelle de temps à utiliser. De plus, la connaissance de la cinétique de la réaction enzymatique est nécessaire à l'interprétation des résultats électrochimiques.

L'électrolyte est ici l'eau de rivière artificielle à 0,3 g/L de NaCl.

5.1.1 Cinétique enzymatique dans la solution « réactifs enzymatiques »

5.1.1.1 Evolution de la concentration en peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ est un produit de la réaction enzymatique (9). Lorsque le glucose et la glucose-oxydase sont introduits dans la solution, des molécules de H₂O₂ sont produites, ce qui a tendance à faire augmenter la concentration en H₂O₂.

Toutefois, il est connu que le peroxyde d'hydrogène est une espèce instable (cf. p.12) qui peut se dismuter en formant de l'eau et de l'oxygène selon l'équation (14). Cette dismutation est susceptible d'être assez quantitative, dans la mesure où elle est catalysée par la présence des ions Cl⁻ et par la présence d'un métal dans la solution, ce qui est le cas dans cette étude. La cinétique de la réaction de dismutation dépend aussi du pH : la vitesse de décomposition du peroxyde d'hydrogène atteint un maximum pour un pH d'environ 3,7 [58]. Les conditions peuvent donc être réunies pour favoriser la dismutation du peroxyde d'hydrogène, qui a tendance à faire diminuer la concentration en H₂O₂.

Ces deux phénomènes vont entrer en compétition.

Durant cette expérience, la solution est agitée en permanence par un barreau magnétique. La concentration en peroxyde d'hydrogène est mesurée régulièrement après l'ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose dans l'eau de rivière artificielle. 48 heures après l'ajout de la glucose-oxydase et de son substrat, la catalase est introduite à une activité de 3370 u/L. Les résultats sont présentés sur la figure 72. L'origine de l'axe temporel est l'instant où la GOD et le glucose sont mis en solution.

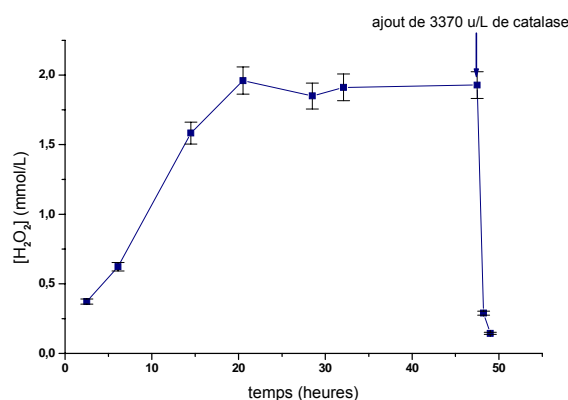


Figure 72 : évolution de [H₂O₂] en eau de rivière artificielle, après ajout à t = 0 de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose (solution agitée). Effet d'un ajout de catalase après 48 heures.

L'ajout de glucose-oxydase et de glucose entraîne la formation de H₂O₂. La concentration en peroxyde d'hydrogène atteint une valeur stationnaire proche de 2 mmol/L après environ 20 heures en solution agitée.

Cette expérience montre aussi que jusqu'à 48 heures, la dismutation du peroxyde d'hydrogène n'est pas suffisamment importante pour que l'effet en soit visible. Il paraît vraisemblable que la durée de stabilité de H₂O₂ dépasse les 48 heures dans la solution « réactifs enzymatiques ». Elle est mesurée précisément au paragraphe 7.1.2.

Lorsque la catalase est ajoutée, la concentration en H₂O₂ chute brutalement et tend vers 0. Une heure après l'introduction de la catalase, [H₂O₂] est inférieure à 0,2 mmol/L. Le rendement de la catalase à une heure, défini ci-dessous comme le rapport r, est supérieur à 90%.

$$r(\text{catalase})_{1h} = \frac{[\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{consommé à } t=49h}}{[\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{avant catalase}}} = \frac{[\text{H}_2\text{O}_2]_{t=48h} - [\text{H}_2\text{O}_2]_{t=49h}}{[\text{H}_2\text{O}_2]_{t=48h}} > 90\%$$

5.1.1.2 Evolution du pH

L'acide gluconique C₆H₁₂O₇ (pK_a(25°C) = 3,6) est un produit de la réaction enzymatique (9). L'ajout de glucose-oxydase et de glucose dans la solution d'eau de rivière artificielle entraîne la formation de molécules d'acide gluconique, ce qui a tendance à abaisser le pH.

Ces résultats ont été acquis en même temps que ceux du paragraphe précédent (même expérience). La solution est agitée. L'évolution du pH de la solution est représentée sur la figure 73. La valeur initiale du pH (solution à 0,3 g/L de NaCl) est comprise entre 5,8 et 6. Lorsque les réactifs enzymatiques sont introduits dans la solution, le pH chute fortement. 48 heures après l'ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose, le pH de la solution est de 3,3 environ. La stabilisation du pH prend au maximum 36 heures.

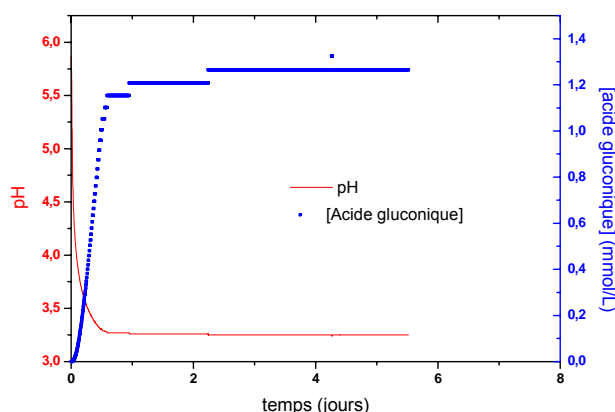


Figure 73 : évolution du pH en eau de rivière artificielle, après ajout à t = 0 de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose (solution agitée)

La concentration en acide gluconique peut être calculée à partir de la valeur du pH selon l'équation (59) :

$$[C_6H_{12}O_7] = \frac{10^{-2\text{pH}}}{K_a} = \frac{10^{-2\text{pH}}}{0,00025} \quad (59)$$

La valeur stationnaire de concentration en acide gluconique est d'environ 1,2 mmol/L.

5.1.1.3 Evolution de la concentration en oxygène dissous

L'oxygène dissous est un réactif de la réaction enzymatique (9). Lorsque le glucose et la glucose-oxydase sont introduits en solution, des molécules de dioxygène dissous sont consommées, ce qui a tendance à abaisser la concentration en O₂ dissous.

Toutefois, les manipulations sont effectuées dans l'air ambiant du laboratoire, et la solution est en équilibre avec l'air. Du dioxygène de l'air peut passer en solution, ce qui a tendance à faire augmenter la concentration en O₂ dissous.

Ces deux phénomènes vont entrer en compétition. La consommation de O₂ par la réaction enzymatique et son apport par l'air ambiant sont à l'origine de modifications de la concentration en oxygène dissous. Celle-ci a été mesurée dans une solution d'eau de rivière artificielle dans laquelle les réactifs enzymatiques sont introduits à t = 0. L'évolution de [O₂]_{dissous} est reportée sur la figure 74.

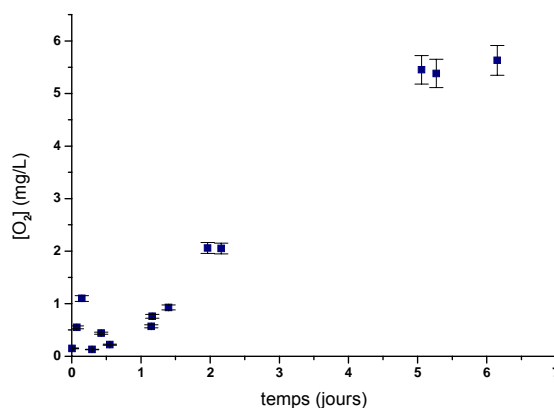


Figure 74 : évolution de la concentration en O₂ dissous dans une solution d'eau de rivière artificielle, après ajout à t = 0 de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose

La concentration en oxygène dissous diminue quasi-instantanément après l'ajout des réactifs enzymatiques. Elle est de l'ordre de 0,6 mg/L après seulement deux heures. Cette valeur reste stable pendant la première journée. Puis, environ 24 heures après l'ajout de la GOD et du glucose, la concentration augmente progressivement jusqu'à atteindre une valeur stable d'environ 6 mg/L après 5 jours.

En début d'expérience, la cinétique enzymatique est très rapide (la vitesse de formation de H₂O₂ est élevée, cf. figure 72). Les molécules de O₂ sont consommées très rapidement, et la compensation par l'apport d'oxygène de l'air ambiant (sous l'effet du gradient de concentration de O₂ généré par la consommation du gaz dissous dans la solution) est insuffisante. Par conséquent, la concentration en O₂ chute rapidement et conserve une valeur faible (0,6 mg/L).

La cinétique enzymatique décroît au cours du temps (la vitesse de formation de H₂O₂ diminue, cf. figure 72). Il existe donc une date où la vitesse de consommation de O₂ par la réaction enzymatique va devenir inférieure à la vitesse de dissolution dans la solution de l'oxygène de l'air. Cette date est d'environ 1 jour. Après la première journée, l'apport d'oxygène est plus important que sa consommation, et la concentration en oxygène dissous augmente au cours du temps, jusqu'à atteindre une valeur stable où la solution non agitée est en équilibre avec l'air ambiant.

Il est à noter qu'au-delà de 48 heures, l'apport d'oxygène peut éventuellement provenir de la dismutation de H₂O₂. Des mesures de concentration de H₂O₂ doivent être réalisées sur des temps plus longs que 48 heures, afin de connaître la durée de vie de H₂O₂ en eau de rivière artificielle (cf. §5.1.2).

5.1.1.4 Influence de l'agitation de la solution

Le but de cette manipulation est de voir l'effet de l'agitation de la solution sur la cinétique enzymatique. Deux manipulations identiques sont réalisées dans deux béchers différents. A t = 0, 100 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose sont introduits dans une solution d'eau de rivière artificielle. Un des béchers est agité, l'autre non. La concentration en peroxyde d'hydrogène est suivie au cours du temps dans les deux béchers, les résultats obtenus sont indiqués sur la figure 75.

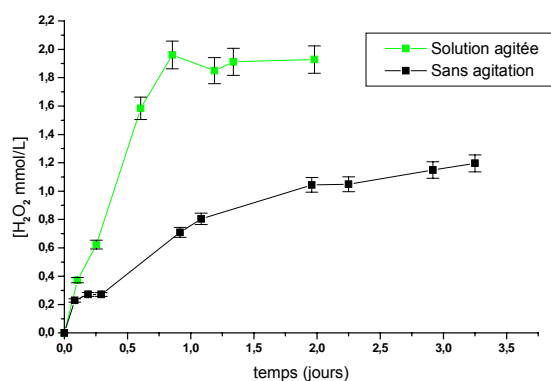


Figure 75 : évolution de la concentration en H₂O₂ en eau de rivière artificielle, après ajout à t = 0 de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose, avec et sans agitation

Dans le cas où la solution est agitée, [H₂O₂] se stabilise autour de 2 mmol/L après environ 20 heures. Dans le cas où la solution n'est pas agitée, la cinétique de l'augmentation de [H₂O₂] est beaucoup plus lente, et n'atteint pas la même valeur stationnaire : après 78 heures, la concentration en H₂O₂ n'atteint que 1,2 mmol/L.

L'agitation de la solution augmente la probabilité de rencontre entre une molécule d'enzyme et une molécule de substrat. La cinétique est par conséquent plus rapide lorsque la solution est agitée. De plus, il a été montré que la concentration en O₂ dans la solution non agitée est très faible après l'ajout de la GOD et du glucose. Sans agitation, O₂ peut donc être le réactif limitant. En revanche, l'agitation de la solution a tendance à augmenter la concentration en O₂ dissous, en favorisant les échanges gazeux avec l'air ambiant. Dans la solution agitée, l'oxygène ne peut plus limiter la cinétique enzymatique, d'où une formation de H₂O₂ plus rapide que dans la solution non agitée. Ces considérations expliquent les différences de cinétique de la réaction (9) apportées par l'agitation de la solution.

Le fait que la concentration en H₂O₂ dans la solution non agitée n'atteigne pas la même valeur stationnaire que dans la solution agitée s'explique sûrement par le fait que la cinétique étant plus lente, la dismutation de H₂O₂ commence alors que la valeur maximale de concentration du peroxyde d'hydrogène n'est pas encore atteinte. Sans la dismutation, en attendant suffisamment longtemps, les concentrations finales en H₂O₂ devraient être les mêmes dans les deux conditions expérimentales. Ceci montre que la dismutation empêche la concentration en peroxyde d'hydrogène d'atteindre son maximum lorsque la solution n'est pas agitée.

Dans la suite, le choix a été fait de travailler sans agitation. En effet, l'agitation produit des variations de concentration en oxygène dissous, en particulier lorsque la vitesse d'agitation est mal contrôlée (ce qui est souvent le cas avec un agitateur magnétique classique). Ces variations sont néfastes à l'interprétation des courbes de polarisation cathodique effectuées sur les échantillons d'acier inoxydable, puisqu'elles modifient la valeur du courant cathodique sur le palier de réduction de l'oxygène dissous.

5.1.1.5 Influence de l'activité enzymatique

L'influence de l'activité de la GOD en solution sur la cinétique de la réaction enzymatique (9) va être étudiée dans ce paragraphe.

a) Evolution de la concentration en peroxyde d'hydrogène

Dans cette expérience, différentes activités de glucose-oxydase sont ajoutées dans une solution contenant 0,3 g/L de NaCl et 20 mmol/L de glucose. Les concentrations en peroxyde d'hydrogène mesurées sont reportées sur la figure 76. L'origine de l'axe des temps est l'instant où la GOD et son substrat sont introduits dans le bécher.

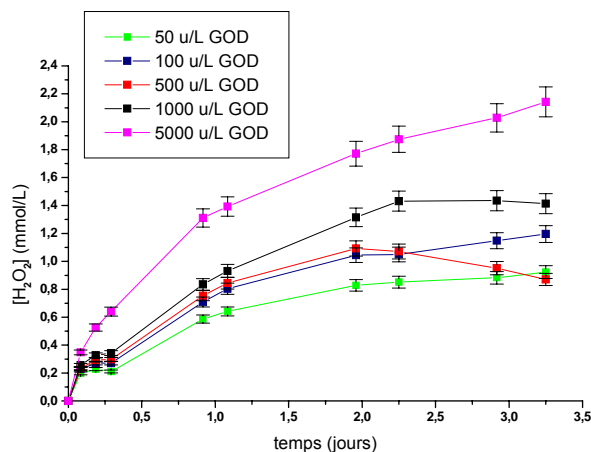


Figure 76 : évolution de [H₂O₂] en eau de rivière artificielle, après ajout à t = 0 de 20 mmol/L de glucose et de différentes activités de GOD (sans agitation)

La concentration maximale en H₂O₂ augmente globalement avec l'activité de la GOD (cf. tableau 23).

Activité GOD (u/L)	50	100	500	1000	5000
log(activité GOD en u/L)	1,699	2	2,699	3	3,699
[H ₂ O ₂] maximale (mmol/L)	0,92	1,2	1,09	1,43	2,14
pH à 72h	3,3	3,26	3,16	3,1	3,03

Tableau 23 : valeurs de l'activité de la GOD, du logarithme de l'activité de la GOD, de la concentration maximale en H₂O₂ atteinte et du pH à 72 heures des différentes solutions de GOD et de glucose

La légère diminution de la concentration en H₂O₂ dans les solutions de GOD à 500 et 1000 u/L après 2 jours pourrait être due à un début de dismutation du peroxyde d'hydrogène. Toutefois, dans le cas de la solution à 1000 u/L, la variation de [H₂O₂] reste dans la marge d'erreur de la mesure. Néanmoins, l'effet de la dismutation de H₂O₂ pourrait apparaître dès 48 heures.

b) Evolution du pH

A la fin de l'expérience décrite dans le paragraphe précédent, le pH est mesuré dans les différentes solutions. Les valeurs de pH à 72 heures sont indiquées dans le tableau 23 et tracées en fonction du logarithme de l'activité de la GOD sur la figure 77.

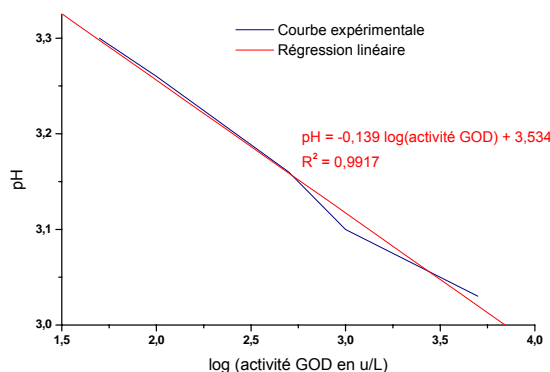


Figure 77 : valeurs de pH d'une solution d'eau de rivière artificielle, 3 jours après ajout de 20 mmol/L de glucose et de différentes activités de GOD (solution non agitée)

Le pH décroît (la concentration en acide gluconique augmente) lorsque l'activité de la GOD augmente. La décroissance du pH en fonction de $\log(\text{activité})$ est linéaire de pente -0,14 environ. Cette diminution du pH est cohérente avec le fait que l'autre produit enzymatique, le peroxyde d'hydrogène, voit aussi sa concentration augmenter avec l'activité de la GOD.

5.1.2 Dismutation du peroxyde d'hydrogène

L'évolution de la concentration en H₂O₂ dans la solution « réactifs enzymatiques » est fonction du phénomène de dismutation de ce composé instable. La dégradation de H₂O₂ en H₂O et O₂ pourrait apparaître, dans certaines conditions expérimentales, dès 2 jours après l'introduction des réactifs enzymatiques. La durée de stabilité du peroxyde doit être évaluée précisément, en l'absence des réactifs enzymatiques. Pour cela, la physico-chimie d'une solution de peroxyde d'hydrogène (produit commercial) ajoutée de 0,3 g/L de NaCl est suivie au cours du temps.

5.1.2.1 Dismutation de H₂O₂ dans la solution d'eau de rivière artificielle

L'évolution de la concentration en peroxyde d'hydrogène après ajout de 1 mmol/L de peroxyde dans l'eau de rivière artificielle a été suivie pour différents pH de la solution. Le pH est ajusté par ajout d'acide gluconique. Le pH de l'eau de rivière artificielle est de 6. Les résultats obtenus sont visibles sur la figure 78.

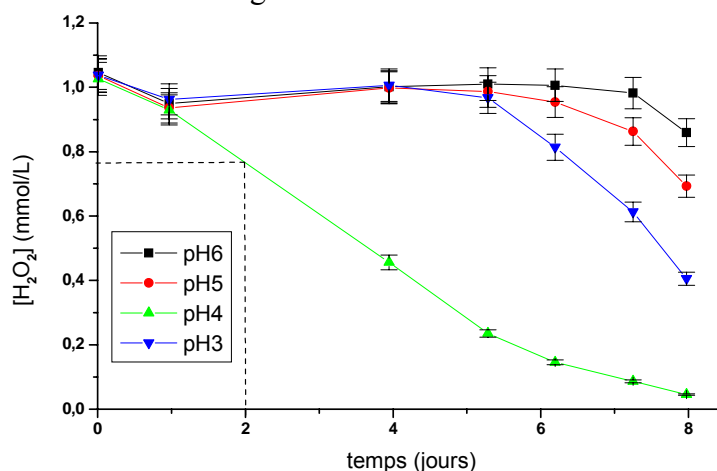


Figure 78 : évolution de [H₂O₂] après ajout de 1 mmol/L de peroxyde d'hydrogène dans l'eau de rivière artificielle ajustée à différents pH par ajout d'acide gluconique

Les concentrations ont été mesurées ponctuellement 15 jours après l'ajout de 1 mmol/L de H₂O₂ dans l'eau de rivière artificielle. Quel que soit le pH, la concentration en peroxyde d'hydrogène est inférieure à 0,08 mmol/L ; la dégradation de H₂O₂ peut être considérée comme totale 15 jours après l'introduction de ce composé dans l'eau de rivière artificielle.

Dans l'eau de rivière artificielle (pH 6), la dégradation du peroxyde d'hydrogène ne commence qu'à partir de 6 jours environ, alors qu'à pH 4 le phénomène de dismutation se met en oeuvre quasi-instantanément. A pH 3 (la valeur la plus proche des solutions de glucose-oxydase), la dismutation de H₂O₂ commence après 4 jours.

Ces résultats confirment les données bibliographiques. Le pH où la vitesse de dismutation est la plus élevée est compris entre 3 et 4. Dans le cas d'une eau à 0,3 g/L de NaCl, ce pH semble plus près de 4 que de 3, ce qui est en accord avec la valeur de 3,7 trouvée dans la littérature [58]. 48 heures après l'ajout du peroxyde d'hydrogène, la seule solution où la dismutation a déjà débuté est la solution de pH 4.

Finalement, d'après les mesures réalisées en l'absence des réactifs enzymatiques, il est tout à fait possible que la dismutation de H₂O₂ puisse apparaître dès 48 heures dans les solutions de GOD à 500 et 1000 u/L (figure 76), qui ont un pH compris entre 3,1 et 3,2.

5.1.2.2 Dismutation de H₂O₂ dans la solution « réactifs enzymatiques »

Il a été dit auparavant que la dismutation du peroxyde d'hydrogène ne se répercute pas sur la concentration en H₂O₂ avant 48 heures passées dans la solution contenant la GOD et le glucose, mais que le temps d'initiation de la dismutation pourrait y être assez proche de 48 heures. Pour étudier la durée de vie de H₂O₂ en solution « réactifs enzymatiques », des mesures de la concentration en peroxyde d'hydrogène ont été effectuées sur une durée de 9 jours. Les résultats sont visibles sur la figure 79.

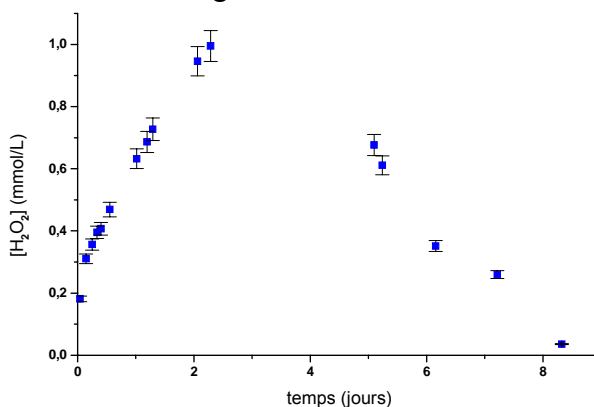


Figure 79 : évolution de la concentration en H₂O₂ en eau de rivière artificielle, après ajout à t = 0 de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose (solution non agitée)

La courbe de la figure 79 montre que la dismutation de H₂O₂ devient suffisamment quantitative pour abaisser la concentration à partir d'une date comprise entre 2,5 et 4 jours. La dismutation commence donc au plus tard 4 jours après l'introduction des réactifs enzymatiques. Ce temps caractéristique est compatible avec les résultats du paragraphe précédent obtenus à pH 3 et à pH 4.

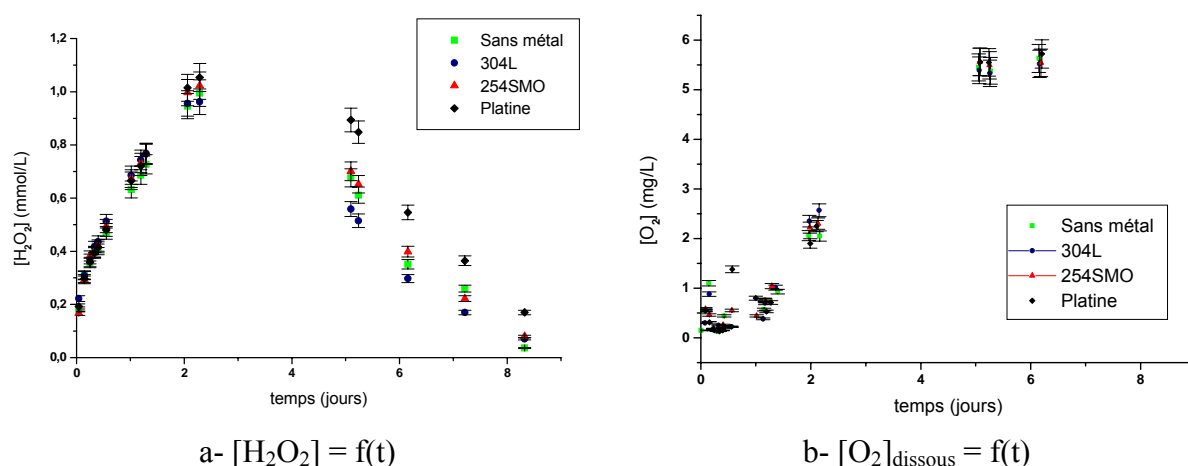
Pour résumer, l'évolution de la concentration en peroxyde d'hydrogène se fait en trois phases :

- De 0 à 2 jours après l'introduction des réactifs enzymatiques, la vitesse de formation de H₂O₂ par la réaction enzymatique est importante, alors que la vitesse de dégradation de H₂O₂ par dismutation est nulle ou très faible. Par conséquent, la concentration en H₂O₂ augmente rapidement.
- De 2 jours à 4 jours, la vitesse de formation de H₂O₂ par la réaction enzymatique diminue tandis que la vitesse de dégradation par dismutation augmente. L'augmentation de la concentration en peroxyde d'hydrogène se fait donc de moins en moins rapidement, puis cesse complètement. Une valeur stable comprise entre 1 et 1,2 mmol/L est atteinte pendant quelques heures.
- Au-delà de 4 jours, la vitesse de dismutation de H₂O₂ devient très élevée, et la concentration en H₂O₂ décroît rapidement. Elle peut être considérée comme nulle au-delà de 8 jours.

5.1.2.3 Influence de la présence d'un métal dans la solution

Il est connu que la plupart des métaux, et en particulier le fer, le chrome, le nickel et le molybdène, catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène. Le but de cette expérience est d'évaluer le rôle de catalyseur du platine et des aciers inoxydables 304L et 254SMO sur la décomposition de H₂O₂.

Dans cette expérience, les concentrations en peroxyde d'hydrogène et en oxygène dissous sont suivies dans plusieurs solutions « réactifs enzymatiques » contenant ou non un échantillon de métal (acier inoxydable ou platine). Les résultats obtenus sont visibles sur la figure 80.



$$a- [H_2O_2] = f(t)$$

$$b- [O_2]_{\text{dissous}} = f(t)$$

Figure 80 : évolution des concentrations en H₂O₂ et O₂ dissous dans des solutions d'eau de rivière artificielle, après ajout à t = 0 de 20 mmol/L de glucose et de 100 u/L de GOD, avec présence ou non d'un échantillon métallique dans la solution (sans agitation)

Durant la première (entre 0 et 2 jours) et la deuxième (entre 2 et 4 jours) phase, les concentrations en peroxyde d'hydrogène sont sensiblement identiques dans les 4 béchers. Dans la troisième phase, durant laquelle la dismutation de H₂O₂ devient prépondérante, les concentrations en peroxyde dans la solution ne contenant pas de métal, dans la solution contenant un échantillon d'acier 304L et dans la solution contenant un échantillon d'acier 254SMO sont identiques. Les échantillons d'acier inoxydable ne semblent pas avoir d'effet catalytique sur la dismutation de H₂O₂. Le platine quant à lui semble abaisser légèrement la vitesse de décomposition du peroxyde d'hydrogène. Le platine aurait plutôt tendance à inhiber faiblement la dismutation de H₂O₂.

Les concentrations en oxygène dissous ne diffèrent pas significativement d'un bécher à l'autre. Cette observation est cohérente avec les mesures de [H₂O₂].

Dans les conditions expérimentales de cette étude, la présence d'un métal en solution n'a d'effet majeur ni sur l'évolution de la concentration en peroxyde d'hydrogène, ni sur l'évolution de la concentration en oxygène dissous.

5.1.3 Synthèse : physico-chimie de la solution

L'étude de la physico-chimie de l'eau de rivière artificielle ajoutée soit des réactifs enzymatiques, soit de peroxyde d'hydrogène commercial, a permis de mettre en évidence des points importants pour la suite de l'étude, et en particulier pour l'interprétation des courbes de polarisation cathodique. Ces courbes ont été tracées dans les mêmes conditions expérimentales que les différents titrages exposés dans ce chapitre et sont toujours réalisées 48 heures après l'introduction des réactifs (ou des produits) enzymatiques.

Lorsque du peroxyde d'hydrogène est introduit dans l'eau de rivière artificielle (pH 6), la concentration reste constante pendant environ 6 jours. Lorsque la courbe de polarisation est tracée, 48 heures après l'introduction du peroxyde, la concentration en H₂O₂ est encore égale à la concentration initiale.

En revanche, lorsque les réactifs enzymatiques sont ajoutés dans l'eau de rivière artificielle (pH 3,1-3,2), la concentration peut diminuer bien avant 4 jours. Vraisemblablement, la concentration en H₂O₂ aura déjà commencé à diminuer lorsque la courbe de polarisation cathodique sera tracée.

En conséquence, les concentrations en solution étant différentes, il est attendu que le courant du palier de diffusion de H₂O₂ soit plus faible (en valeur absolue) dans la solution « réactifs enzymatiques » que dans l'eau de rivière artificielle additionnée de peroxyde d'hydrogène.

5.2 Caractérisation des couches d'oxydes formées dans le modèle enzymatique

Ce paragraphe a pour objectif d'analyser les couches d'oxydes formées sur les nuances 304L et 254SMO dans les différentes solutions mises en jeu dans le modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase » de production de peroxyde d'hydrogène, afin de déterminer l'influence des divers composés (GOD et glucose, H₂O₂, acide gluconique, catalase) sur le film passif, en particulier en terme de composition chimique et d'épaisseur.

Une comparaison avec les analyses XPS effectuées sur des échantillons immergés dans l'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi (présentées au chapitre 4) sera enfin effectuée.

Les couches passives formées dans les diverses solutions du modèle enzymatique sont caractérisées par XPS et par photoélectrochimie, et leurs propriétés de semi-conductivité sont étudiées par la technique de Mott-Schottky.

5.2.1 Caractérisation des couches d'oxydes par photoélectrochimie

Des mesures de micro- et de macro-photoélectrochimie sont effectuées pour déterminer l'influence d'une solution de glucose-oxydase et de glucose sur la couche d'oxydes des aciers inoxydables.

Les deux conditions d'immersion expérimentées sont les suivantes :

- 24h en eau de rivière artificielle (0,3 g/L de NaCl) : « échantillons témoins » ou « échantillons NaCl » ;
- 24h dans une solution à 0,3 g/L de NaCl, puis introduction de 1000 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose et attente de 48h : « échantillons GOD ». L'activité choisie pour l'enzyme est plus élevée que les 100 u/L de la solution « réactifs enzymatiques », afin d'accentuer les modifications apportées aux oxydes du film passif.

5.2.1.1 Acier 304L témoin immergé en eau de rivière artificielle

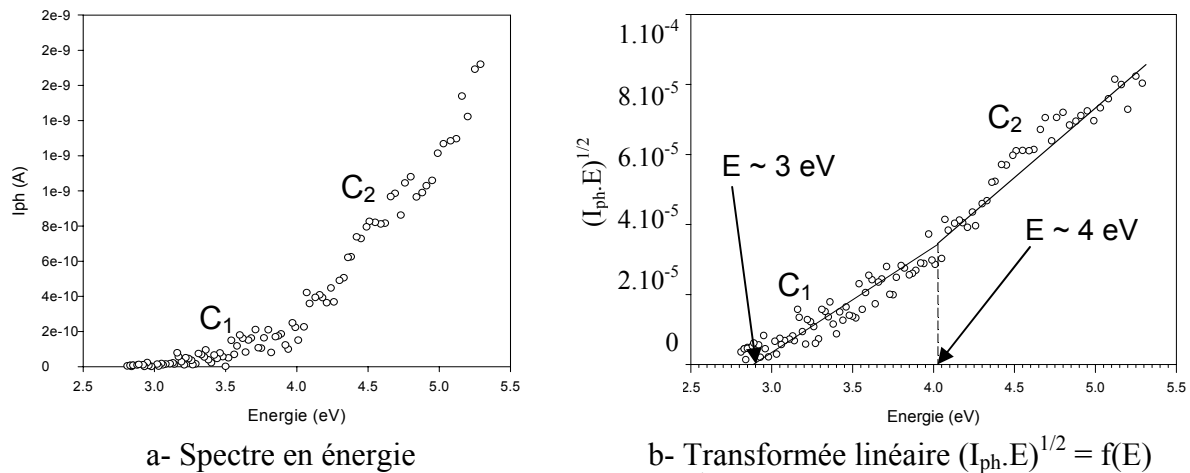
Ces conditions expérimentales sont étudiées par des mesures macro-photoélectrochimiques. Les manipulations réalisées sur ce type d'échantillons sont délicates, du fait de l'important niveau de bruit observé sur les différentes caractéristiques enregistrées. De plus, dans la solution d'eau de rivière artificielle, l'acier inoxydable 304L a un potentiel de piqûre relativement bas (compris entre +380 et +400 mV/ECS, cf. §5.5.1) qu'il ne faut pas dépasser, sous peine de dégrader totalement la couche passive.

En raison du niveau de bruit particulièrement élevé, la caractéristique en potentiel de ce type d'échantillons ne peut être tracée. Une étude préliminaire est menée afin de connaître le type de polarisation à appliquer pour réaliser les mesures. Elle montre que le photocourant est non négligeable uniquement sous polarisation anodique par rapport au potentiel de corrosion libre E_{corr} (proche de -50 mV/ECS). Ceci prouve que les phases présentes ont des propriétés semi-conductrices de type n (photocourant positif aux potentiels de polarisation anodiques par rapport au potentiel de bande plate, supposé relativement voisin de E_{corr}).

Les figures 81-a et -b présentent respectivement la caractéristique en énergie et sa transformée linéaire $(I_{\text{ph}} \cdot E)^{1/2}$ obtenues à un potentiel de polarisation anodique de +150 mV/ECS. Le spectre n'est pas enregistré aux énergies inférieures à 2,5 eV en raison de l'absence total de signal photoélectrochimique.

Le premier signal sur le spectre en énergie est visible à partir de 3 eV. Cette première contribution de photocourant est appelée C_1 . Puis une évolution du signal apparaît aux alentours de 4 eV, ce qui indique la présence d'une deuxième contribution de photocourant appelée C_2 . La transformée linéaire $(I_{\text{ph}} \cdot E)^{1/2}$ permet de définir les valeurs de gap des différentes contributions de photocourant. Elle présente deux zones de linéarité indiquant clairement des contributions photoélectrochimiques C_1 et C_2 ayant des valeurs de gap respectives de 3 eV et 4 eV environ. Il semble délicat de se prononcer sur les valeurs des deux gaps de façon plus précise en raison du niveau de bruit élevée constaté sur le spectre.

Les deux valeurs de gaps correspondent a priori à deux phases semi-conductrices de type n présentes dans le film passif.



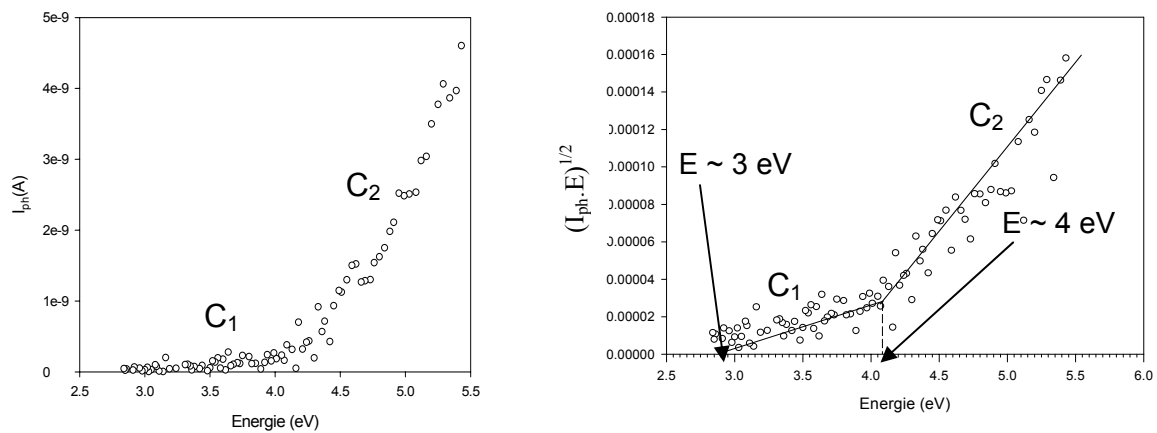
a- Spectre en énergie
 b- Transformée linéaire $(I_{ph} \cdot E)^{1/2} = f(E)$
Figure 81 : courbe en énergie et transformée linéaire $(I_{ph} \cdot E)^{1/2} = f(E)$ réalisées sur un échantillon d'acier inoxydable 304L immergé depuis 24 heures en eau de rivière artificielle et polarisé à +150 mV/ECS

5.2.1.2 Acier 304L immergé dans la solution de GOD à 1000 u/L

Ce paragraphe présente les résultats de macro-photoélectrochimie obtenus sur des échantillons d'acier 304L immergés dans la solution à 0,3 g/L de NaCl contenant 1000 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose. Comme pour le type d'échantillons étudié précédemment, les manipulations se sont révélées délicates, encore une fois à cause du niveau de bruit fortement élevé et de la limite imposée par le potentiel de piqûre. Une caractéristique en potentiel exploitable ne peut être tracée. Une étude préliminaire montre que le photocourant généré par la couche passive est non négligeable uniquement pour des potentiels appliqués anodiques par rapport au potentiel de corrosion libre (environ -70 mV/ECS). Ceci indique que les phases semi-conductrices présentes sont de type n.

Les figures 82-a et -b présentent respectivement la caractéristique en énergie et sa transformée linéaire $(I_{ph} \cdot E)^{1/2}$ obtenues à un potentiel de polarisation de +200 mV/ECS. Comme pour les échantillons « témoins » immergés dans l'eau de rivière artificielle, la réponse spectrale en énergie présente deux contributions photoélectrochimiques C_1 et C_2 . La courbe $(I_{ph} \cdot E)^{1/2}$ donne des résultats quasiment analogues aux précédents. La transformée permet en effet de déterminer deux zones de linéarité indiquant des contributions photoélectrochimiques C_1 et C_2 ayant des valeurs de gap respectives de 3 eV et 4 eV environ. Ces deux contributions en photocourant correspondent a priori à deux phases semi-conductrices de type n distinctes au sein de la couche d'oxydes.

A cette étape du travail, la conclusion intermédiaire sur l'acier 304L est que quel que soit le milieu de formation de la couche passive (eau de rivière artificielle ou solution de NaCl contenant 1000 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose), deux phases semi-conductrices, probablement de type n, sont détectées avec des valeurs de gap respectives proches de 3 et 4 eV.



a- Spectre en énergie b- Transformée linéaire $(I_{ph} \cdot E)^{1/2} = f(E)$
Figure 82 : courbe en énergie et transformée linéaire $(I_{ph} \cdot E)^{1/2} = f(E)$ réalisées sur un échantillon d'acier inoxydable 304L immergé depuis 48 heures dans une solution à 0,3 g/L de NaCl contenant 1000 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose, polarisé à +200 mV/ECS

5.2.1.3 Acier 254SMO témoin en eau de rivière artificielle

a) Etude macro-photoélectrochimique

La figure 83 présente la caractéristique en potentiel (à une longueur d'onde de 280 nm soit 4,4 eV, valeur choisie après étude préliminaire) sur une plage de potentiel allant de -400 mV/ECS à +400 mV/ECS, obtenue sur un échantillon d'acier inoxydable 254 SMO immergé depuis 24 heures en eau de rivière artificielle. La valeur du potentiel d'abandon mesurée sur cet échantillon est de -150 mV/ECS.

Le photocourant généré par le film passif augmente à partir d'une valeur proche de -200 mV/ECS, ce qui indique que les phases semi-conductrices présentes dans la couche d'oxydes sont de type n (photocourant positif aux potentiels de polarisation anodiques par rapport au potentiel de bande plate, considéré comme relativement proche du potentiel d'abandon).

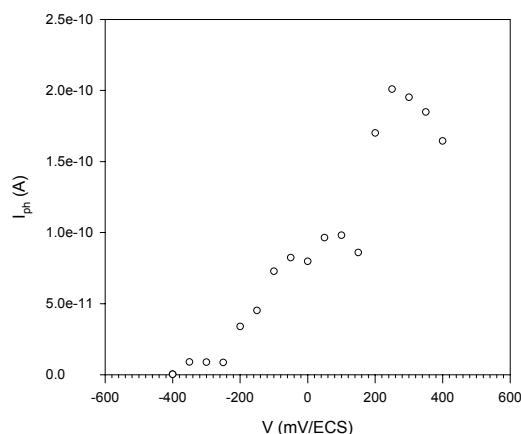
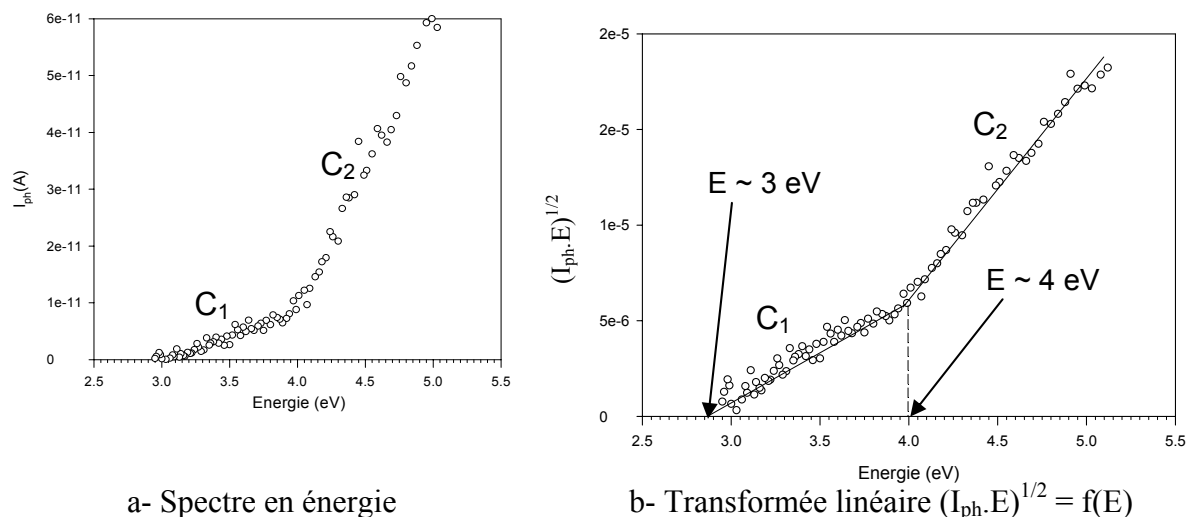


Figure 83 : courbe en potentiel réalisée sur un échantillon d'acier inoxydable 254 SMO immergé depuis 24 heures en eau de rivière artificielle ($\lambda = 280$ nm)

Les figures 84-a et -b présentent respectivement l'évolution du photocourant en fonction de l'énergie du rayonnement incident (spectre en énergie) et sa transformée linéaire $(I_{ph} \cdot E)^{1/2}$. Le spectre n'a pas été enregistré aux énergies inférieures à 3 eV en raison de l'absence total de signal photoélectrochimique.

A nouveau, comme sur l'acier 304L, deux contributions de photocourant C_1 et C_2 sont détectées sur la réponse spectrale en énergie, respectivement à partir d'une énergie de 3 et de 4 eV. La transformée linéaire $(I_{ph} \cdot E)^{1/2} = f(E)$ permet quant à elle d'estimer les valeurs de gap des différentes contributions photoélectrochimiques. Dans cette expérience, les deux contributions de photocourant C_1 et C_2 ont des valeurs de gap respectives de 3 eV et 4 eV environ.

Ces deux contributions correspondent à deux phases semi-conductrices de type n présentes dans le film passif. Une estimation plus précise des énergies de gap est difficile en raison du niveau de bruit élevé.



a- Spectre en énergie
 b- Transformée linéaire $(I_{ph} \cdot E)^{1/2} = f(E)$
Figure 84 : courbe en énergie et transformée linéaire $(I_{ph} \cdot E)^{1/2} = f(E)$ réalisées sur un échantillon d'acier 254SMO immergé depuis 24 heures en eau de rivière artificielle et polarisé à +300 mV/ECS

b) Etude micro-photoélectrochimique

Les échantillons d'acier inoxydable 254 SMO « NaCl » (immergé pendant 24 heures dans l'eau de rivière artificielle) sont le seul type d'échantillons pour lequel une image en photocourant a pu être réalisée (figure 85). Cette image, de dimension 800 μm x 800 μm , est enregistrée à la longueur d'onde de 351,1 nm (3,53 eV > gap(C_1) \approx 3 eV) et devrait donc permettre de signer la présence de la contribution C_1 dans le film passif.

L'image de la figure 85 montre que le photocourant est assez uniforme sur l'ensemble de la surface analysée. Cependant, de légères variations locales sont visibles, en particulier sur l'image en photocourant en trois dimensions présentée en figure 86. Cette observation indique que la phase semi-conductrice associée à la contribution de photocourant C_1 semble être couvrante : elle recouvre la totalité de la surface des échantillons d'acier 254SMO immergés en eau de rivière artificielle.

Par ailleurs, plusieurs tentatives d'enregistrement d'images aux plus basses énergies se sont révélées infructueuses, notamment à 2,41 eV et à pleine puissance laser (2 W). Aucun photocourant n'a pu être détecté, ce qui confirme clairement l'absence totale de signal pour des énergies inférieures à 3 eV et corrobore les résultats macroscopiques. La couche passive ne contient pas de phase semi-conductrice ayant une énergie de gap inférieure à 3 eV.

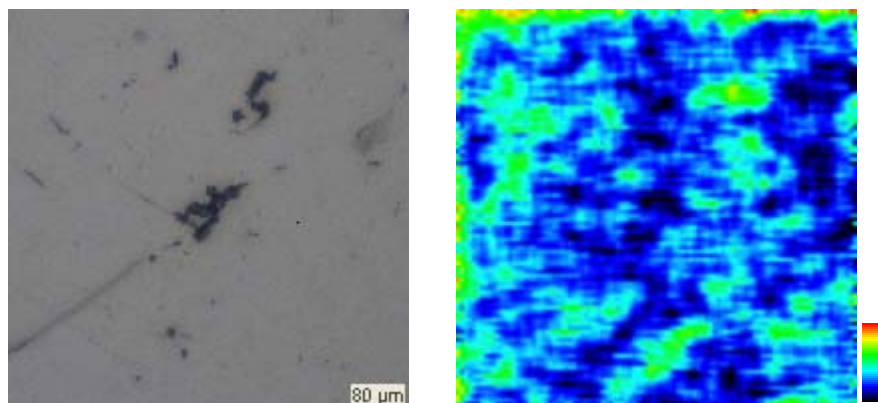


Figure 85 : Image optique et en photocourant d'un échantillon d'acier inoxydable 254 SMO immergé depuis 24 heures en eau de rivière artificielle et polarisé à +240 mV/ECS. Energie = 3,53 eV ($\lambda = 351,1$ nm), image 800 × 800 µm, pas de 8 µm.

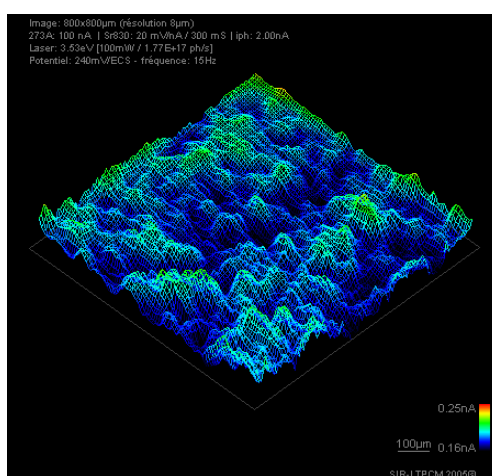


Figure 86 : Image en photocourant de la figure 85 représentée en trois dimensions

5.2.1.4 Acier 254SMO immergé dans la solution de GOD à 1000 u/L

La caractéristique en potentiel présentée en figure 87 montre qu'un photocourant non nul est obtenu autant pour les potentiels anodiques que pour les potentiels cathodiques par rapport au potentiel de corrosion libre (environ -80 mV/ECS). Cependant, tous les essais d'acquisition de caractéristiques en énergie à des potentiels cathodiques n'ont donné aucun résultat. Ces résultats difficilement interprétables à cette heure sembleraient indiquer qu'il puisse co-exister des phases semi-conductrices de type n et de type p dans le film. Ceci irait dans le sens des résultats obtenus par les mesures de capacité suivant la technique de Mott-Schottky, qui dans certaines conditions expérimentales indiquent la présence de phase(s) semi-conductrice(s) de type p (cf. §3.4). Toutefois, cette hypothèse reste à vérifier.

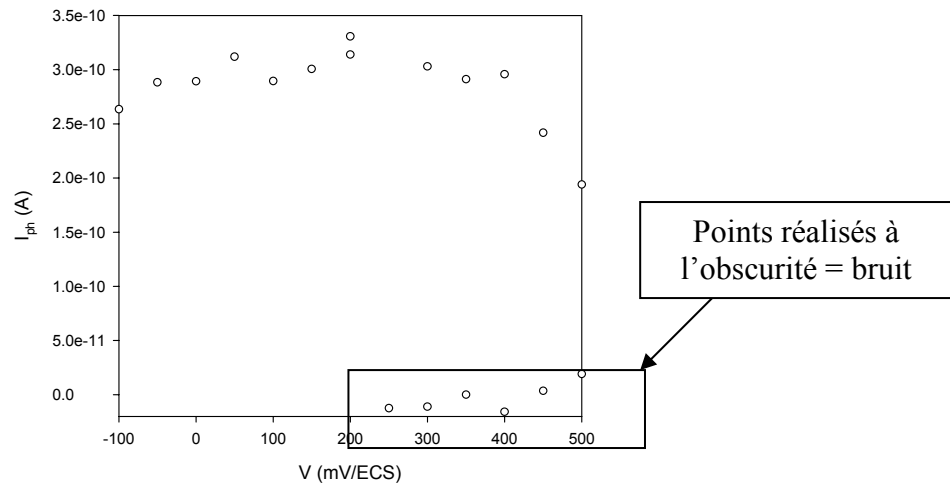
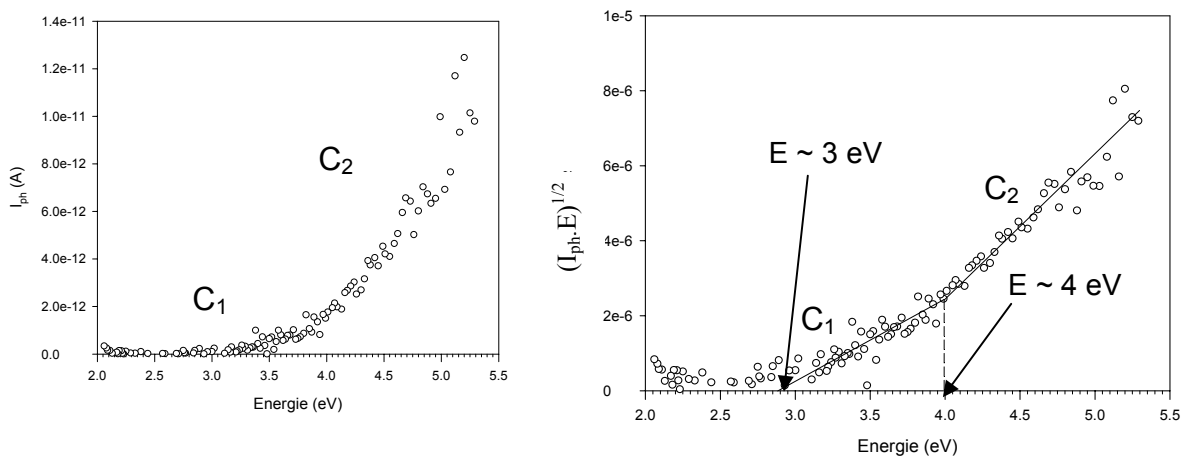


Figure 87 : courbe en potentiel réalisée en lumière blanche sur un échantillon d'acier inoxydable 254SMO immergé depuis 48 heures dans une solution à 0,3 g/L de NaCl contenant 1000 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose

Les figures 88-a et -b présentent respectivement la caractéristique en énergie et la transformée linéaire $(I_{ph} \cdot E)^{1/2}$ obtenues à un potentiel de polarisation anodique de +300 mV/ECS. A nouveau, les contributions photoélectrochimiques C₁ et C₂ sont retrouvées sur la réponse spectrale en énergie. La transformée linéaire permet de déterminer deux contributions photoélectrochimiques C₁ et C₂ avec des valeurs de gap respectives de 3 eV et 4 eV environ. Par analogie avec les résultats précédents, ces deux contributions de photocourant correspondent a priori à deux phases semi-conductrices de type n différentes.



a- Spectre en énergie

b- Transformée linéaire $(I_{ph} \cdot E)^{1/2} = f(E)$

Figure 88 : courbe en énergie et transformée linéaire $(I_{ph} \cdot E)^{1/2} = f(E)$ réalisées sur un échantillon d'acier inoxydable 254SMO immergé depuis 48 heures dans une solution à 0,3 g/L de NaCl contenant 1000 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose, polarisé à +300 mV/ECS

La conclusion intermédiaire sur l'acier inoxydable 254 SMO est que, quel que soit le milieu de formation de la couche passive (eau de rivière artificielle ou solution à 0,3 g/L de NaCl contenant 1000 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose), le film d'oxydes contient toujours 2 phases semi-conductrices, probablement de type n, ayant des valeurs de gap respectives de 3 et 4 eV. Ces deux phases semi-conductrices sont retrouvées pour les deux nuances d'acier inoxydable testées.

5.2.1.5 Diagramme comparatif des rapports C₁/C₂

Afin de pouvoir discuter par la suite de l'influence du milieu de formation de la couche d'oxydes sur sa composition, la figure 89 présente l'évolution du rapport de phases C₁/C₂ en fonction du matériau et des conditions d'immersion. Ce diagramme est obtenu en utilisant les valeurs de photocourant relevées sur les caractéristiques en énergie à des valeurs arbitrairement choisies de 3,75 eV pour C₁ et de 4,75 eV pour C₂. En raison des niveaux de bruits élevés constatés sur les réponses spectrales, il devra être en conséquence commenté avec prudence. Le but est ici d'observer l'évolution relative d'une contribution par rapport à une autre, considérant qu'en photoélectrochimie, la valeur absolue du signal d'une contribution n'est pas représentative de la quantité d'une phase considérée. En effet, un nombre important de paramètres peut influencer sur le module du photocourant, entre autres le taux de centre de recombinaison des paires électron trou, la densité d'états accepteurs dans la bande de conduction, la longueur de pénétration de la lumière dans la phase, etc.

Le rapport C₁/C₂ est plus élevé dans la solution contenant la GOD et le glucose que dans l'eau de rivière artificielle, et ce quel que soit le matériau considéré. Par conséquent, il peut être admis que la quantité de phase semi-conductrice de gap de plus faible énergie (3eV, contribution C₁) augmente en présence de glucose oxydase.

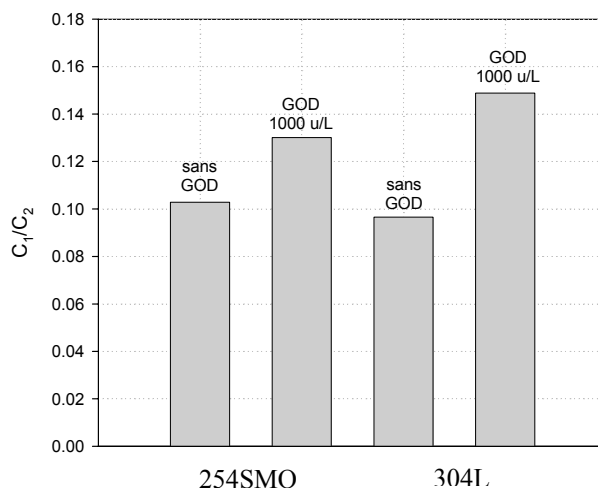


Figure 89 : diagramme comparatif des rapports C₁/C₂ en fonction du matériau et de la solution d'immersion

5.2.1.6 Attribution des contributions photoélectrochimiques C₁ et C₂ à des phases semi-conductrices

Une discussion va être menée afin d'attribuer les contributions C₁ et C₂ à des phases semi-conductrices présentes dans les films passifs étudiés. Les différents oxydes pouvant faire partie du film sont envisagés élément par élément.

- Les oxydes de fer : l'expérience et les calculs thermodynamiques montrent que les oxydes rencontrés dans les films passifs (anodiques et/ou thermiques) sont notamment les oxydes de degré III : l'hématite Fe₂O₃ et la solution solide infinie rhomboédrique (Fe,Cr)₂O₃. Ces deux phases ont pu être clairement associés à des valeurs de gap respectives de 2,2 eV pour l'hématite Fe₂O₃ et de 2,65 eV pour la solution solide infinie rhomboédrique (Fe,Cr)₂O₃ [252, 253].

Pour les autres oxydes de fer de degré intermédiaires comme la magnétite Fe₃O₄ ou la wustite (FeO), des modèles semi-empiriques de prédiction montrent que les valeurs de gap, peu connues (voire totalement inconnues) dans la littérature, ne doivent pas s'écarter significativement des valeurs reportées pour Fe₂O₃ et (Fe,Cr)₂O₃. Par ailleurs, la thermodynamique indique clairement que ces oxydes sont instables.

En conséquence, il est très peu probable que les contributions C₁ et C₂ puissent correspondre aux oxydes de fer évoqués ici.

- Les oxydes de nickel : la seule phase semi-conductrice susceptible de contenir du nickel dans les films passifs (anodiques et/ou thermiques) est l'oxyde de nickel stable NiO (bunsénite), connu pour être un semi-conducteur de type p avec un gap de l'ordre de 3,8 eV. Les contributions C₁ et C₂ étant semi-conductrices de type n, il est très peu probable qu'elles correspondent à l'oxyde de nickel NiO.
- Les oxydes de chrome : l'expérience montre que seule la chromine Cr₂O₃ est susceptible de se former dans les films passifs (anodiques et/ou thermiques). La littérature portant sur cet oxyde ne donne généralement qu'une valeur unique de gap, aux alentours de 3,5 eV, correspondant à une semi-conductivité de type p. Pourtant, un certain nombre d'études photoélectrochimiques menées récemment sur les films d'oxydation formées sur alliages chrominoformeurs et/ou chrome pur ont montré que la chromine Cr₂O₃ peut être associée à deux valeurs de gaps : 2,91 (semi-conductivité type n) et 3,55 eV (semi-conductivité type p) [252, 253]. Ces études ont mis en évidence qu'un comportement semi-conducteur de type n pour la chromine serait dû à la présence d'impuretés dans l'oxyde de chrome, créant ainsi des états supplémentaires dans la bande d'énergie interdite. Ce comportement de type n, avec un gap de 2,91 eV pourrait correspondre à la contribution de photocourant C1.
- Les oxydes de molybdène : l'expérience montre à nouveau que seuls les oxydes de degré supérieurs (MoO₂, MoO₃) semblent stables dans les films passifs (anodiques et/ou thermiques) avec des valeurs de gaps peu connues, probablement autour de 3 eV. L'expérience montre cependant que ces oxydes ne sont que très rarement détectés dans les films d'oxydation.
- Oxydes mixtes : d'autres oxydes sont susceptibles de se former dans les conditions de cette étude, notamment certains spinelles de type Ni_xFe_(1-x)Cr₂O₄. Des études récentes sur alliages de type Inconel ont montré, en couplant une analyse XPS et une analyse photoélectrochimique, que ce type de spinelle peut présenter une valeur de gap proche de 4 eV [254].

5.2.1.7 Conclusion

Compte tenu de la discussion qui a été menée, la contribution C₁, présente dans la couche passive des deux aciers inoxydables et ayant une énergie de gap de 3 eV environ, est attribuée à la chromine Cr₂O₃ semi-conductrice de type n.

La contribution C₂, présente dans la couche passive des deux aciers inoxydables et ayant une énergie de gap de 4 eV environ, semble quant à elle correspondre à un spinelle de la forme Ni_xFe_(1-x)Cr₂O₄ semi-conducteur de type n.

5.2.1.8 Synthèse

Les films passifs étudiés semblent être essentiellement constitués de chromine Cr₂O₃ semi-conductrice de type n (contribution C1) et de spinelle de la forme Ni_xFe_(1-x)Cr₂O₄ semi-conducteur de type n (contribution C2). La chromine forme un film couvrant continûment l'acier 254SMO immergé dans l'eau de rivière artificielle.

La présence en solution des réactifs enzymatiques (GOD et glucose) favorise le développement de la chromine au détriment du spinelle au sein de la couche passive.

Ni l'hématite Fe₂O₃, ni la solution solide (Fe,Cr)₂O₃ ne sont détectées dans cette étude.

5.2.2 Analyse des couches d'oxydes par spectrométrie de photoélectrons

Les modifications apportées à la composition chimique de la couche passive, ainsi qu'à son épaisseur, par les différents composés mis en jeu dans le modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase » (réactifs enzymatiques : GOD, glucose, catalase, et produits enzymatiques : acide gluconique et H₂O₂) sont étudiées par XPS.

Les différentes conditions d'immersion sont les suivantes :

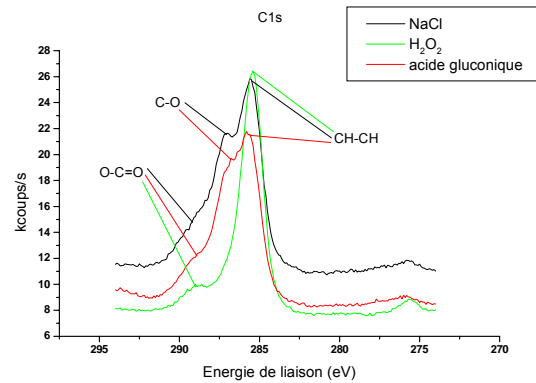
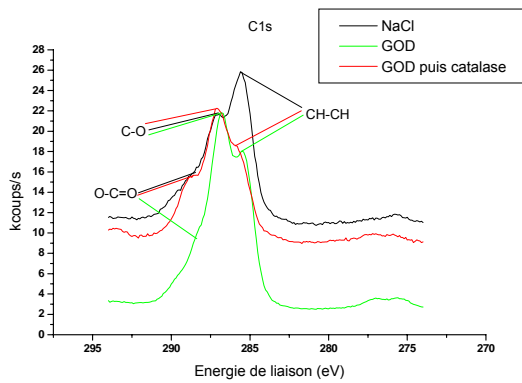
- 72h dans une solution d'eau de rivière artificielle à 0,3 g/L de NaCl : « échantillons témoins » ou « échantillons NaCl » ;
- 24h en eau de rivière artificielle, puis introduction de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose et attente de 48h (solution « réactifs enzymatiques ») : « échantillons GOD » ou « réactifs enzymatiques » ;
- 24h en eau de rivière artificielle, puis introduction de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose et attente de 48h, puis introduction de 3370 u/L de catalase et attente de 24h : « échantillons GOD-catalase » ;
- 24h en eau de rivière artificielle, puis introduction de 10 mmol/L de H₂O₂ et attente de 48h : « échantillons H₂O₂ ». Cette concentration est assez élevée par rapport aux valeurs de concentration en H₂O₂ obtenues en présence de 20 mmol/L de glucose et 100 u/L de GOD ;
- 24h en eau de rivière artificielle, puis introduction de 1 mmol/L d'acide gluconique et attente de 48h : « échantillons acide gluconique ».

Deux échantillons (A et B) de chaque nuance ont été immergés pour chaque condition d'immersion, afin de vérifier la reproductibilité des résultats. Sauf mention contraire, les résultats indiqués sont identiques sur les deux échantillons, donc considérés comme reproductibles.

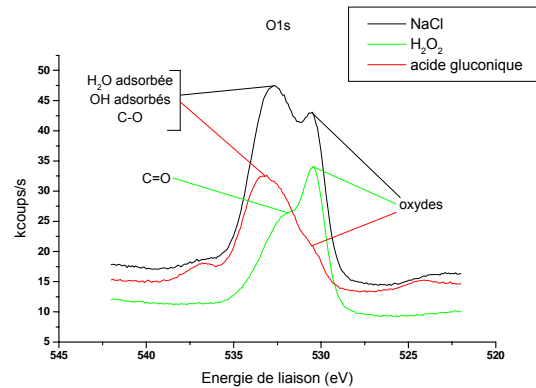
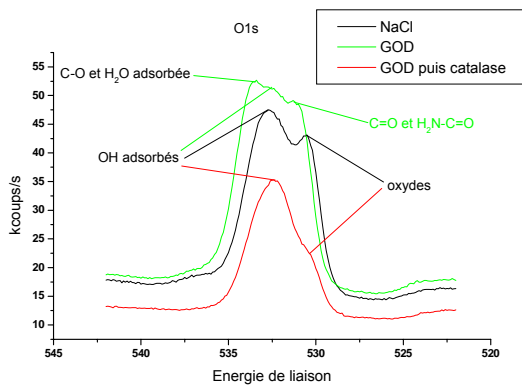
5.2.2.1 Résultats obtenus sur l'acier 304L (incidence normale)

Les spectres vont d'abord être présentés (figures 90 à 93), puis la discussion portera sur les deux quantifications relatives effectuées.

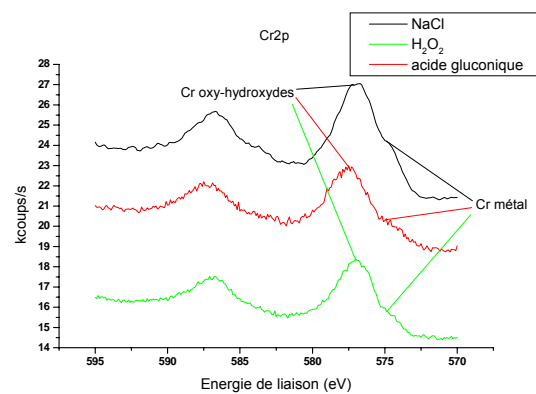
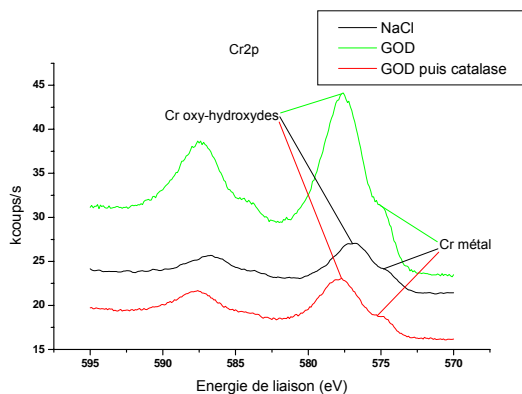
a) Spectres obtenus



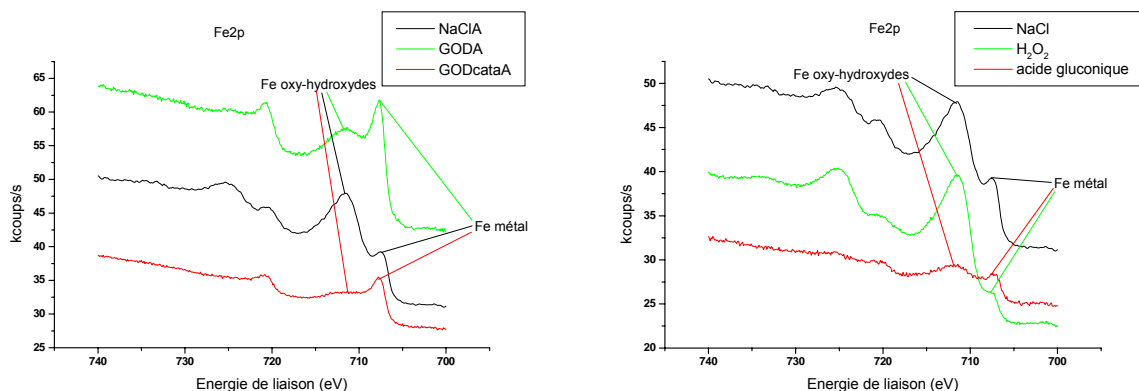
a- Réactifs enzymatiques
b- Produits enzymatiques
Figure 90 : spectres de C1s sur les échantillons d'acier 304L, en fonction de la solution d'immersion



a- Réactifs enzymatiques
b- Produits enzymatiques
Figure 91 : spectres de O1s sur les échantillons d'acier 304L, en fonction de la solution d'immersion



a- Réactifs enzymatiques
b- Produits enzymatiques
Figure 92 : spectres de Cr2p sur les échantillons d'acier 304L, en fonction de la solution d'immersion



a- Réactifs enzymatiques
 b- Produits enzymatiques
Figure 93 : spectres de Fe2p sur les échantillons d'acier 304L, en fonction de la solution d'immersion

b) Quantification relative de tous les éléments

La quantification relative de tous les éléments pris en compte est faite en incidence normale (tableau 24). Le fer métal et le chrome métal sont détectés, par conséquent la totalité de la couche d'oxydes est analysée.

Les deux éléments les plus présents sont le carbone et l'oxygène.

Le carbone provient des différentes sources de pollution (air ambiant, polissage) dans le cas des échantillons « NaCl » et des échantillons « H₂O₂ ». Dans le cas des échantillons « GOD » et « GOD-catalase », le spectre du carbone tient aussi compte de l'adsorption de l'enzyme, du glucose, de l'acide gluconique sur la surface des échantillons. Ces trois molécules organiques carbonées sont susceptibles de contribuer au pic de C1s. Il est intéressant de comparer les deux échantillons d'acier 304L immergés dans la solution « réactifs enzymatiques ». L'échantillon A contient 45,1% de carbone, alors que l'échantillon B en contient 64,2 %. Cette différence s'explique par une différence d'adsorption des trois molécules organiques. Leur adsorption a été beaucoup plus quantitative sur la surface de l'échantillon B. Cette adsorption semble être peu reproductible, ou à tout le moins les paramètres influençant l'adsorption n'ont certainement pas été contrôlés durant l'expérience. Pour les comparaisons ultérieures, seul l'échantillon « GOD-A » sera pris en compte. L'échantillon « GOD-B » permet de mettre en évidence une adsorption des molécules organiques, quantitativement peu reproductible. Par ailleurs, l'échantillon « GOD-catalase » présente des pourcentages atomiques en carbone et en azote élevés ; là aussi, la surface de l'échantillon est recouverte d'une couche de molécules organiques.

L'oxygène détecté est indicateur, outre d'une pollution par molécule organique contenant des atomes d'oxygène, de la présence d'oxydes et d'hydroxydes constituant le film passif.

Le chrome et le fer sont présents sous forme métallique et sous des formes oxydées, en revanche le nickel est uniquement à l'état de métal. La teneur relative en nickel n'évolue pas significativement.

Cette première quantification fait déjà apparaître des tendances.

L'échantillon ayant été en contact avec la solution de glucose-oxydase contient plus de chrome et moins de fer que l'échantillon « NaCl » immergé en eau de rivière artificielle. En présence de la GOD, un enrichissement en Cr et un appauvrissement en Fe sont observés.

L'échantillon « GOD-catalase » ne peut être caractérisé convenablement par cette quantification. La couche de molécules organiques adsorbées est trop importante, seuls le

carbone, l'oxygène et l'azote ressortent vraiment. En particulier, la forte teneur en azote reflète l'adsorption de la catalase, qui semble former facilement une couche d'adsorption supplémentaire recouvrant les autres molécules organiques adsorbées. La quantification relative en éléments Fe et Cr sera déterminante pour l'étude de la composition chimique du film passif.

L'échantillon ayant été en contact avec la solution de H₂O₂ semble, à l'inverse des échantillons « GOD », être recouvert d'une couche passive enrichie en fer au détriment du chrome. Le peroxyde d'hydrogène favoriserait l'élément fer au détriment du chrome.

L'échantillon ayant été en contact avec l'acide gluconique semble être recouvert d'une couche organique adsorbée. L'adsorption constatée sur l'échantillon « GOD-A » pourrait être due à l'adsorption de l'acide gluconique. Les quantités relatives de Fe et de Cr diminuent. L'effet de l'acide gluconique sur la couche d'oxydes est masqué par la présence de la pellicule de molécules d'acide gluconique adsorbées. La quantification en terme de pourcentages relatifs de fer et de chrome permettra de le mettre en évidence.

	C	O	Cr	Fe	Ni	N	Cl
NaCl	44,1	41,7	3,8	5,8	0,3	1,7	2,6
GOD-A	45,1	41,9	6,1	4,5	0,7	0,8	0,9
GOD-B	64,2	33	0,1	0,1	0	0	0
GOD-catalase	57	29,8	3,2	2,1	0,3	7,3	0,8
H ₂ O ₂	54,9	35,6	1,9	6,3	0,1	1,1	0,1
acide gluconique	60,9	28	2	1,8	0,1	1,5	5,7

Tableau 24 : composition du film passif (en pourcentages atomiques relatifs) obtenu sur des échantillons d'acier 304L dans différentes conditions d'immersion

Cette étude va être affinée à l'aide de la quantification relative ne prenant en considération que le chrome et le fer.

c) Quantification relative des éléments Fe et Cr

Les résultats sont donnés en terme de pourcentages de métal total détecté (fer et chrome), de fer oxydé et de chrome oxydé dans le tableau 25. La dernière colonne indique le rapport fer oxydé/chrome oxydé.

Nuance d'acier	% métal total (Fe + Cr)	% Fe oxydé	% Cr oxydé	Fe ox/Cr ox
NaCl	37,5	33,9	28,6	1,18
GOD (A)	43,6	8,6	47,8	0,18
GOD-catalase	39,7	10,1	50,2	0,2
H ₂ O ₂	13,1	63	23,8	2,65
Acide gluconique	42,2	19,3	38,5	0,27

Tableau 25 : résultats XPS (en pourcentages atomiques relatifs) obtenus sur le film passif d'échantillons d'acier 304L dans différentes conditions d'immersion, valeurs normalisées par la quantité totale de Fe et de Cr

➤ Actions des réactifs enzymatiques

La GOD provoque un fort enrichissement de la couche d'oxydes en chrome au détriment du fer. L'épaisseur de la couche passive ne semble pas être affectée significativement dans la solution « réactifs enzymatiques ».

L'addition ultérieure de catalase ne modifie ni les teneurs relatives en chrome et en fer dans la couche d'oxydes, ni l'épaisseur du film passif.

➤ **Actions des produits enzymatiques :**

L'addition de 10 mmol/L de H₂O₂ en solution est à l'origine d'une forte augmentation de la teneur relative en fer dans le film passif (au détriment du chrome). Le peroxyde d'hydrogène génère une très forte croissance de la couche d'oxydes, dont l'épaisseur est beaucoup plus importante (faible quantité de métal détectée). Ceci s'explique par le caractère oxydant puissant de H₂O₂. Cet effet n'est pourtant pas retrouvé en présence de glucose-oxydase catalysant la production de H₂O₂. Ceci pourrait être dû à la présence d'acide gluconique, autre produit de la réaction qui doit être pris en compte. Par ailleurs, il faut rappeler que la concentration du peroxyde d'hydrogène est de 10 mmol/L dans le cas des « échantillons H₂O₂ », tandis qu'elle atteint au maximum 2 mmol/L en solution de glucose-oxydase à 100 u/L. Le choix d'une aussi forte concentration en H₂O₂, supérieure à celle obtenue dans le cadre du modèle enzymatique, a été fait afin d'amplifier l'effet du peroxyde d'hydrogène sur le film passif. Les résultats obtenus montrent que l'épaisseur de la couche d'oxydes n'est pas modifiée lorsque la concentration en H₂O₂ reste faible (inférieure à 2 mmol/L), en tout cas en présence d'acide gluconique.

Les échantillons immergés 48h dans la solution d'acide gluconique ont une couche passive enrichie en chrome au détriment du fer. L'acide gluconique semble favoriser le chrome au sein de la couche d'oxydes. A l'inverse de H₂O₂, l'acide gluconique est présent à une concentration proche de celle obtenue dans la solution GOD. L'épaisseur du film n'est pas modifiée significativement après ajout de l'acide gluconique.

La composition chimique du film passif dans la solution « réactifs enzymatiques » (échantillons « GOD ») est très proche de la composition du film dans la solution d'acide gluconique à 1 mmol/L. Il semble que l'action de l'acide gluconique sur la couche d'oxydes (enrichissement relatif en chrome, pas de variation de l'épaisseur) soit prépondérante devant celle du peroxyde d'hydrogène (enrichissement relatif en fer, forte augmentation de l'épaisseur) dans la solution « réactifs enzymatiques ».

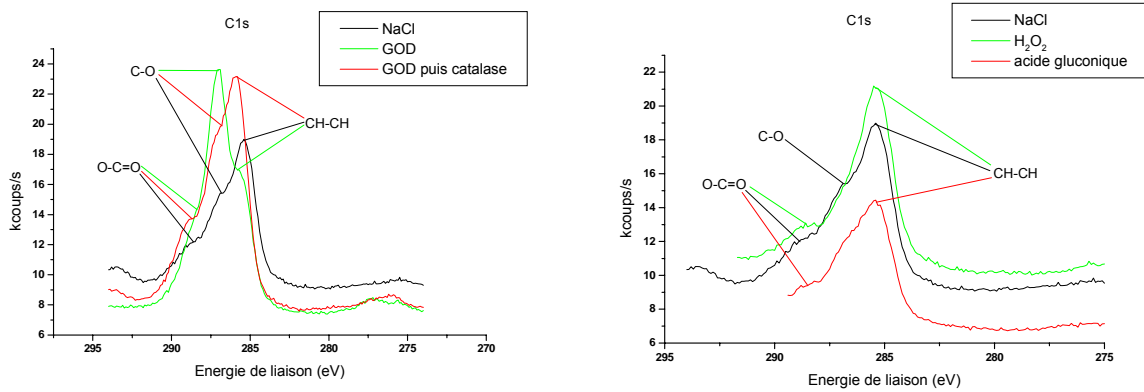
d) Conclusion

L'enrichissement en chrome du film passif formé au contact de la solution « réactifs enzymatiques » (en présence de GOD et de glucose) est dû à la présence de l'acide gluconique. En effet, le peroxyde d'hydrogène a plutôt tendance à former une couche d'oxydes épaisse et très enrichie en fer, alors que l'acide gluconique ne modifie pas l'épaisseur du film et a plutôt tendance à l'enrichir en chrome. L'effet de l'acide gluconique semble l'emporter sur l'effet de H₂O₂. Il est à noter que l'effet de H₂O₂ est accentué dans cette étude, en raison du choix d'une concentration en peroxyde d'hydrogène très élevée. L'action des enzymes sur la couche passive de l'acier inoxydable 304L est donc due à l'action de l'acide gluconique, qui privilégie un enrichissement en chrome sans modifier l'épaisseur du film. La catalase n'a pas d'effet sur le film passif.

5.2.2.2 Résultats obtenus sur le 254SMO (incidence normale)

Les spectres vont d'abord être présentés (figures 94 à 97), puis la discussion portera sur les deux quantifications relatives effectuées.

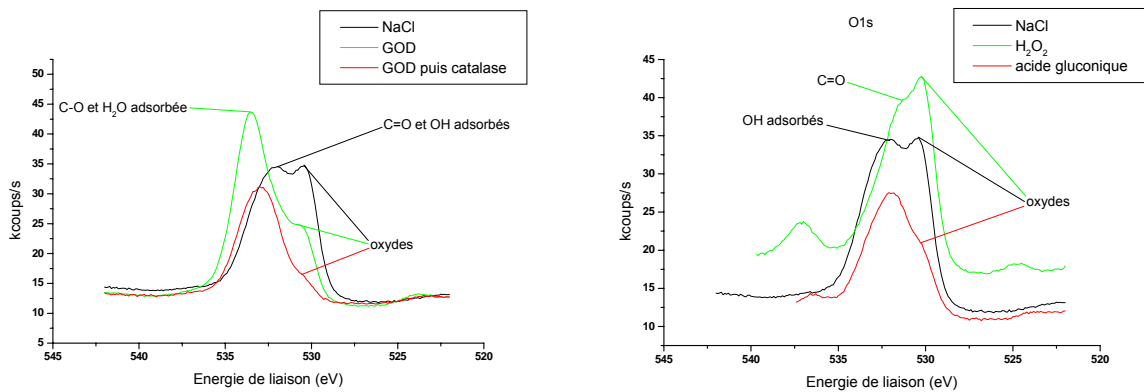
a) Spectres obtenus



Réactifs enzymatiques

Produits enzymatiques

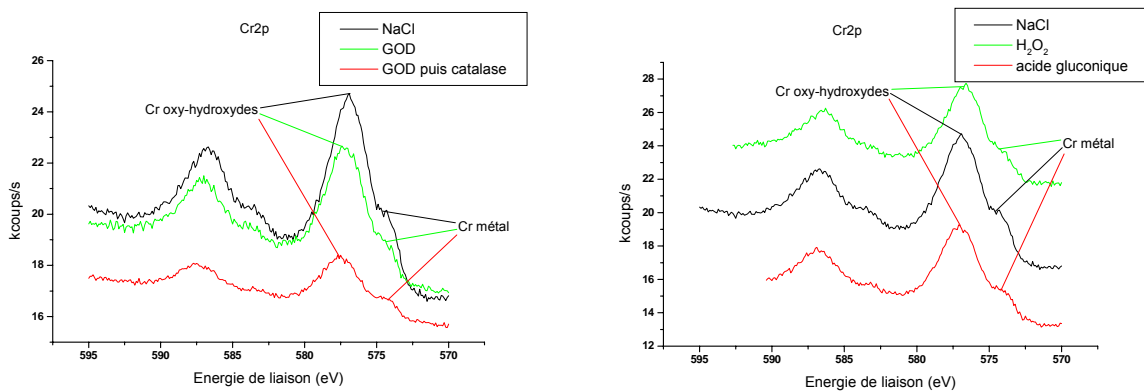
Figure 94 : spectres de C1s sur les échantillons d'acier 254SMO, en fonction de la solution d'immersion



Réactifs enzymatiques

Produits enzymatiques

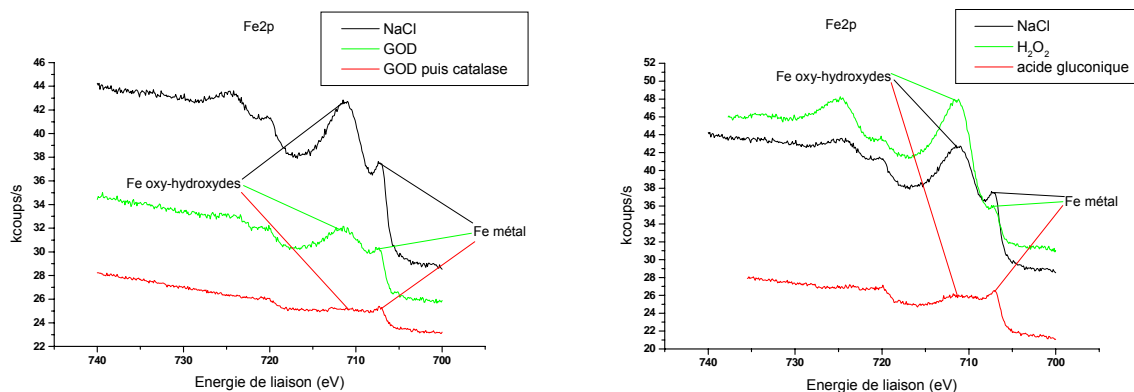
Figure 95 : spectres de O1s sur les échantillons d'acier 254SMO, en fonction de la solution d'immersion



Réactifs enzymatiques

Produits enzymatiques

Figure 96 : spectres de Cr2p sur les échantillons d'acier 254SMO, en fonction de la solution d'immersion



Réactifs enzymatiques

Produits enzymatiques

Figure 97 : spectres de Fe_{2p} sur les échantillons d'acier 254SMO, en fonction de la solution d'immersion

b) Quantification relative de tous les éléments

La quantification relative de tous les éléments pris en compte a été faite en incidence normale (tableau 26). Le fer métal et le chrome métal sont détectés, des photoélectrons proviennent d'une zone métallique plus profonde que la couche d'oxydes, par conséquent la totalité de la couche d'oxydes est analysée. L'épaisseur de la couche d'oxydes est inférieure à la profondeur analysée, de l'ordre de quelques nanomètres. Les teneurs en molybdène et en nickel n'évoluent pas significativement.

Cette première quantification permet d'entrevoir quelques tendances.

En présence des enzymes, les teneurs relatives en carbone et en azote sont plus élevées que dans le cas des échantillons « témoin NaCl ». En particulier, la teneur en carbone augmente lorsque la glucose-oxydase est introduite, et la teneur en azote augmente croît fortement lorsque la catalase est ajoutée (comme pour le 304L). Cette tendance démontre l'adsorption de molécules organiques sur la surface des échantillons d'acier inoxydable. Les molécules de GOD, de glucose et/ou d'acide gluconique s'adsorbent sur la surface durant les 48 heures consécutives à l'ajout de la GOD et du glucose. Puis l'ajout de catalase entraîne une forte augmentation de l'azote dans la couche organique adsorbée. La catalase semble s'adsorber facilement par-dessus les molécules déjà présentes à la surface.

L'ajout de H₂O₂ ou d'acide gluconique n'a aucun effet sur les teneurs relatives en carbone et en azote.

L'ajout de peroxyde d'hydrogène semble provoquer un enrichissement en fer au détriment du chrome dans la couche d'oxydes. L'étude de la composition chimique du film passif va être précisée par la quantification relative en élément chrome et fer.

	C	O	Cr	Fe	Ni	Mo	N	Cl
NaCl	42,4	43,4	4,1	6,2	0,6	0,2	0,9	2,4
GOD	55,5	37,6	1,7	1,5	0,3	0,9	1	1,5
GOD-catalase	63,7	26,2	1,2	0,5	0,3	0,7	6,5	0,9
H ₂ O ₂	40,4	41,6	3,7	7,6	0,4	0,4	1,7	4,2
acide gluconique	39	44,3	5,3	3,8	1	0,7	1,3	5

Tableau 26 : composition du film passif (en pourcentages atomiques relatifs) obtenu sur des échantillons d'acier 254SMO dans différentes conditions d'immersion

c) Quantification relative des éléments Fe et Cr

Les résultats sont donnés en terme de pourcentages de métal total détecté (fer et chrome), de fer oxydé et de chrome oxydé dans le tableau 27. La dernière colonne indique le rapport fer oxydé/chrome oxydé.

Nuance d'acier	% métal total (Fe + Cr)	% Fe oxydé	% Cr oxydé	Fe ox/Cr ox
NaCl	34,6	34	31,4	1,08
GOD (A)	20,2	34,3	45,5	0,76
GOD-catalase	40,5	4	55,5	0,07
H ₂ O ₂	35,3	37,7	27	1,4
Acide gluconique	40,7	11,9	47,4	0,25

Tableau 27 : résultats XPS (en pourcentages atomiques relatifs) obtenus sur le film passif d'échantillons d'acier 254SMO dans différentes conditions d'immersion, valeurs normalisées par la quantité totale de fer et de chrome

➤ **Actions des réactifs enzymatiques**

L'ajout de glucose-oxydase et de glucose provoque un enrichissement du film passif en chrome au détriment du fer. La GOD semble favoriser l'élément chrome. L'épaisseur de la couche d'oxydes augmente après ajout des réactifs enzymatiques.

L'ajout ultérieur de catalase accentue l'enrichissement en chrome. En revanche, l'épaisseur de la couche d'oxydes diminue et revient à sa valeur initiale avant ajout de la GOD et du glucose.

➤ **Actions des produits enzymatiques**

Les échantillons mis en contact pendant 48 heures avec la solution de H₂O₂ ont un film d'oxydes enrichi en élément fer au détriment de l'élément chrome (moins marqué que pour la nuance 304L). Le peroxyde d'hydrogène ne donne donc pas les mêmes modifications de la composition chimique du film passif que la glucose-oxydase. L'épaisseur de la couche d'oxydes n'est pas affectée par H₂O₂.

Les échantillons mis en contact pendant 48 heures avec la solution d'acide gluconique ont une couche passive enrichie en chrome. L'épaisseur du film d'oxydes n'est pas modifiée.

Comme pour l'acier 304L, l'effet de l'acide gluconique (enrichissement en chrome) semble l'emporter sur l'effet de H₂O₂ (enrichissement en Fe) lorsque la réaction de production de ces deux composés est catalysée par la glucose-oxydase.

d) Conclusion

L'enrichissement en chrome du film passif formé en présence de GOD et de glucose est dû à la présence de l'acide gluconique. En effet, le peroxyde d'hydrogène a plutôt tendance à former une couche d'oxydes enrichie en fer, alors que l'acide gluconique favorise un enrichissement en chrome. L'effet de l'acide gluconique semble l'emporter sur l'effet de H₂O₂.

L'action des enzymes sur la couche passive de l'acier inoxydable 254SMO est donc due à l'action de l'acide gluconique, qui privilégie un enrichissement en chrome au détriment du fer. Il est à noter que l'épaisseur de la couche d'oxydes augmente en présence de la GOD puis rediminue lorsque la catalase est ajoutée. L'ajout des produits enzymatiques ne permet pas d'obtenir ces variations d'épaisseur. L'épaississement de la couche d'oxydes dans la solution de glucose-oxydase semble ne pas être dû aux produits enzymatiques.

5.2.2.3 Résultats obtenus sur l'acier 254SMO (angle résolu)

Ces résultats ont été obtenus sur les mêmes échantillons d'acier 254SMO que précédemment, mais avec une inclinaison de 10° entre le plan de la surface et le détecteur. Ceci permet de caractériser l'extrême surface des échantillons et de voir si sa composition relative est différente de la composition relative de l'ensemble de la couche d'oxydes.

Une quantification relative en éléments fer et chrome a été réalisée sur les échantillons d'acier 254SMO immergés dans les solutions de NaCl (eau de rivière artificielle), de GOD (« réactifs enzymatiques ») et de H₂O₂. Les résultats sont indiqués dans le tableau 28.

Nuance d'acier	% métal total (Fe + Cr)	% Fe oxydé	% Cr oxydé	Fe ox/Cr ox
NaCl incidence 90°	34,6	34	31,4	1,08
NaCl incidence 10°	4,1	68,1	27,8	2,45
GOD incidence 90°	20,2	34,3	45,5	0,76
GOD incidence 10°	7	37,6	55,4	0,68
H ₂ O ₂ incidence 90°	35,3	37,7	27	1,4
H ₂ O ₂ incidence 10°	3,3	77,4	19,3	4,01

Tableau 28 : résultats XPS (en pourcentages atomiques relatifs) obtenus sur le film passif d'échantillons d'acier 254SMO dans différentes conditions d'immersion, avec deux angles d'incidence différents, valeurs normalisées par la quantité totale de fer et de chrome

➤ **Extrême surface enrichie en fer en eau de rivière artificielle**

En eau de rivière artificielle, l'extrême surface du film passif est enrichie en fer. Pour aller plus loin dans la connaissance de la structure interne du film passif, il faudrait utiliser un plus grand nombre d'angles d'incidence. Une structure stratifiée, où les oxydes de chrome formeraient une couche interne proche de l'interface métal/couche d'oxydes et les oxydes de fer une couche externe à proximité de l'interface film passif/électrolyte, reste à l'état d'hypothèse dans ce travail. Toutefois, cette étude permet d'affirmer que le film passif est enrichi en Fe à proximité de l'électrolyte.

➤ **Actions des réactifs enzymatiques et du peroxyde d'hydrogène sur l'extrême surface du fil passif**

L'effet d'enrichissement en chrome dans la solution « réactifs enzymatiques » est encore plus important à l'extrême surface de la couche d'oxydes. La teneur relative en chrome oxydé est en effet encore plus élevée à angle d'incidence 10° qu'à angle d'incidence 90°.

L'effet d'enrichissement en fer par le peroxyde d'hydrogène est très accentué à l'extrême surface du film passif. La teneur relative en fer est effectivement plus élevée à faible angle d'incidence.

Globalement, l'extrême surface du film passif subit les mêmes variations de composition chimique que la totalité de la couche d'oxydes, mais ces variations sont encore plus prononcées. Ceci s'explique par le fait que la zone externe du film est en contact direct avec les espèces chimiques incriminées (H₂O₂, acide gluconique) et en ressent plus fortement les effets.

5.2.2.4 Synthèse : modèle enzymatique

Pour les différents types d'échantillons analysés, les rapports fer oxydé/chrome oxydé et métal/oxydes permettent d'évaluer respectivement l'évolution des teneurs relatives en fer et chrome et l'évolution de l'épaisseur du film passif. Ils sont reportés dans les tableaux 29-30. Les résultats en terme de pourcentages sont présentés sur les figures 98 et 99.

	NaCl	GOD	GOD-catalase	H ₂ O ₂	Acide gluconique
Métal/oxydes	0,60	0,77	0,66	0,15	0,73
Fe ox/Cr ox	1,18	0,18	0,2	2,65	0,27

Tableau 29 : ratios métal/oxydes et Fe/Cr des échantillons d'acier 304L en fonction de la solution d'immersion

	NaCl	GOD	GOD-catalase	H ₂ O ₂	Acide gluconique
Métal/oxydes	0,53	0,25	0,68	0,55	0,69
Fe ox/Cr ox	1,08	0,76	0,07	1,4	0,25

Tableau 30 : ratios métal/oxydes et Fe oxydé/Cr oxydé d'échantillons d'acier 254SMO en fonction de la solution d'immersion

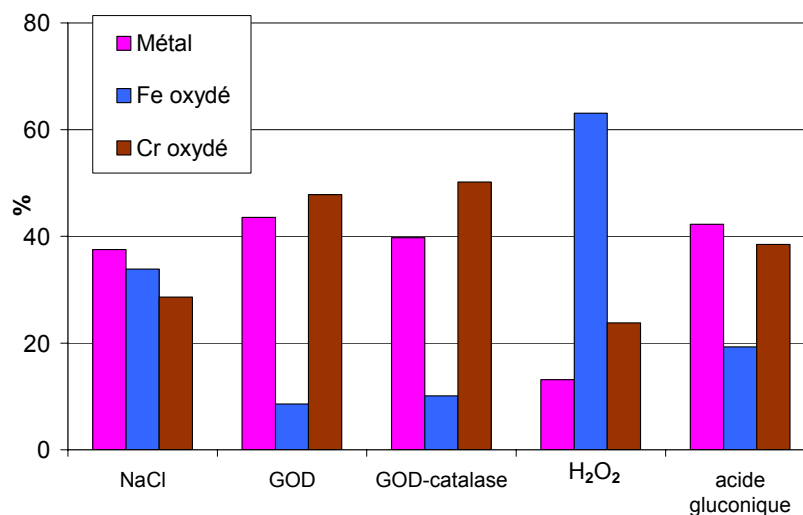


Figure 98: pourcentage en métal, fer oxydé et chrome oxydé des échantillons d'acier 304L en fonction de la solution d'immersion

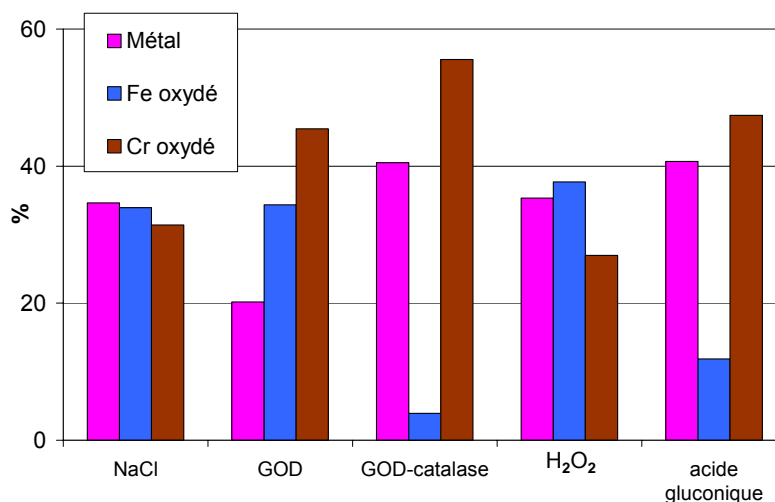


Figure 99 : pourcentage en fer, chrome, métal, métal oxydé des échantillons d'acier 254SMO en fonction de la solution d'immersion

➤ **Effet des différents composés sur le rapport Fe/Cr**

L'effet des différents composés étudiés sur la composition chimique des couches d'oxydes est sensiblement le même pour les deux nuances d'acier inoxydable. Les couches d'oxydes développées en solution « réactifs enzymatiques » sont enrichies en élément chrome au détriment du fer. Un ajout ultérieur de catalase peut accentuer cet enrichissement en chrome (surtout sur l'acier 254SMO). Cet enrichissement est encore plus prononcé à l'extrême surface du film passif, zone en contact avec l'électrolyte.

Les couches d'oxydes développées en solution d'acide gluconique sont aussi enrichies en élément chrome. En revanche, les films d'oxydes formés en solution de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ sont enrichis en élément fer au détriment du chrome. Ici aussi, ces enrichissements sont plus intenses dans la zone externe du film. Les deux produits enzymatiques ont un effet inverse sur la composition chimique du film passif. Etant donné l'enrichissement en chrome observé dans la solution « réactifs enzymatiques », il s'ensuit que l'effet de l'acide gluconique est prépondérant sur l'effet de H₂O₂, en termes de composition chimique de la couche d'oxydes protectrice.

Ces résultats sont tout à fait comparables aux analyses du film passif de l'acier 254SMO lors d'immersion en eau de mer artificielle ASTM. L'action des différents composés (« réactifs enzymatiques », peroxyde d'hydrogène, acide gluconique) sur la composition chimique de la couche d'oxydes présente les mêmes tendances dans les deux milieux.

➤ **Effet des différents composés sur l'épaisseur du film passif**

L'effet des différents composés étudiés sur l'épaisseur du film passif semble différer d'un acier inoxydable à l'autre.

Pour l'acier inoxydable 304L, les deux enzymes et l'acide gluconique n'ont pas d'effet sur l'épaisseur de la couche d'oxydes. En revanche, la présence de H₂O₂ en solution entraîne un épaissement de la couche d'oxydes, qui pourrait varier avec la concentration en H₂O₂. Ce résultat était prévisible étant donné le caractère oxydant puissant du peroxyde d'hydrogène, qui améliore la passivation de l'alliage.

Pour l'acier inoxydable 254SMO, H₂O₂ et l'acide gluconique n'ont pas d'effet sur l'épaisseur de la couche d'oxydes. En revanche, la présence de GOD en solution provoque un épaissement du film passif, puis l'introduction de catalase fait revenir la couche d'oxydes à peu près à son épaisseur initiale. L'effet des enzymes sur l'épaisseur du film passif n'est pas retrouvé en utilisant les produits enzymatiques.

Pour conclure, l'effet de la glucose-oxydase sur les films passifs des aciers inoxydables est le même que l'effet de l'acide gluconique. Cet effet consiste en un enrichissement en chrome au détriment du fer au sein de la couche d'oxydes, et en particulier à l'extrême surface.

La catalase peut accentuer cet effet d'enrichissement en chrome (254SMO).

La seule différence entre les films d'oxydes formés en solution de GOD et les films développés en présence d'acide gluconique est observée sur les échantillons d'acier 254SMO. La GOD a tendance à faire augmenter l'épaisseur du film, qui rediminue après une introduction ultérieure de catalase, alors que l'acide gluconique ne modifie pas l'épaisseur de la couche d'oxydes.

5.2.2.5 Conclusion : comparaison eau de rivière naturelle-modèle enzymatique

Tous les résultats obtenus sont indiqués sur les figures 100 et 102 et en terme de pourcentage de métal total (fer et chrome), de fer oxydé et de chrome oxydé. Les compositions chimiques des films passifs formés sur les deux nuances dans les différents environnement sont représentées sur les figures et 101 et 103.

Pour l'acier inoxydable 304L, les conditions d'immersion donnant la couche d'oxydes la plus proche de la couche d'oxydes formée en eau de rivière naturelle sont réunies à la fois dans la solution « réactifs enzymatiques » (notée ici « GOD »), dans la solution « réactifs enzymatiques » additionnée de catalase, et dans une moindre mesure dans la solution d'acide gluconique à 1 mmol/L (figure). Les couches d'oxydes obtenues dans ces conditions sont globalement enrichies en élément chrome par rapport à l'échantillon « NaCl » immergé en eau de rivière artificielle. La couche d'oxydes développée dans la solution d'acide gluconique contient moins de chrome, vraisemblablement en raison de la faible concentration de la solution. L'effet d'enrichissement en chrome à pH acide est retrouvé dans l'eau de rivière naturelle. L'effet d'enrichissement en fer, constaté dans une solution de peroxyde d'hydrogène, est au contraire absent dans l'eau de Seine sur le site de Choisy.

Du point de vue de la composition chimique et de l'épaisseur, l'effet (sur une longue échelle de temps) de l'immersion dans une eau de rivière naturelle sur la couche passive d'un échantillon d'acier 304L est modélisé correctement par la solution « réactifs enzymatiques ». Une solution d'acide gluconique (1 mmol/L, voire une concentration légèrement plus élevée) modélise aussi assez bien cet effet.

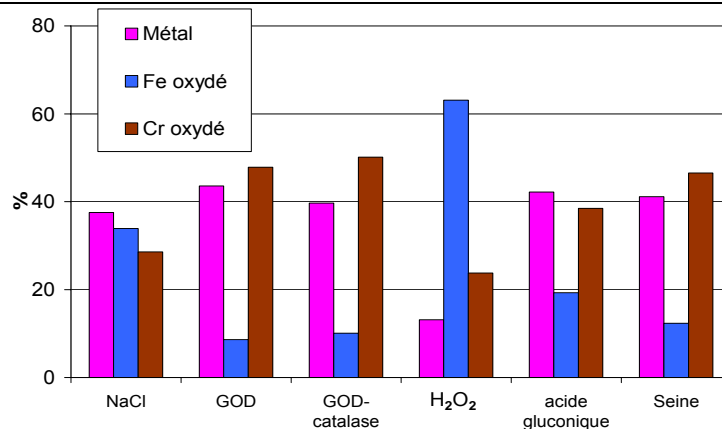


Figure 100 : pourcentage en métal, fer oxydé et chrome oxydé des échantillons d'acier 304L en fonction de la solution d'immersion

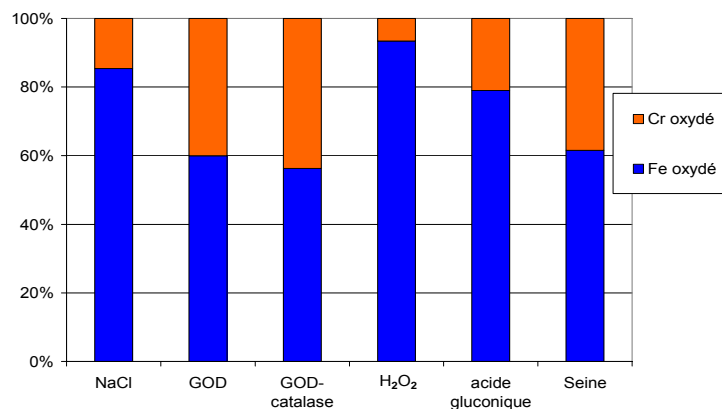


Figure 101 : composition de la couche passive d'échantillons d'acier 304L dans différentes conditions d'immersion

Le comportement de l'acier inoxydable 254SMO en eau de rivière naturelle est différent du comportement de l'acier 304L. Le film d'oxydes développé sur 254SMO lors de l'immersion dans l'eau de Seine est en effet très fortement enrichi en fer par rapport à l'échantillon témoin « NaCl » immergé en eau de rivière artificielle. Le pourcentage de fer oxydé (oxydes et hydroxydes) est supérieur à 45 %. Cette composition chimique est très différente des compositions de film obtenues dans la solution « réactifs enzymatiques », dans la solution « réactifs enzymatiques » additionnée de catalase et dans la solution d'acide gluconique à 1 mmol/L. Il a été prouvé que l'immersion d'un échantillon d'acier 254SMO dans une solution de peroxyde d'hydrogène à 10 mmol/L provoque un enrichissement en fer de la couche d'oxydes. Dans le modèle enzymatique, cette solution d'immersion est la seule dans laquelle le film passif s'enrichit en fer (comme en eau de rivière naturelle). L'enrichissement en fer est toutefois moins intense dans la solution de H₂O₂ que dans l'eau de Seine.

Du point de vue de la composition chimique et de l'épaisseur, l'effet (sur une longue échelle de temps) de l'immersion dans une eau de rivière naturelle sur la couche passive d'un échantillon d'acier 254SMO peut être modélisé par une solution de peroxyde d'hydrogène à 10%. L'enrichissement en fer est cependant moins poussé dans cette solution modèle que dans l'eau de rivière naturelle.

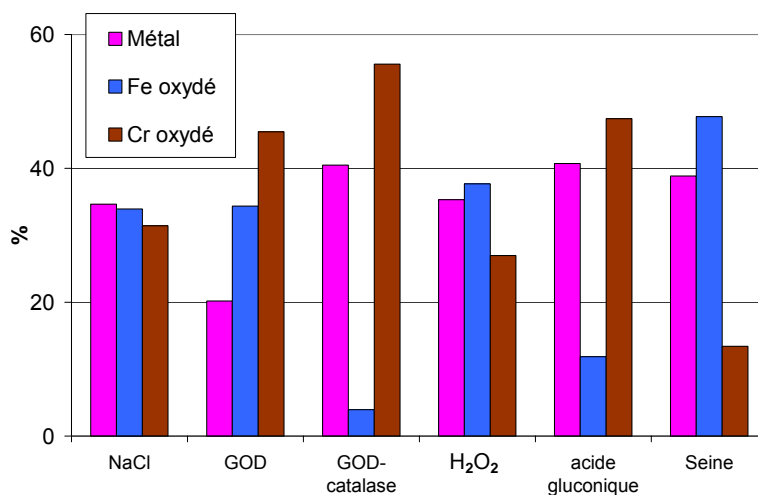


Figure 102 : pourcentage en fer, chrome, métal, métal oxydé des échantillons d'acier 254SMO en fonction de la solution d'immersion

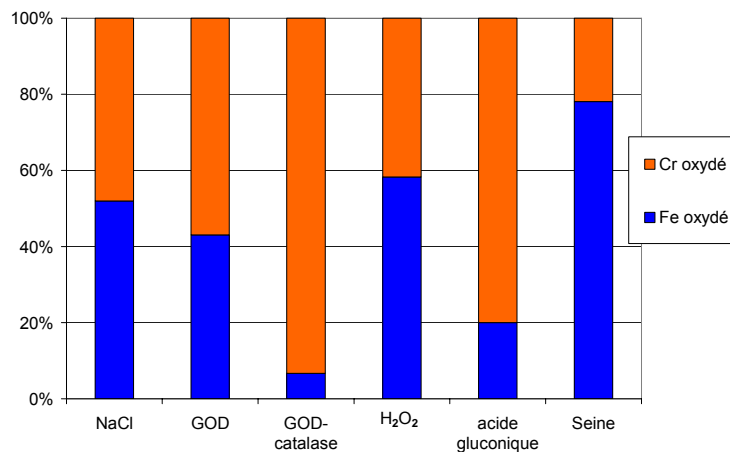


Figure 103 : composition de la couche passive d'échantillons d'acier 254SMO dans différentes conditions d'immersion

5.2.3 Détermination des propriétés de semi-conductivité des couches d'oxydes par la technique de Mott-Schottky

Les modifications de la couche d'oxyde au contact des différents composés mis en jeu dans le modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase » sont étudiées par la technique de Mott-Schottky, qui permet de caractériser les propriétés semi-conductrices des aciers inoxydables.

Les différentes conditions d'immersion sont les suivantes :

- 24 heures en eau de rivière artificielle à 0,3 g/L de NaCl : échantillons « NaCl » ;
- 24 heures en eau de rivière artificielle, puis introduction de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose et attente de 48 heures (solution « réactifs enzymatiques ») : échantillons « 100 u/L GOD » ;
- 24 heures en eau de rivière artificielle, puis introduction de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose et attente de 48 heures, puis introduction de 3370 u/L de catalase et attente de 48 heures : échantillons « GOD puis catalase » ;
- 24 heures en eau de rivière artificielle, puis introduction de 2 mmol/L de H₂O₂ et attente de 48 heures : échantillons « H₂O₂ 2mM ». Cette concentration est en adéquation avec les concentrations de peroxyde d'hydrogène mesurées dans la solution « réactifs enzymatiques » à 48 heures (entre 1 et 2 mmol/L).
- 24 heures en eau de rivière artificielle, puis introduction de 1 mmol/L d'acide gluconique et attente de 48 heures : échantillons « acide gluconique 1mM ».

Des mesures de capacité par la méthode de Mott-Schottky sont réalisées sur des échantillons d'aciers inoxydables 304L et 254SMO dans ces cinq conditions d'immersion. L'effet de la solution « réactifs enzymatiques », l'effet d'un ajout ultérieur de catalase, et l'effet des produits enzymatiques (peroxyde d'hydrogène et acide gluconique) sur les propriétés semi-conductrices sont ainsi mis en évidence.

5.2.3.1 Résultats obtenus sur l'acier 304L

Les diagrammes de Mott-Schottky obtenus sur les échantillons d'acier inoxydable 304L sont présentés sur la figure 104. Les résultats sont assez bruités : la dispersion des valeurs mesurées est importante. Toutefois, la tendance générale des courbes permet l'interprétation et le calcul des propriétés semi-conductrices de l'alliage. Les valeurs calculées du potentiel de bandes plates U_{fb} , de la densité des porteurs de charge N_q et de l'épaisseur de la zone de charges d'espace W dans la zone de semi-conductivité de type n (entre -0,4 et 0,2 V/ECS) sont indiquées dans le tableau de la figure 104.

Le potentiel de bandes plates est d'environ -0,5 V/ECS pour l'échantillon témoin immergé dans l'eau de rivière artificielle. Cette valeur est généralement trouvée en milieu aqueux ayant un pH proche de la neutralité (solution tampon légèrement basique [175], eau de mer artificielle [73, 179, 182], eau de mer naturelle [73]). Le potentiel de bandes plates dans la solution contenant du peroxyde d'hydrogène est légèrement inférieur, proche de -0,6 V/ECS. Cette différence n'est pas significative, elle peut provenir des incertitudes intrinsèques à la régression linéaire. En revanche, dans le cas des échantillons immergés dans les solutions « GOD 100 u/L », « GOD puis catalase » et « acide gluconique 1 mM », U_{fb} est proche de -

0,2 V/ECS. Cette variation est un effet du pH. En effet, dans les deux solutions enzymatiques, le pH passe grosso modo de 5,8 avant l'ajout de la GOD et du glucose à 3,3 après l'ajout. La catalase n'a pas d'effet sur le pH. La variation ΔpH d'environ 2,5 devrait engendrer une augmentation de U_{fb} de $60 \times 2,5$, soit 0,15 V. Cette augmentation théorique est plus faible que l'augmentation calculée à partir des données expérimentales. C'est aussi le cas dans la solution d'acide gluconique à 1 mmol/L : le pH passe de 5,8 à environ 4,2, soit une variation de 1,6, qui devrait engendrer une augmentation de 0,1 V de U_{fb} . L'augmentation théorique est là encore plus faible que l'augmentation « expérimentale ». Cette différence peut provenir aussi de l'incertitude de la régression linéaire.

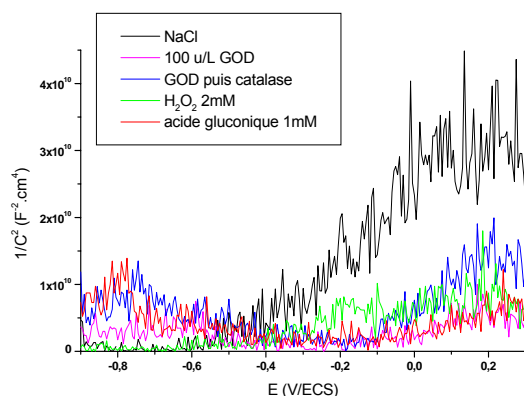
Toutefois, le rôle du pH est bien confirmé, et l'évolution du pH explique correctement les décalages du potentiel de bandes plates observés dans les solutions « réactifs enzymatiques », « GOD puis catalase », et « acide gluconique 1 mM ».

La densité de donneurs N_d est d'environ $2,3 \cdot 10^{19} \text{ cm}^{-3}$ pour l'échantillon témoin « NaCl », valeur tout à fait compatible avec les résultats donnés au chapitre 3 pour l'acier inoxydable 316L en eau de rivière artificielle. La densité de donneurs augmente de façon conséquente lorsque la GOD et son substrat sont introduits dans la solution de NaCl. Cet effet d'augmentation de N_d est lié à la présence des produits enzymatiques.

Effectivement, une augmentation de N_d est aussi trouvée dans la solution de peroxyde d'hydrogène et dans la solution d'acide gluconique. Les deux produits enzymatiques provoquent une augmentation de la densité de donneurs, et leurs deux effets se conjuguent lorsque les deux composés sont présents en solution.

Lorsque la catalase est introduite dans la solution « réactifs enzymatiques » (solution « GOD puis catalase »), la densité de donneurs N_d diminue et revient à une valeur proche de sa valeur initiale. Or l'ajout de catalase dans la solution « réactifs enzymatiques » ne modifie pas le pH mais catalyse la dismutation de H₂O₂. Il a été montré que, lorsque la catalase est introduite, la totalité du peroxyde d'hydrogène est dégradée très rapidement. Le pH acide ne semble donc pas suffire pour maintenir une valeur élevée de N_d . Le rôle du peroxyde d'hydrogène dans l'augmentation de la densité de porteurs de charge semble primordial.

Lorsque la densité de porteurs de charge (électrons) N_d est élevée, comme c'est le cas dans les solutions « réactifs enzymatiques », « H₂O₂ 2 mM » et « acide gluconique 1 mM », le nombre d'électrons susceptibles de participer aux réactions cathodiques augmente, autrement dit la « réactivité » de la surface par rapport aux réduction des espèces oxydantes (O₂, H₂O₂) augmente.



Solution	U_{fb} (V/ECS)	N_d (cm^{-3})	W (nm)
NaCl	-0,45	$2,3 \cdot 10^{19}$	0,22
GOD 100 u/L	-0,15	$7,2 \cdot 10^{19}$	0,11
GOD puis catalase	-0,18	$3,4 \cdot 10^{19}$	0,15
H ₂ O ₂ 2 mM	-0,61	$1,2 \cdot 10^{20}$	0,14
Acide gluconique 1 mM	-0,20	$8,8 \cdot 10^{19}$	0,12

Figure 104 : diagrammes de Mott-Schottky et valeurs calculées des paramètres de semi-conductivité pour des échantillons d'acier inoxydable 304L immergés dans les 5 solutions différentes

Par ailleurs, la semi-conductivité de type p observée entre -0,8 et -0,6 V/ECS est marquée pour les solutions « GOD 100 u/L », « GOD puis catalase » et « acide gluconique 1 mM », alors qu'elle n'est pas visible dans les solutions « NaCl » et « H₂O₂ 2mM ». Cette semi-conductivité de type p pourrait être due aux oxy-hydroxydes de chrome du film passif. L'enrichissement de la couche d'oxydes en chrome dans la solution « réactifs enzymatiques » et en présence d'acide gluconique serait alors à l'origine de cette différence dans les diagrammes de Mott-Schottky.

Cependant, les mesures de photocourant n'ont pas détectées de phase semi-conductrice de type p (photocourant positif pour un potentiel de polarisation cathodique par rapport à U_{fb} , considéré voisin de E_{corr}). Il se pourrait qu'une phase semi-conductrice de type p non détectée lors des mesures de photoélectrochimie soit présente dans le film passif, dans certaines conditions expérimentales. La polarisation cathodique appliquée lors des mesures de photocourant pourrait être trop faible par rapport au potentiel de bandes plates (environ -0,5 V/ECS d'après les diagrammes de Mott-Schottky) pour détecter les phases semi-conductrices de type p.

5.2.3.2 Résultats obtenus sur l'acier 254SMO

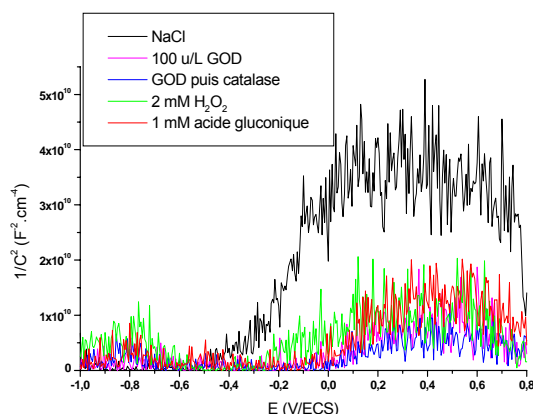
Les diagrammes de Mott-Schottky et les valeurs calculées de U_{fb} , de N_d et de W (dans la zone de semi-conductivité de type n) peuvent être lus sur la figure 105.

Le potentiel de bandes plates U_{fb} est compris entre -0,4 et -0,3 V/ECS dans les solutions ayant un pH proche de la neutralité (« NaCl » et « H₂O₂ 2 mM »). Il est compris entre -0,2 et -0,1 V/ECS dans les solutions plus acides (« GOD 100 u/L », « GOD puis catalase », « acide gluconique 1 mM »). L'effet du pH sur le potentiel de bandes plates est retrouvé. U_{fb} augmente quand le pH diminue.

La densité de donneurs N_d est d'environ $1,7 \cdot 10^{19} \text{ cm}^{-3}$ pour l'échantillon témoin « NaCl », valeur tout à fait compatible avec les résultats donnés au chapitre 3 pour l'acier inoxydable 316L. Cette densité augmente fortement lorsque la GOD et le glucose sont introduits dans la solution : elle atteint alors $8,9 \cdot 10^{19} \text{ cm}^{-3}$. L'augmentation de la densité de porteurs de charge est liée à la présence des produits enzymatiques en solution.

En effet, une augmentation de N_d est aussi trouvée dans la solution de peroxyde d'hydrogène et dans la solution d'acide gluconique. Les deux produits enzymatiques ont tendance à faire augmenter la densité de donneurs. Dans la solution « réactifs enzymatiques », la présence des deux produits enzymatiques mène à la superposition de leurs deux effets, et il en résulte une augmentation de N_d .

Lorsque la catalase est introduite dans la solution « réactifs enzymatiques », la densité de donneurs augmente légèrement, contrairement au cas du 304L, où un ajout de catalase entraîne une forte diminution de N_d . La solution « GOD puis catalase » a le même pH acide que la solution « réactifs enzymatiques » mais ne contient plus de peroxyde d'hydrogène. Le pH acide semble donc suffire pour maintenir une valeur élevée de N_d . Pour l'acier inoxydable 254SMO, l'acide gluconique est le facteur principal de l'augmentation de la densité de porteurs de charge.



Solution	U_{fb} (V/ECS)	N_d (cm ⁻³)	W (nm)
NaCl	-0,39	$1,7 \cdot 10^{19}$	0,24
GOD 100 u/L	-0,18	$8,9 \cdot 10^{19}$	0,15
GOD puis catalase	-0,11	$1,0 \cdot 10^{20}$	0,12
H ₂ O ₂ 2 mM	-0,34	$6,1 \cdot 10^{19}$	0,15
Acide gluconique 1 mM	-0,13	$5,0 \cdot 10^{19}$	0,15

Figure 105 : diagrammes de Mott-Schottky et valeurs calculées des paramètres de semi-conductivité pour des échantillons d'acier inoxydable 254SMO immergés dans différentes conditions expérimentales

Comme pour l'acier 304L, une semi-conductivité de type p est observée dans certaines solutions (« GOD puis catalase », « H₂O₂ 2 mM », « acide gluconique 1 mM ») entre -0,8 et -0,6 V/ECS. Elle correspond à une (ou plusieurs) phase(s) non détectée(s) lors des mesures de photocourant, à l'exception des résultats obtenus sur un échantillon d'acier 254SMO immergé dans une solution contenant 1000 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose (cf. §5.2.1.4).

Là aussi, une phase semi-conductrice de type p non détectée lors des mesures de photoélectrochimie pourrait être présente dans le film passif, dans certaines conditions expérimentales.

5.2.3.3 Synthèse : modèle enzymatique

Dans l'eau de rivière artificielle, les aciers inoxydables ont un potentiel de bandes plates U_{fb} proche de -0,5 V/ECS. Celui-ci varie avec le pH de la solution. Aux potentiels inférieurs à U_{fb} , dans certaines conditions expérimentales (présence de GOD et de glucose, présence d'acide gluconique), un comportement de semi-conducteur type p peut apparaître. La phase correspondante, non détectée lors des mesures de photocourant, n'a pas pu être identifiée. Aux potentiels supérieurs à U_{fb} (jusqu'à environ 0,2 V/ECS), les aciers inoxydables présentent un caractère semi-conducteur de type n, généralement attribué aux oxy-hydroxydes de fer. Cette semi-conductivité de type n a été plus particulièrement étudiée.

L'ajout de glucose-oxydase et de glucose dans une solution d'eau de rivière artificielle contenant un échantillon d'acier inoxydable entraîne une augmentation de la densité de porteurs de charge dans la couche de charges d'espace du film passif. Cet effet est dû aux deux produits enzymatiques, le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et l'acide gluconique, qui ont tous les deux tendance à faire augmenter la densité de donneurs N_d . Toutefois, en fonction du matériau, un produit enzymatique joue un rôle plus important que l'autre. Dans le cas de l'acier inoxydable 304L, le composé principal entraînant l'augmentation de N_d est le peroxyde d'hydrogène. Dans le cas de l'acier inoxydable 254SMO, c'est au contraire l'acide gluconique qui semble jouer le rôle prépondérant dans l'augmentation de la densité de donneurs, ce qui est cohérent avec les études portant sur cette nuance en milieu eau de mer [73].

Cette augmentation de N_d a une influence sur les réactions cathodiques. Une densité de donneurs (électrons pour un semi-conducteur type n) plus élevée signifie un nombre d'électrons disponibles pour participer aux réactions de réduction sur les sites cathodiques

plus élevé. La surface d'un échantillon ayant une forte densité N_d est plus réactive vis-à-vis des réactions de réduction qui peuvent s'y produire.

5.2.3.4 Conclusion : comparaison eau de rivière naturelle-modèle enzymatique

Les propriétés de semi-conductivité des films passifs d'acier inoxydables immergés en eau de rivière naturelle (cf. chapitre 4) sont proches de celles mesurées en eau de rivière artificielle. L'immersion en eau de Seine ne semble affecter significativement ni les densités de porteurs de charge, ni le potentiel de bandes plates.

En revanche, les valeurs de densité de porteurs de charge dans l'eau de Seine sont nettement inférieures aux valeurs trouvées dans la solution « réactifs enzymatiques » et dans les solutions de produit enzymatique (H₂O₂, acide gluconique). Le modèle enzymatique ne génère pas les mêmes propriétés semi-conductrices que l'eau de rivière naturelle. Il affecte beaucoup plus ces propriétés que ne le fait l'immersion dans l'eau de Seine.

Le modèle enzymatique ne permet pas d'obtenir un comportement semi-conducteur similaire à celui observé dans l'eau de rivière naturelle.

5.2.4 Synthèse : caractérisation des couches d'oxydes

➤ Composition du film passif :

Les caractérisations présentées dans ce chapitre montrent que le film passif des aciers inoxydables immergés en eau de rivière (naturelle ou artificielle) est constitué de deux phases semi-conductrices de type n : la chromine Cr₂O₃ et une phase contenant du fer, vraisemblablement un spinelle de la forme Ni_xFe_(1-x)Cr₂O₄. Les diagrammes de Mott-Schottky indiquent que le film passif pourrait aussi renfermer une phase semi-conductrice de type p (non détectée en photoélectrochimie), qui n'a pas pu être identifiée.

➤ Influence des différents composés du modèle enzymatique sur le film passif :

La présence en solution des réactifs enzymatiques (GOD et glucose) favorise le développement de la chromine au détriment du spinelle au sein de la couche passive.

Un ajout ultérieur de catalase peut accentuer l'enrichissement en chrome.

Les couches d'oxydes développées en solution d'acide gluconique sont aussi enrichies en élément chrome. Cet enrichissement en chrome semble ainsi être un effet du pH acide. En revanche, les films d'oxydes formés en solution de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ sont enrichis en élément fer au détriment du chrome. Les deux produits enzymatiques ont un effet inverse sur la composition chimique du film passif. Etant donné l'enrichissement en chrome observé dans la solution « réactifs enzymatiques », il s'ensuit que l'effet de l'acide gluconique est prépondérant sur l'effet de H₂O₂, en termes de composition chimique de la couche d'oxydes.

La présence de H₂O₂ en solution entraîne un épaissement de la couche d'oxydes sur l'acier 304L. Pour l'acier inoxydable 254SMO, la présence de GOD et de glucose en solution provoque un épaissement du film passif, puis l'introduction de catalase fait revenir la couche d'oxydes à peu près à son épaisseur initiale.

Dans le cadre du modèle enzymatique, la solution reproduisant le mieux la composition chimique du film passif (rapport fer/chrome) formé en eau de rivière naturelle est pour l'acier

304L la solution « réactifs enzymatiques » (ainsi que la solution « réactifs enzymatiques » additionnée de catalase, et dans une moindre mesure une solution d'acide gluconique) et pour l'acier 254SMO une solution de peroxyde d'hydrogène.

➤ **Propriétés semi-conductrices du film passif :**

Les propriétés semi-conductrices de la couche passive formée en eau de rivière naturelle sont sensiblement identiques à celles d'une couche formée en eau de rivière artificielle à 0,3 g/L de NaCl. L'ajout de glucose-oxydase et de glucose dans une solution d'eau de rivière artificielle entraîne une augmentation de la densité de porteurs de charge dans la couche de charges d'espace du film passif. Cet effet est dû aux deux produits enzymatiques, le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et l'acide gluconique, qui ont tous les deux tendance à faire augmenter la densité de donneurs N_d.

La solution « réactifs enzymatiques », qui reproduit correctement l'évolution de E_{corr} du milieu « eau de rivière naturelle », ne génère pas les mêmes propriétés de semi-conductivité de la couche d'oxydes.

5.3 Evolution du potentiel de corrosion libre en eau de rivière artificielle

L'évolution de E_{corr} en fonction de la présence des différents composés mis en jeu dans ce modèle enzymatique (GOD, glucose, H₂O₂, acide gluconique) dans une solution d'eau de rivière artificielle va être étudiée.

5.3.1 Evolution du potentiel de corrosion libre en présence des réactifs enzymatiques

5.3.1.1 Evolution de E_{corr} en présence de glucose seul ou de GOD seule

Des échantillons d'acier inoxydable 304L, 316L et 254SMO sont immergés dans une solution d'eau de rivière artificielle à 0,3 g/L de NaCl. Après 24 heures d'immersion, 20 mmol/L de glucose ou 100 u/L de glucose-oxydase sont ajoutées dans la solution. Le potentiel de corrosion libre des échantillons est suivi tout au long de l'expérience. Le tableau 31 résume les valeurs de E_{corr} mesurées.

	Avant ajout de glucose	48 heures après ajout du glucose	Avant ajout de la GOD	48 heures après ajout de la GOD
Valeur moyenne de E_{corr} (mV/ECS)	-170	-150	-165	-135

Tableau 31 : valeurs moyennes du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de rivière artificielle, avec ajouts séparés de 20 mmol/L de glucose ou de 100 u/L de glucose-oxydase

Ni le glucose seul, ni la GOD seule n'ont d'influence significative sur le potentiel de corrosion libre. L'éventuelle adsorption de ces composés ne modifie pas le potentiel d'abandon.

5.3.1.2 Evolution de E_{corr} en présence de glucose et de GOD

L'électrolyte est ici l'eau de rivière artificielle définie au chapitre 2 (0,3 g/L de NaCl). L'effet des réactifs enzymatiques est visualisé par ajout de 20 mmol/L de glucose et 100 u/L de GOD (lorsque aucune autre valeur de concentration n'est indiquée) après 24 heures d'immersion des échantillons métalliques, selon le protocole défini auparavant (chapitre 3). Tous les potentiels sont mesurés par rapport à l'ECS.

a) Influence de la nuance d'acier inoxydable

L'évolution du potentiel de corrosion libre E_{corr} d'échantillons d'acier inoxydable des trois nuances sélectionnées en présence des réactifs enzymatiques est représentée en figure 106.

- **Acier 304L** : la valeur stable atteinte au bout des premières 24 heures, avant ajout des réactifs enzymatiques, est comprise entre -150 et -50 mV/ECS. Lorsque l'enzyme et son substrat sont introduits, le potentiel augmente très rapidement. Ensuite, l'allure peut être assez variable, en raison d'une mauvaise reproductibilité des valeurs de E_{corr} . Généralement, E_{corr} augmente fortement puis chute brutalement après quelques heures.

La valeur finale est toujours comprise entre -20 et +80 mV/ECS. D'éventuels « sauts » de potentiel entre une valeur haute et une valeur basse peuvent être rencontrés (échantillon 3, figure). Les instabilités de E_{corr} témoignent vraisemblablement d'une évolution du film passif.

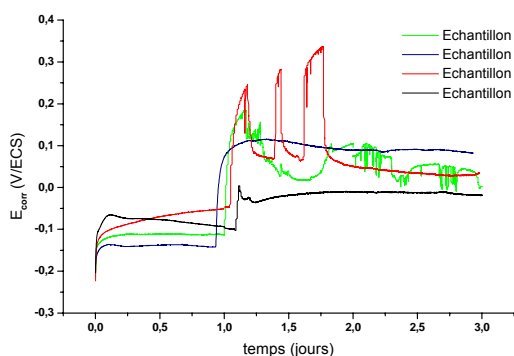
Avant les chutes brutales, lorsque celles-ci surviennent suffisamment tard, E_{corr} prend des valeurs d'environ +350 à +400 mV/ECS, comparables aux valeurs hautes obtenues lors de l'immersion en eau de rivière naturelle. Néanmoins, les modifications du film passif induisant de fortes instabilités de E_{corr} ne sont observées que dans le cadre du modèle enzymatique, et pas en eau de rivière naturelle. C'est la différence principale qui peut être relevée entre ces deux milieux.

- **Acier 316L** : les valeurs atteintes avant introduction de l'enzyme et du glucose sont comprises entre -120 et -50 mV/ECS. Lorsque les réactifs enzymatiques sont ajoutés en solution, E_{corr} augmente brutalement et atteint des valeurs comprises entre +250 et +450 mV/ECS. Puis, dans la plupart des cas, le potentiel devient très instable et peut chuter assez fortement. Les valeurs finales atteintes à 48h sont très dispersées (de +100 mV à +450 mV/ECS).

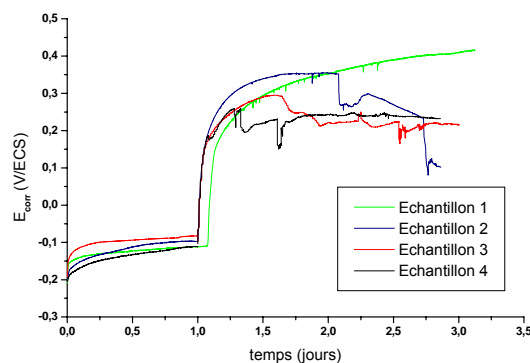
Avant les éventuelles instabilités (ou lorsque le potentiel reste stationnaire), les valeurs de E_{corr} en présence des réactifs enzymatiques sont proches des valeurs trouvées en eau de rivière naturelle. Toutefois, les instabilités notées dans la plupart des expériences d'immersion d'échantillons d'acier 316L en solution « réactifs enzymatiques » ne sont pas représentatives de l'évolution de E_{corr} en eau de rivière naturelle. Comme pour l'acier 304L, le film passif semble subir des modifications dans la solution « réactifs enzymatiques » qui ne sont pas retrouvées en eau de rivière naturelle.

- **Acier 254SMO** : les valeurs à 24 heures sont dans l'intervalle [-100 ; -50 mV/ECS]. Ensuite, lorsque les réactifs enzymatiques sont introduits dans la solution, E_{corr} augmente brutalement pour atteindre des valeurs comprises entre +280 et +440 mV/ECS. Là encore, des instabilités apparaissent généralement, toutefois la valeur moyenne de E_{corr} (généralement proche de 400 mV/ECS) n'est pas affectée par ces instabilités.

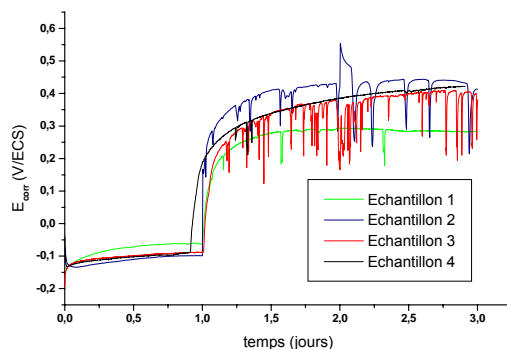
Comme pour les deux autres nuances d'acier inoxydable, le modèle enzymatique donne des valeurs de E_{corr} proches des valeurs en eau de rivière naturelle, mais l'apparition d'instabilités (non observées en milieu naturel) montrent que le film passif subit de fortes modifications en présence de glucose-oxydase. Ces modifications semblent toutefois moins affecter l'acier 254SMO que les deux autres nuances d'acier inoxydable, ce qui est cohérent avec le fait que la couche d'oxydes de cet alliage (contenant plus de chrome et de molybdène) est plus « passivante » ou plus stable, donc plus résistante à un électrolyte agressif.



a- Acier 304L



b- Acier 316L

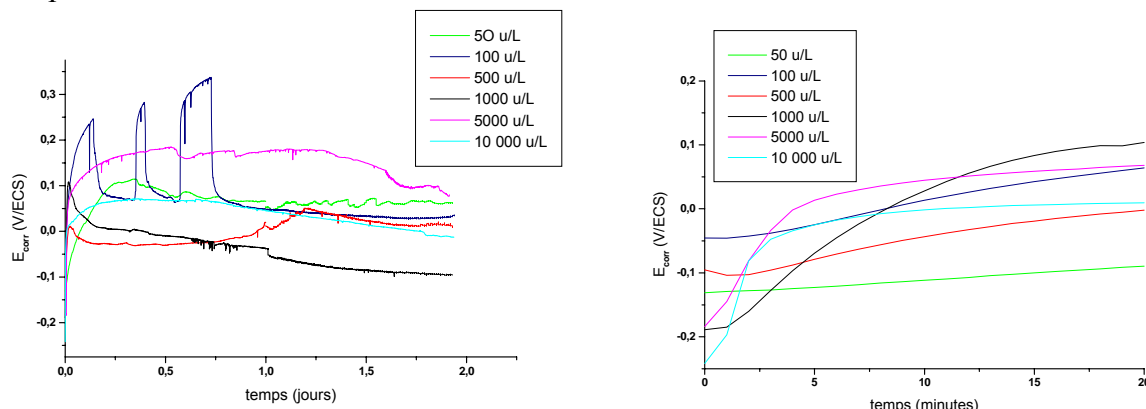


c- Acier 254SMO

Figure 106 : évolution du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de rivière artificielle, avec introduction de 20 mmol/L de glucose et de 100 u/L de GOD à t = 24h environ

b) Influence de l'activité de la glucose-oxydase

Différentes activités de GOD ont été testées, afin de déterminer l'influence de l'activité enzymatique sur le potentiel de corrosion libre. La concentration en glucose est toujours de 20 mmol/L. Les résultats obtenus sur l'acier 304L sont représentés sur la figure 107. Quelle que soit l'activité enzymatique ajoutée dans la solution, le potentiel E_{CORR} augmente fortement dès l'ajout des réactifs enzymatiques puis présente des instabilités. Les valeurs finales sont comprises entre -100 et 80 mV/ECS.



a- Valeurs mesurées sur 2 jours

b- Zoom des 20 premières minutes

Figure 107 : évolution du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier 304L immergés en eau de rivière artificielle, après introduction de 20 mmol/L glucose et de différentes activités de GOD à t = 0

L'activité enzymatique n'a pas d'impact sur l'allure globale de la courbe $E_{\text{CORR}} = f(t)$, en revanche elle a une influence sur les premiers instants de l'évolution de E_{CORR} . Le zoom de la figure 107-b montre que la vitesse d'augmentation dE_{CORR}/dt augmente avec l'activité enzymatique. L'augmentation du potentiel d'abandon se fait plus vite lorsque l'activité enzymatique augmente, mais ni la valeur finale atteinte au bout de 48 heures, ni le temps avant instabilité ne dépendent de l'activité enzymatique.

c) Synthèse

L'introduction de GOD et de glucose dans l'eau de rivière artificielle permet de générer une augmentation de E_{CORR} similaire à l'augmentation constatée en eau de rivière naturelle (tout au moins pendant les premiers temps d'immersion). En présence d'une activité en GOD de 100

u/L et une concentration en glucose de 20 mmol/L en solution, le potentiel d'abandon atteint des valeurs comprises entre 350 et 450 mV/ECS, correspondant aux valeurs les plus élevées mesurées dans l'eau de Seine. Toutefois, la présence des réactifs enzymatiques entraîne des modifications du film passif, induisant une forte diminution du potentiel d'abandon, ce qui différencie le modèle enzymatique du milieu naturel. A l'exclusion de ce phénomène d'instabilités, le modèle enzymatique reproduit bien l'évolution de E_{corr} en eau de rivière. Cette évolution est accélérée, puisque l'augmentation du potentiel de corrosion libre est immédiate lorsque les réactifs enzymatiques sont ajoutés, alors qu'en eau de rivière naturelle un certain temps de latence précède l'augmentation de E_{corr} .

Il n'y a pas d'effet de chacun des deux réactifs enzymatiques seul sur le potentiel de corrosion libre. L'augmentation de E_{corr} n'a lieu que lorsque les deux réactifs sont simultanément présents en solution. Ce sont par conséquent les deux produits de la réaction enzymatique, le peroxyde d'hydrogène et l'acide gluconique, qui modifient la valeur de E_{corr} , comme le paragraphe suivant va le démontrer.

5.3.2 Evolution du potentiel de corrosion libre en présence de peroxyde d'hydrogène

L'électrolyte est ici l'eau de rivière artificielle, à laquelle une certaine teneur en peroxyde d'hydrogène est ajoutée. Le choix de la concentration en H₂O₂ est fondé sur la bibliographie. La concentration en H₂O₂ trouvée au sein de biofilms naturels marins est comprise entre 1 et 10 mg/L (0,03-0,3 mmol/L) dans le travail d'un auteur [3, 68], entre 0,3 et 30 mg/L (0,01-0,9 mmol/L) dans le travail d'un autre [66], et est de 3 mg/L (0,09 mmol/L) dans une dernière publication [255]. La teneur en H₂O₂ dans un biofilm développé en eau de mer naturelle peut même atteindre la mmol/L [66]. En l'absence d'informations suffisantes sur la teneur en H₂O₂ dans les biofilms naturels d'eau de rivière, le choix a été fait d'utiliser une concentration en peroxyde d'hydrogène comprise entre 1 et 10 mmol/L. Cette gamme de concentrations contient globalement les valeurs de [H₂O₂] mesurées dans l'eau de rivière artificielle additionnée de 20 mmol/L de glucose et de différentes activités de GOD (entre 50 et 5000 u/L), comprises entre 0,9 et 2,2 mmol/L en l'absence d'agitation de la solution (cf. figure 76). De plus, il est connu que la valeur maximale de E_{corr} dépend fortement de la concentration en H₂O₂ [1]. Le choix de la concentration en peroxyde d'hydrogène n'est donc pas anodin.

Des travaux précédents ont montré que l'ajout de H₂O₂ dans une solution d'eau de mer artificielle entraîne une augmentation de E_{corr} . Ceci peut s'expliquer à la fois par la réduction de H₂O₂ qui se superpose aux autres processus cathodiques [73] et par l'évolution de la couche d'oxydes [17]. Les caractérisations présentées au paragraphe 5.2 ont montré que la présence de H₂O₂ dans l'eau de rivière artificielle provoque un enrichissement en fer (probablement sous la forme d'un spinelle de type Ni_xFe_(1-x)Cr₂O₄) au détriment du chrome au sein du film passif.

5.3.2.1 Influence de la nuance d'acier inoxydable

L'évolution du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier 304L est suivie en fonction du temps d'immersion dans l'eau de rivière artificielle, avant et après ajout de 1 mmol/L de H₂O₂ (figure 108). Avant introduction du peroxyde, la valeur de E_{corr} est dans l'intervalle [-230 ; -80 mV/ECS]. Lorsque H₂O₂ est additionné dans la solution, E_{corr} augmente brutalement

d'environ 250-330 mV. Ensuite des instabilités apparaissent, E_{corr} chute et termine à des valeurs comprises entre -100 et -40 mV/ECS.

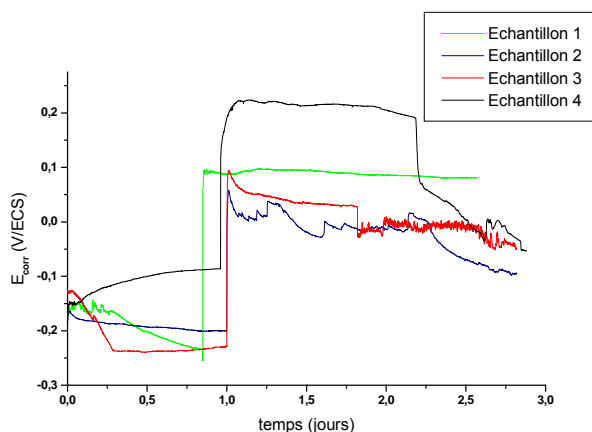


Figure 108 : évolution du potentiel de corrosion libre de 4 échantillons d'acier 304L immergés en eau de rivière artificielle, avec introduction de 1 mmol/L de H₂O₂ à t = 24h environ

Cette expérience montre que la valeur maximale de E_{corr} obtenue en présence de 1 mmol/L de H₂O₂ est élevée (environ +230 mV/ECS) mais qu'elle reste inférieure aux valeurs mesurées en présence des réactifs enzymatiques pouvant atteindre +450 mV/ECS. Le peroxyde d'hydrogène en solution entraîne une rapide augmentation du potentiel de corrosion libre mais ne semble pas être en mesure d'expliquer la totalité de l'augmentation de E_{corr} dans la solution « réactifs enzymatiques ».

La même manipulation a été réalisée sur des échantillons d'acier inoxydable 316L, avec une concentration en H₂O₂ de 2 mmol/L. Le suivi du potentiel d'abandon au cours du temps est représenté sur la figure 109. Le potentiel en eau de rivière artificielle se stabilise entre -80 et -50 mV/ECS. Lorsque les 2 mmol/L de peroxyde d'hydrogène sont introduites, le potentiel augmente brusquement et prend rapidement une valeur stationnaire d'environ +430 mV/ECS.

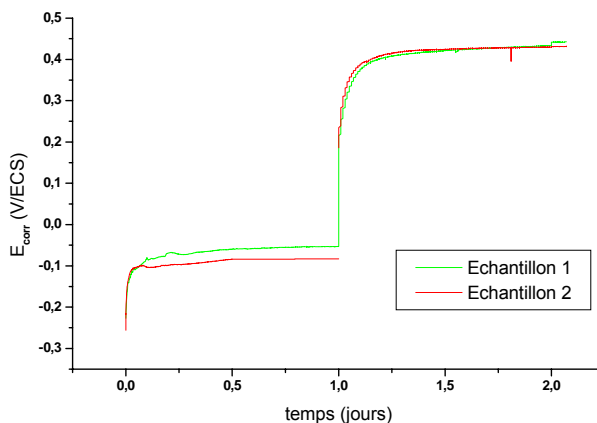


Figure 109 : évolution du potentiel de corrosion libre de 2 échantillons d'acier 316L immergés en eau de rivière artificielle, avec introduction de 2 mmol/L de H₂O₂ à t = 24h environ

Cette expérience permet de montrer qu'à la concentration de 2 mmol/L, le peroxyde d'hydrogène peut expliquer l'augmentation de E_{corr} dans la solution de réactifs enzymatiques. Dans cette manipulation, peu d'instabilités sont visibles le tracé du potentiel d'abandon en fonction du temps. Ceci ne permet pas de conclure à l'absence de modifications fortes du film passif dans ces conditions expérimentales, puisque les valeurs de E_{corr} et le phénomène d'évolution de la couche d'oxydes semblent être peu reproductibles.

L'effet d'un ajout de 10 mmol/L de H₂O₂ sur l'évolution du potentiel d'abandon d'échantillons d'acier 254SMO immergés en eau de rivière artificielle est représenté sur la figure 110. La valeur de E_{corr} après 24 heures d'immersion dans la solution de NaCl est d'environ -70 mV/ECS. L'introduction de H₂O₂ provoque une rapide augmentation de E_{corr} qui atteint une valeur stationnaire proche de +390 mV/ECS. Quelques instabilités apparaissent sur le tracé de E_{corr} en fonction du temps.

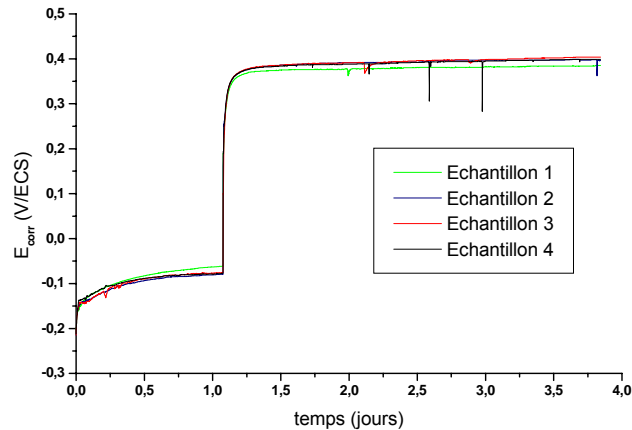


Figure 110 : évolution du potentiel de corrosion libre de 4 échantillons d'acier 254SMO immergés en eau de rivière artificielle, avec introduction de 10 mmol/L de H₂O₂ à t = 24h environ

La valeur finale de E_{corr} est proche de celle obtenue en présence des réactifs enzymatiques (100 u/L de GOD, 20 mmol/L de glucose). L'ajout de 10 mmol/L de peroxyde d'hydrogène dans la solution de NaCl permet de retrouver l'augmentation du potentiel de corrosion libre. Il faut toutefois remarquer que, comme dans la solution « réactifs enzymatiques », des instabilités apparaissent sur le tracé du potentiel d'abandon. La présence du peroxyde d'hydrogène en solution entraîne des modifications du film passif induisant de fortes variations de E_{corr} . Les instabilités relevées dans cette expérience sont néanmoins très peu nombreuses et assez faibles en terme de valeur de potentiel, et la valeur moyenne de E_{corr} reste élevée et proche de +390 mV/ECS. Les instabilités du film d'oxydes paraissent se résorber d'elles-mêmes, dans le cas du 254SMO dont la couche passive est particulièrement « efficace ».

5.3.2.2 Influence de la concentration en peroxyde d'hydrogène

Différentes concentrations en peroxyde d'hydrogène sont testées pour connaître l'effet de ce facteur sur le potentiel de corrosion libre des échantillons d'acier inoxydable. Les résultats sont donnés pour les nuances 304L et 254SMO.

➤ Acier 304L

La figure 111 expose le suivi du potentiel E_{corr} en fonction du temps pour des échantillons d'acier 304L en contact avec des solutions d'eau de rivière artificielle contenant soit 1 mmol/L (une expérience présentée), soit 10 mmol/L de H₂O₂ (deux expériences présentées). La concentration en H₂O₂ semble avoir un effet sur l'augmentation de E_{corr} : plus la concentration en peroxyde d'hydrogène est élevée et plus le ΔE initial est élevé. Les valeurs finales de E_{corr} sont aussi plus élevées dans la solution contenant 10 mmol/L que dans la solution contenant 1 mmol/L. Toutefois, les instabilités de potentiel apparaissent dans les trois cas.

La présentation des résultats de 2 échantillons identiques immergés dans une solution contenant 10 mmol/L de H₂O₂ dans des conditions identiques montre que la reproductibilité

de E_{corr} n'est pas assurée. Dans un cas, le potentiel de corrosion libre subit des irrégularités mais garde sa valeur moyenne élevée (environ 460 mV/ECS). Dans l'autre cas, le potentiel subit des irrégularités à peu près au même moment, mais sa valeur moyenne chute pour terminer aux alentours de 160 mV/ECS. Le phénomène d'évolution du film passif semble être stochastique.

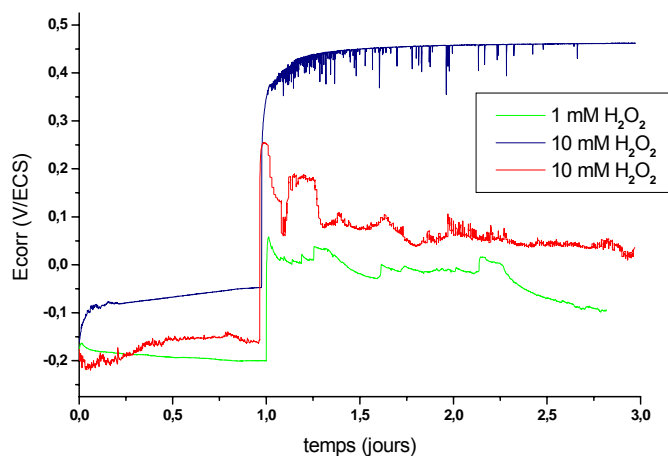


Figure 111 : évolution du potentiel de corrosion libre de 3 échantillons d'acier 304L immergés en eau de rivière artificielle, avec introduction de différentes concentrations de H₂O₂ à t = 24h environ

➤ Acier 254SMO

Le tracé de E_{corr} en fonction du temps pour des échantillons d'acier 254SMO en contact avec une solution d'eau de rivière artificielle contenant soit 1 mmol/L, soit 10 mmol/L de H₂O₂ est visible en figure 112. Comme dans le cas de l'acier 304L, plus la concentration en peroxyde d'hydrogène est élevée et plus l'augmentation de potentiel est importante. Des instabilités de E_{corr} peuvent aussi apparaître, sans qu'il y ait de lien apparent entre ces instabilités et la concentration en peroxyde d'hydrogène.

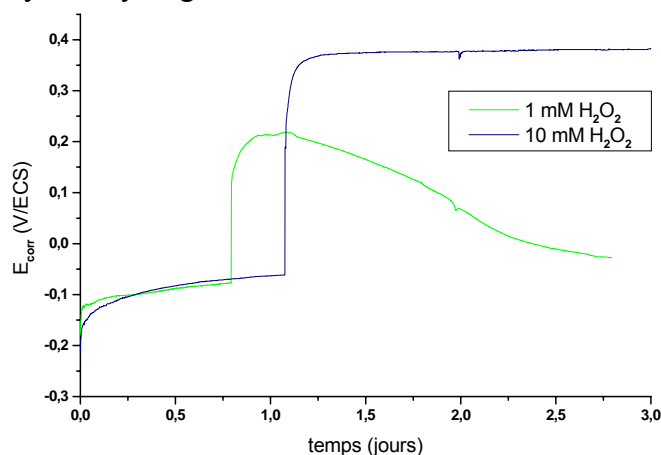


Figure 112 : évolution du potentiel de corrosion libre de 2 échantillons d'acier 254SMO immergés en eau de rivière artificielle, avec introduction de différentes concentrations de H₂O₂ à t = 24h environ

5.3.2.3 Synthèse

L'introduction de peroxyde d'hydrogène dans une solution d'eau de rivière artificielle contenant un échantillon d'acier inoxydable entraîne une augmentation du potentiel de corrosion libre. Une concentration de 2 mmol/L semble suffisante pour obtenir des potentiels proches de +420 mV/ECS, voisins de ceux obtenus dans la solution « réactifs enzymatiques ». Comme

dans cette solution, le film passif semble subir des modifications lorsque H₂O₂ est en solution. Des instabilités de E_{corr} mettent en évidence l'évolution de la couche d'oxydes.

Il a été montré que le peroxyde d'hydrogène peut expliquer tout ou partie de l'augmentation du potentiel d'abandon qui a lieu dans la solution « réactifs enzymatiques ». Le rôle de l'autre produit enzymatique, l'acide gluconique, doit aussi être pris en considération.

5.3.3 Evolution du potentiel de corrosion libre en présence d'acide gluconique

L'électrolyte est ici l'eau de rivière artificielle, à laquelle une certaine concentration d'acide gluconique est ajoutée. Les résultats sont présentés pour les nuances 304L et 254SMO.

5.3.3.1 Influence de la nuance d'acier inoxydable

La figure 113 représente le suivi du potentiel de corrosion libre de 2 échantillons d'acier inoxydable 304L. L'acide gluconique est introduit en solution après 24 heures d'immersion à une concentration de 10 mmol/L. Dès l'ajout de l'acide, le potentiel de corrosion libre augmente rapidement d'environ 130 mV. Ensuite, deux cas de figure apparaissent : soit le potentiel garde une valeur élevée et atteint une valeur stationnaire d'environ +150 mV/ECS, malgré des instabilités (échantillon 1), soit le potentiel diminue assez rapidement pour atteindre une valeur d'environ -70 mV/ECS (échantillon 2). La mauvaise reproductibilité des mesures de E_{corr} est retrouvée avec l'acide gluconique.

L'augmentation instantanée de E_{corr} après ajout de l'acide peut être expliquée par l'évolution du pH de la solution. Le pH avant ajout d'acide gluconique est d'environ 6. Lorsque l'acide est introduit, le pH diminue assez rapidement jusqu'à une valeur d'environ 3,8 (tableau 32). La différence de pH peut engendrer un saut de potentiel de 130 mV ($\approx 2,2 \times 60$ mV) selon l'équation de Nernst. L'augmentation de E_{corr} dans les premiers temps après l'ajout de l'acide gluconique est due uniquement à la baisse du pH.

L'augmentation du potentiel d'abandon d'environ 130 mV (due à la baisse de pH) est suivie pour l'échantillon 2 d'une diminution qui rapproche la valeur de E_{corr} de sa valeur initiale. Cette diminution de E_{corr} subséquente à l'effet pH a déjà été détectée dans d'autres travaux [73]. Elle se produit à des valeurs de potentiel trop élevées pour correspondre à une réduction de la couche d'oxydes. De plus, l'acide gluconique est une espèce oxydante (au sein du couple redox D-glucose/acide gluconique) qui ne peut réduire les oxydes du film passif. L'acide gluconique semble toutefois être en mesure de modifier la couche d'oxydes (il a été montré par XPS que sa présence dans l'eau de rivière artificielle entraîne un enrichissement en chrome, sous forme de chromine Cr₂O₃ vraisemblablement, au sein du film passif), ce qui se ressent au niveau des valeurs du potentiel d'abandon.

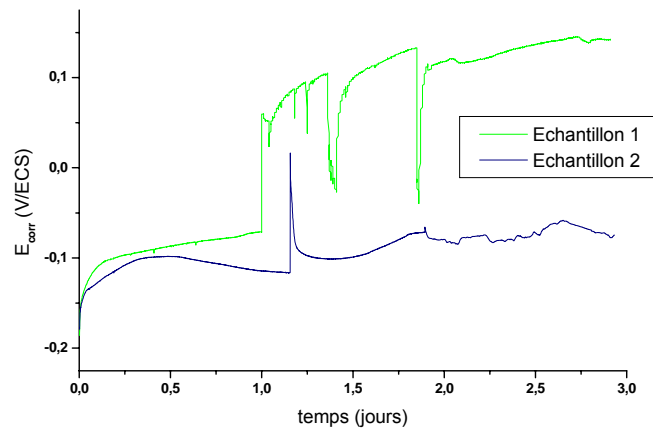


Figure 113 : évolution du potentiel de corrosion libre de 2 échantillons d'acier 304L immergés en eau de rivière artificielle, avec introduction de 10 mmol/L d'acide gluconique à t = 24h environ

L'effet d'un ajout de 1 mmol/L d'acide gluconique sur le potentiel de corrosion libre d'un échantillon d'acier 254SMO et d'un échantillon d'acier 304L est représenté sur la figure 114. Dans un premier temps, le potentiel d'abandon des deux échantillons augmente fortement d'environ 90 (304L) à 130 mV (254SMO), ce qui est compatible avec les valeurs de pH mesurées en solution (respectivement 4,25 et 4,1).

Après ce pur effet pH, le potentiel d'abandon diminue, ce qui traduit une évolution de la couche passive des échantillons au contact de l'acide gluconique. Le potentiel a ensuite tendance à légèrement réaugmenter, en particulier sur l'échantillon d'acier 254SMO. La différence de comportement entre les deux nuances d'acier inoxydable ne paraît pas significative, d'autant plus que cette réaugmentation a été trouvée plus intense lors d'autres expériences portant sur l'acier 304L (cf. paragraphe suivant). La valeur finale de E_{corr} est plus élevée pour l'échantillon d'acier 254SMO que pour l'échantillon d'acier 304L.

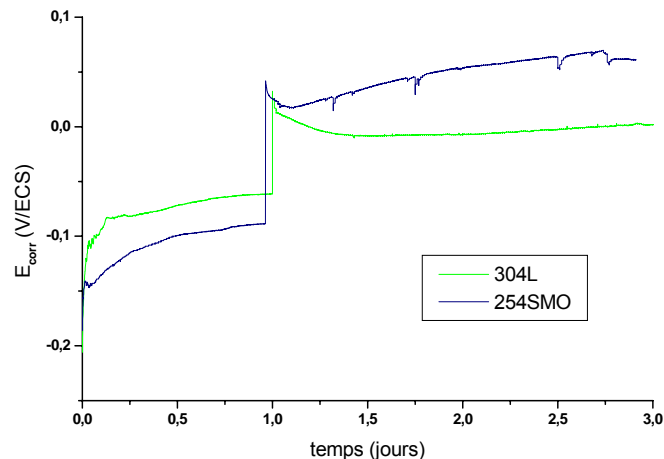


Figure 114 : évolution du potentiel de corrosion libre d'un échantillon d'acier 304L et d'un échantillon d'acier 254SMO immergés en eau de rivière artificielle, avec introduction de 1 mmol/L d'acide gluconique à t = 24h environ

L'effet de l'acide gluconique sur le potentiel de corrosion libre des aciers inoxydables se décompose en deux phénomènes ayant des temps caractéristiques différents. Lorsque l'acide est mis en solution, le pH diminue très rapidement, ce qui provoque une augmentation rapide de E_{corr} de 60 mV X ΔpH dans les premiers instants. Par ailleurs, la présence de l'acide gluconique modifie la couche d'oxydes sur une échelle de temps plus longue, et cette évolution du film passif se traduit par une diminution de E_{corr} qui n'est visible qu'une fois l'effet pH terminé.

5.3.3.2 Influence de la concentration d'acide gluconique

Quatre concentrations différentes (1, 5, 10 et 50 mmol/L) ont été utilisées pour évaluer l'effet de la concentration en acide gluconique sur l'évolution du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier 304L. Le pH initial de l'eau de rivière artificielle est dans cette expérience d'environ 5,7. Les résultats sont présentés sur la figure 115. La hausse de potentiel dans les premiers instants après ajout de l'acide gluconique semble être directement liée à la valeur de concentration en acide introduite dans la solution. Le tableau 32 résume les valeurs expérimentales des variations de E_{corr} et de pH en fonction de la concentration [C₆H₁₂O₇] en acide gluconique.

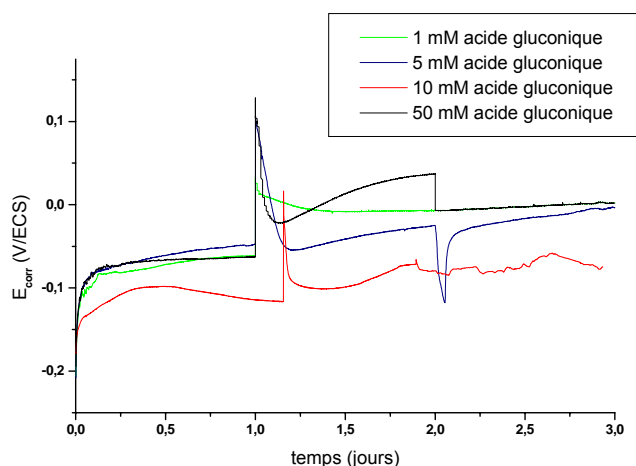


Figure 115 : évolution du potentiel de corrosion libre de 4 échantillons d'acier 304L immergés en eau de rivière artificielle, avec introduction de différentes concentrations d'acide gluconique à $t = 24\text{h}$ environ

[C ₆ H ₁₂ O ₇]	1 mmol/L	5 mmol/L	10 mmol/L	50 mmol/L
pH mesuré	4,24	4	3,8	3,43
ΔpH	1,46	1,7	1,9	2,27
ΔE_{corr} (premiers instants)	90 mV	130 mV	145 mV	190 mV
$\Delta E_{\text{corr}} / \Delta\text{pH}$	61,64	76,47	76,32	83,7

Tableau 32 : valeurs de pH et augmentation initiale de E_{corr} pour différentes concentrations d'acide gluconique introduites dans l'eau de rivière artificielle

Il apparaît que la valeur du saut de E_{corr} est bien égale à environ $60 \text{ mV} \times \Delta\text{pH}$.

L'augmentation de E_{corr} dans les premiers instants après l'ajout d'acide gluconique est une conséquence de la baisse du pH de la solution.

Pour toutes les concentrations en acide gluconique testées, elle est automatiquement suivie d'une diminution traduisant une évolution de la couche d'oxydes sous l'effet de l'acide.

5.3.3.3 Synthèse

L'ajout d'acide gluconique dans l'eau de rivière artificielle entraîne une modification du potentiel de corrosion libre des échantillons d'acier inoxydable. Juste après l'introduction de l'acide organique, une augmentation très rapide de E_{corr} est constatée. Elle est liée à la baisse de pH et égale à $60 \text{ mV} \times \Delta\text{pH}$. Ensuite, le potentiel de corrosion libre est affecté sur une durée plus ou moins longue par des modifications du film passif dues à l'action de l'acide gluconique.

Ces résultats permettent de montrer que :

- l'acidité de la solution contribue à l'augmentation de E_{corr} ;

- l'évolution de la couche d'oxydes peut jouer un rôle non négligeable dans les variations du potentiel de corrosion libre dans la solution « réactifs enzymatiques ».

5.3.4 Evolution du potentiel de corrosion libre en présence des produits enzymatiques

L'effet de l'ajout successif des produits enzymatiques (2 mmol/L de H₂O₂ et 1 mmol/L d'acide gluconique, dans les deux ordres possibles) sur l'évolution du potentiel d'abandon d'échantillons d'acier 316L est montré sur la figure 116.

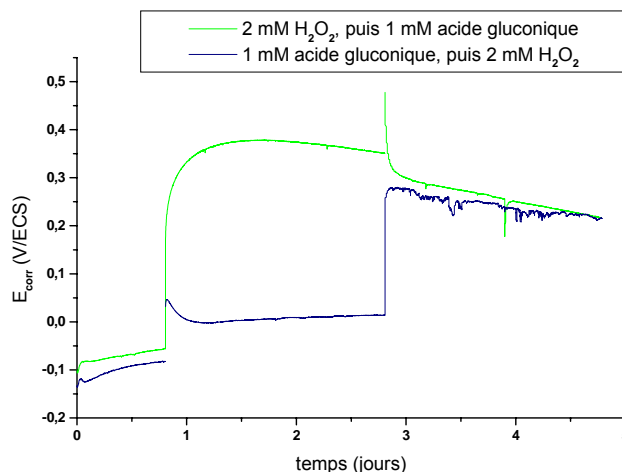


Figure 116 : évolution du potentiel de corrosion libre de 2 échantillons d'acier 316L immergés en eau de rivière artificielle, avec introduction successive de 2 mM de H₂O₂ et de 1 mM d'acide gluconique, dans les deux ordres possibles

Lorsque le peroxyde d'hydrogène est introduit en premier dans la solution, le potentiel libre augmente rapidement et fortement d'environ 430 mV jusqu'à atteindre +370 mV/ECS. L'effet « oxydant » de H₂O₂, déjà explicité auparavant, est retrouvé. Un ajout ultérieur d'acide gluconique fait tout d'abord augmenter instantanément E_{corr} (d'environ 125 mV), en raison de la baisse de pH provoquée par la dissociation de l'acide, puis la tendance s'inverse et E_{corr} décroît régulièrement, phénomène attribué à des modifications apportées au film d'oxydes par l'acide gluconique.

Lorsque l'acide gluconique est introduit en premier dans la solution, le potentiel d'abandon augmente instantanément d'environ 125-130 mV, en raison de l'abaissement du pH de 2 unités. La présence d'acide gluconique dans le milieu entraîne des modifications du film passif impliquant une diminution de E_{corr} qui suit immédiatement la forte hausse initiale. Cette diminution de E_{corr} paraît plus faible que dans le cas où l'ajout d'acide gluconique se fait après l'ajout de peroxyde d'hydrogène : dans ce dernier cas, l'oxydation préalable de l'échantillon par H₂O₂ a tendance à limiter l'action de l'acide gluconique sur la couche d'oxydes. 48 heures après l'ajout d'acide gluconique, le peroxyde d'hydrogène est introduit dans la solution, causant une augmentation rapide de E_{corr} d'environ 250 mV. Cette augmentation est plus faible que dans le cas où le peroxyde d'hydrogène est introduit en premier. Les modifications provoquées au sein de la couche passive par l'acide gluconique semblent défavoriser l'oxydation ultérieure réalisée par H₂O₂.

Dans les deux cas de figure, la valeur finale de E_{corr} est la même. Les deux courbes deviennent quasiment superposées quelques heures après l'ajout du deuxième produit enzymatique.

5.3.5 Synthèse

La présence de glucose-oxydase et de glucose en solution est capable de modéliser convenablement l'augmentation du potentiel de corrosion libre des aciers inoxydables. Cette enzyme permet de reproduire en laboratoire l'effet d'un biofilm d'eau de rivière naturelle sur l'évolution du potentiel d'abandon : lorsque la solution d'eau de rivière artificielle contient 100 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose, le potentiel augmente jusqu'à des valeurs comprises entre +350 et +450 mV, égales aux valeurs les plus élevées mesurées lors des immersions en eau de rivière. Ces quantités de réactifs enzymatiques simulent ainsi convenablement l'augmentation du risque de corrosion localisée induite par le biofilm.

L'effet des réactifs enzymatiques sur le potentiel d'abandon est uniquement dû à l'effet des produits enzymatiques, le peroxyde d'hydrogène et l'acide gluconique. Le caractère oxydant de H₂O₂ et un effet de l'acide gluconique sur le film passif ont été mis en évidence en eau de rivière artificielle, de manière assez similaire à des travaux antérieurs portant sur une eau de mer artificielle [73].

L'acide gluconique engendre rapidement une augmentation de E_{corr} en raison de son acidité, mais il est en même temps capable de modifier la couche d'oxydes et de provoquer conséquemment l'annulation (ou l'atténuation) de cette augmentation. Le bilan global de l'introduction d'acide gluconique sur le potentiel de corrosion libre en eau de rivière artificielle est une faible augmentation.

En revanche, l'introduction de peroxyde d'hydrogène à une concentration de l'ordre de la mmol/L dans l'eau de rivière artificielle fait augmenter le potentiel de corrosion libre jusqu'à environ +420 mV/ECS (pour une concentration de 2 mmol/L). Autrement dit, la présence du peroxyde d'hydrogène en solution permet de retrouver la même évolution de E_{corr} que dans la solution « réactifs enzymatiques ». Il paraît important de souligner que dans le modèle enzymatique, l'augmentation du potentiel d'abandon est très rapide dès les réactifs enzymatiques ajoutés en solution, alors que la cinétique de production de H₂O₂ est relativement lente (§5.1). Une très faible quantité de H₂O₂ (en réalité inférieure à 1 mmol/L) semble suffire à faire augmenter considérablement le potentiel de corrosion libre.

Deux différences distinguent le comportement des aciers inoxydables en eau de rivière naturelle de leur comportement dans le modèle enzymatique.

En eau de rivière naturelle, l'augmentation du potentiel de corrosion libre n'est pas immédiate, et le temps de latence qui la précède est de plusieurs jours (jusqu'à 25 jours en janvier sur le site de Choisy-le-Roi). En revanche, lorsque les réactifs enzymatiques sont ajoutés dans l'eau de rivière artificielle, l'augmentation de E_{corr} est instantanée. L'évolution du potentiel d'abandon est fortement accélérée dans le modèle enzymatique.

L'autre différence est qu'en eau de rivière naturelle, le potentiel de corrosion libre ne présente pas (ou peu) d'instabilités, alors que l'ajout des réactifs ou des produits enzymatiques dans l'eau de rivière artificielle génère de fortes instabilités de E_{corr} . Les différents composés mis en jeu dans le modèle enzymatique modifient fortement le film passif, ce qui génère ces variations de potentiel.

5.3.6 Compléments : nature des instabilités de E_{corr} et rôle de la couche passive

Dans ce paragraphe, quelques considérations et résultats expérimentaux vont être donnés pour ébaucher une première proposition d'explication des variations de E_{corr} .

Il a été montré dans la bibliographie [49] et dans ce travail (chapitre 4) que le phénomène d'augmentation du potentiel de corrosion libre généré par le biofilm ne concerne pas que les aciers inoxydables, mais aussi de nombreux autres matériaux : platine, cupronickels...

Le fait que le potentiel d'abandon du platine augmente au cours du temps sous l'action du biofilm va à l'encontre du rôle possible joué par la couche d'oxydes dans l'augmentation de E_{corr} sur les aciers inoxydables. En effet, le platine ne possède pas de couche d'oxydes, le métal est à nu, pourtant son potentiel d'abandon augmente en milieu naturel non stérile. Ce résultat semble indiquer que l'évolution de la couche d'oxydes n'est pas le facteur principal de l'augmentation du potentiel de corrosion libre, mais que c'est plutôt la modification des processus cathodiques et/ou anodiques qui explique l'évolution de E_{corr} .

Cette étude a été menée dans un milieu différent du milieu « eau de rivière artificielle » utilisé auparavant. En effet, les instabilités de E_{corr} relevées dans le modèle enzymatique pourraient correspondre au développement de piqûres de corrosion à la surface des échantillons. Cette forme de corrosion localisée est due aux ions chlorures présents dans la solution. En supprimant les ions chlorures, l'éventuelle apparition de corrosion par piqûres est inhibée. Si les instabilités du potentiel d'abandon sont retrouvées en milieu Na₂SO₄ (l'ion sulfate SO₄²⁻ étant de plus un inhibiteur de corrosion), il pourra être conclu que ces instabilités ne correspondent pas à la formation de piqûres. Le cation Na⁺ a été conservé à teneur identique dans le nouvel électrolyte, et l'anion choisi pour remplacer Cl⁻ est SO₄²⁻. L'électrolyte utilisé dans cette partie de l'étude est une solution à 0,6 g/L de Na₂SO₄.

5.3.6.1 Evolution du potentiel de corrosion libre des aciers inoxydables en présence des réactifs enzymatiques en milieu aqueux non chloruré

Dans cette expérience, le potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier inoxydable est mesuré dans la solution de Na₂SO₄ avant et après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose. Les résultats obtenus sur la nuance 304L peuvent être lus sur la figure 117, l'origine de l'axe temporel étant l'instant où les réactifs enzymatiques sont introduits dans la solution. Comme dans l'eau de rivière artificielle, le potentiel de corrosion libre avant l'ajout de la GOD et du glucose est compris entre -150 et -100 mV/ECS. L'ajout des réactifs enzymatiques induit une forte et rapide augmentation de E_{corr} , qui atteint au bout de 48 heures une valeur comprise entre +10 et +90 mV/ECS. L'augmentation du potentiel d'abandon des aciers inoxydables en présence de GOD et de glucose ne dépend pas du milieu aqueux (et en particulier ne dépend pas de la présence de chlorures dans l'électrolyte).

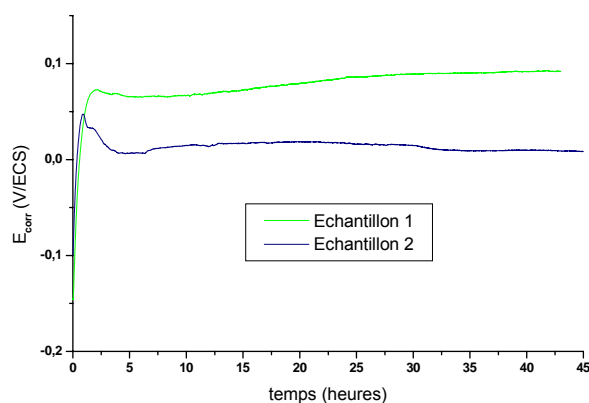


Figure 117 : évolution du potentiel de corrosion libre de 2 échantillons d'acier 304L immergés dans 0,6 g/L Na₂SO₄, après introduction de 20 mmol/L glucose et de 100 u/L GOD

D'autres expériences identiques ont montré que le potentiel de corrosion libre final peut atteindre des valeurs aussi élevées que +250 mV/ECS, plus en adéquation avec les valeurs attendues. Il semble donc que le potentiel E_{corr} des échantillons 1 et 2 de la figure 117 soit nettement inférieur aux valeurs attendues. Moins de deux heures après l'ajout de l'enzyme et du glucose, le potentiel d'abandon de l'échantillon 2 subit une cassure, son augmentation cesse, puis E_{corr} diminue assez légèrement. Cette courbe présente des ressemblances avec celles obtenues en eau de rivière artificielle.

Comme en milieu chloruré, le phénomène d'augmentation de E_{corr} semble pouvoir être interrompu par l'apparition d'instabilités. Le milieu étant dépourvu d'ions Cl⁻, ces instabilités ne peuvent provenir d'une corrosion par piqûres.

L'augmentation du potentiel de corrosion libre en milieu Na₂SO₄ contenant 100 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose est retrouvée sur les aciers 316L et 254SMO. Les valeurs du potentiel d'abandon avant et après ajout des réactifs enzymatiques sont indiquées dans le tableau 33. Pour chaque nuance, une seule valeur de E_{corr} (reproductible) est donnée avant l'ajout des réactifs enzymatique. Les valeurs de E_{corr} après introduction de la GOD et du glucose sont données pour deux échantillons différents.

	316L avant	316L après	254SMO avant	254SMO après
E_{corr} (mV/ECS)	-102	135 ; 375	- 62	297 ; 342

Tableau 33 : valeurs du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'aciers inoxydables 316L et 254SMO avant et après introduction de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose dans une solution à 0,6 g/L de Na₂SO₄

La dispersion des valeurs de E_{corr} après l'introduction des réactifs enzymatiques montre que les instabilités du potentiel d'abandon, trouvées sur la nuance 304L en milieu Na₂SO₄, sont retrouvées sur l'acier 316L. Elles semblent toutefois moins fréquentes. Ces instabilités de E_{corr} ne sont pas détectées sur l'acier 254SMO.

5.3.6.2 Evolution du potentiel de corrosion libre du platine en présence des réactifs enzymatiques

L'évolution de E_{corr} en fonction du temps pour des échantillons de platine immergés dans une solution à 0,6 g/L de Na₂SO₄, à laquelle sont ajoutées 100 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose, est tracée sur la figure 118. L'échelle de temps démarre au moment de l'ajout des réactifs enzymatiques. A $t = 0$, avant introduction de l'enzyme et de son substrat, E_{corr} est compris entre +115 et +230 mV/ECS. Une augmentation du potentiel d'abandon est notée dès que la GOD et le glucose sont ajoutés dans la solution. La valeur finale de E_{corr} est d'environ 320 mV/ECS.

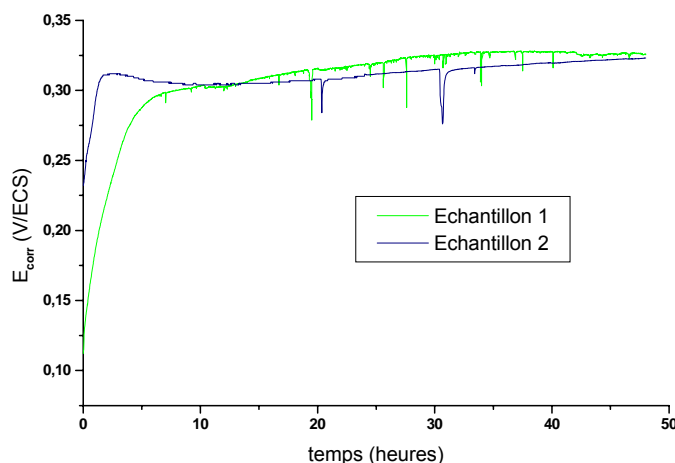


Figure 118 : évolution du potentiel de corrosion libre de 2 échantillons de platine immergés dans 0,6 g/L Na₂SO₄, après introduction de 20 mmol/L glucose et de 100 u/L GOD

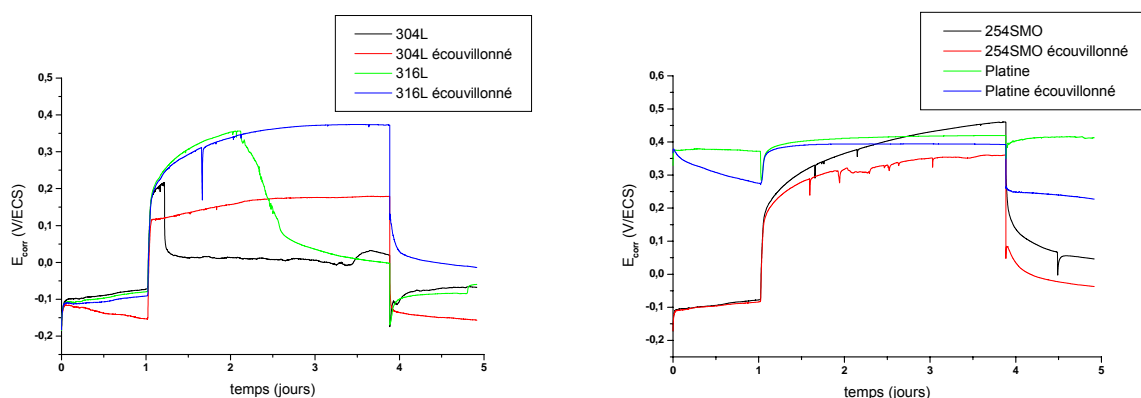
Cette expérience permet de montrer que l'ajout de GOD et de glucose dans la solution de Na₂SO₄ entraîne une augmentation conséquente du potentiel de corrosion libre du platine. En l'absence d'une couche d'oxydes à la surface du matériau, cette augmentation ne peut être attribuée qu'à des variations des réactions de réduction cathodiques et/ou des processus anodiques. L'attribution de l'augmentation de E_{corr} à une modification des processus cathodiques est d'ailleurs de loin l'explication la plus reconnue par la communauté scientifique (§1.1.2).

Par ailleurs, la figure 118 montre que le potentiel de corrosion libre du platine subit aussi de nombreuses instabilités au cours du temps. Etant donné l'électrolyte (absence de Cl⁻) et le matériau (platine) employés, ces instabilités ne peuvent être dues à l'apparition de piqûres à la surface du métal. Les instabilités de E_{corr} relevées dans la solution « réactifs enzymatiques » ne sont en aucun cas dues à des piqûres de corrosion. Elles ne peuvent pas non plus provenir de phénomènes interfaciaux liés à l'adsorption de l'enzyme sur la surface des échantillons, puisqu'elles sont aussi détectées lorsque du peroxyde d'hydrogène ou de l'acide gluconique ont été ajoutés dans l'eau de rivière artificielle. Ces deux composés semblent capables de modifier la surface du matériau (la couche d'oxydes dans le cas des aciers inoxydables, les premières couches atomiques du métal dans le cas du platine) et d'induire ainsi des instabilités de E_{corr}.

5.3.6.3 Rôle de la couche d'oxydes

Dans cette expérience, deux échantillons de chaque nuance d'acier inoxydable (304L, 316L, 254SMO) et deux échantillons de platine sont immergés pendant 24 heures en eau de rivière artificielle, puis les réactifs enzymatiques sont ajoutés (100 u/L de GOD, 20 mmol/L de glucose) et le potentiel mesuré pendant 48 heures. 48 heures après l'introduction des réactifs enzymatiques, les échantillons sont sortis de la solution et immédiatement réimmergés dans une solution contenant uniquement 0,3 g/L de NaCl. Le potentiel est alors remesuré. La figure 119 présente l'évolution de E_{corr} au cours du temps. Les échantillons dits « écouvillonnés » ont subi un frottement de la surface à l'aide d'un écouvillon stérile entre le prélèvement dans la solution « réactifs enzymatiques » et la réimmersion dans l'eau de rivière artificielle, afin de s'assurer que les molécules de GOD, de D-glucose, d'acide gluconique et de H₂O₂ éventuellement adsorbées soient éliminées de la surface.

L'idée directrice de cette manipulation est d'évaluer la contribution de la modification de la couche d'oxydes dans le phénomène d'augmentation du potentiel de corrosion libre. Le temps caractéristique d'évolution de la couche d'oxydes en présence d'un nouvel environnement extérieur est assez long, son ordre de grandeur est supérieur à la minute. Par conséquent, si le potentiel E_{corr} diminue immédiatement après l'immersion finale en milieu chloruré sans enzyme, il peut être conclu que l'augmentation de E_{corr} est principalement due à la modification des processus cathodiques en présence de la GOD et de son substrat. En revanche, si le potentiel d'abandon conserve une valeur élevée, alors le rôle de la couche d'oxydes est nécessairement non négligeable.



a- Aciers inoxydables 304L et 316L

b- Acier inoxydable 254SMO et platine

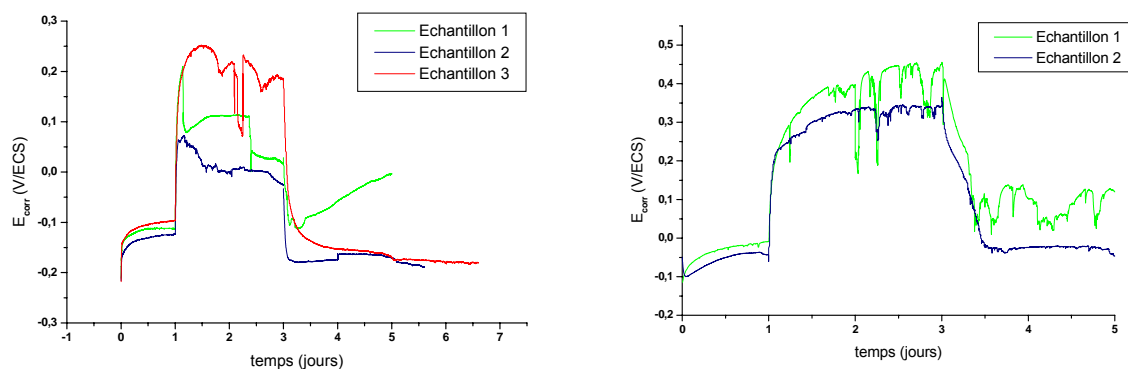
Figure 119 : évolution du potentiel de corrosion libre d'échantillons métalliques immergés dans la solution « réactifs enzymatiques » depuis 48h, prélevés et réimmergés en eau de rivière artificielle ne contenant aucun réactif enzymatique

Les résultats obtenus montrent que le potentiel de corrosion libre chute brutalement (et revient à peu près à sa valeur initiale) lorsque les échantillons sont réintroduits dans le milieu NaCl privé de réactifs enzymatiques. La modification de la couche d'oxydes au contact de la solution « réactifs enzymatiques » pendant 48 heures ne permet pas à elle seule de conserver une valeur élevée de E_{corr} . La présence effective des deux réactifs enzymatiques en solution est nécessaire pour que le potentiel d'abandon soit stable à des valeurs élevées.

Pour conclure, l'augmentation de E_{corr} semble principalement due à la modification des processus cathodiques (et/ou anodiques) en présence de glucose-oxydase et de glucose. La couche d'oxydes évolue au contact de la solution « réactifs enzymatiques », comme cela a été démontré au paragraphe 5.2, mais la contribution de cette évolution au phénomène d'augmentation du potentiel de corrosion libre est négligeable.

5.3.6.4 Rôle de H₂O₂

Dans cette expérience, les réactifs enzymatiques (100 u/L de GOD, 20 mmol/L de glucose) sont introduits dans l'eau de rivière artificielle après 1 jour d'immersion, puis 3370 u/L de catalase sont ajoutées après 3 jours. L'évolution du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier 304L et d'acier 254SMO est représentée sur la figure 120.



a- Acier 304L

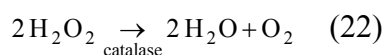
b- Acier 254SMO

Figure 120 : évolution du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de rivière artificielle, avec introduction de 20 mmol/L glucose et de 100 u/L GOD à t = 1 jour, puis de 3370 u/L de catalase à t = 3 jours

Pour les échantillons d'acier 304L, avant l'introduction de la GOD et du glucose, le potentiel d'abandon est compris entre -125 et -95 mV/ECS. Après l'ajout des réactifs enzymatiques, l'évolution de E_{corr} est fidèle aux résultats déjà exposés précédemment (augmentation puis instabilités). Enfin, lorsque, après trois jours d'expérience, la catalase est mise en solution, le potentiel E_{corr} diminue fortement et rapidement, pour terminer généralement aux alentours de -180 mV/ECS (échantillons 2 et 3). 48 heures après l'ajout de catalase, le potentiel d'abandon des échantillons est revenu à des valeurs faibles proches des valeurs mesurées avant ajout de la GOD.

Pour les échantillons d'acier 254SMO, avant l'introduction des réactifs enzymatiques, le potentiel d'abandon est compris entre -40 et -10 mV/ECS. Après l'ajout de la GOD et du glucose, le potentiel de E_{corr} augmente rapidement et fortement jusqu'à atteindre des valeurs comprises entre +350 et +450 mV/ECS. L'évolution du potentiel d'abandon présente des instabilités. Enfin, après ajout de la catalase, le potentiel E_{corr} diminue fortement : 5 jours après le début de l'expérience, E_{corr} est compris entre -30 et +120 mV/ECS. 48 heures après l'introduction de catalase, le potentiel d'abandon des échantillons est revenu à des valeurs faibles assez proches des valeurs initiales.

Cette expérience montre que l'ajout de catalase annihile l'augmentation de E_{corr} induite par la présence de GOD et de glucose en solution. Il a été montré auparavant que cette augmentation en solution « réactifs enzymatiques » est en réalité due aux produits enzymatiques (et en particulier à H₂O₂) dont la formation est catalysée par la GOD. Ainsi, ce sont l'acide gluconique et surtout le peroxyde d'hydrogène qui sont à l'origine de l'augmentation de E_{corr} dans le modèle enzymatique. Cette nouvelle expérience confirme ce résultat. En effet, la catalase est une enzyme catalysant la dégradation de H₂O₂ selon la réaction :



L'introduction de catalase abaisse fortement et rapidement la concentration en H₂O₂ dans la solution (sans modification notable du pH) et annihile l'augmentation de E_{corr} provoquée par la glucose-oxydase. Par conséquent, l'effet de la GOD sur le potentiel de corrosion libre est très majoritairement l'effet du peroxyde d'hydrogène.

5.3.7 Synthèse générale : évolution de E_{corr}

L'introduction de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose dans l'eau de rivière artificielle reproduit assez bien l'augmentation de E_{corr} observée en eau de rivière naturelle. De même, l'introduction de 1 à 2 mmol/L de H₂O₂ provoque une augmentation de E_{corr} similaire à l'augmentation trouvée dans l'eau de la Seine. L'ajout des réactifs enzymatiques ou du peroxyde d'hydrogène permet de modéliser correctement en laboratoire l'évolution du potentiel de corrosion libre constatée en eau de rivière naturelle, tout en accélérant le phénomène (pas de temps de latence).

Cependant, une différence notable apparaît entre le milieu naturel et le modèle enzymatique : dans ce dernier, des instabilités du potentiel d'abandon révèlent une modification forte de la surface du matériau, qui n'est pas retrouvée dans l'eau de Seine. Ces instabilités sont trouvées à la fois sur les aciers inoxydables et sur le platine, et ne dépendent donc pas du matériau. Ces instabilités sont trouvées à la fois en milieu chloruré et en milieu dépourvu d'ions chlorures, et ne dépendent donc pas de la présence des ions Cl⁻ en solution. Ces instabilités ne peuvent être causées par la formation de piqûres. Dans le cas des aciers inoxydables, elles semblent correspondre à des modifications de la couche d'oxydes sous l'action des produits enzymatiques.

L'augmentation du potentiel de corrosion libre dans le modèle enzymatique est due à la fois à **l'acide gluconique**, qui abaisse le pH (contribution minoritaire), et au caractère oxydant de **H₂O₂** (contribution majoritaire). Le peroxyde d'hydrogène contribue à l'augmentation de E_{corr} par deux processus différents :

- La présence de H₂O₂ en solution modifie les réactions cathodiques. La réduction de O₂ peut être affectée par la présence du peroxyde d'hydrogène et par la réaction enzymatique, et la réaction de réduction de H₂O₂ se rajoute dans les réactions cathodiques. Il peut en résulter une modification du courant cathodique pouvant être à l'origine de l'augmentation de E_{corr}. L'influence des réactifs et des produits enzymatiques sur le courant cathodique va être étudiée dans la partie suivante.
- La présence de H₂O₂ en solution modifie la couche d'oxydes recouvrant les aciers inoxydables. Il semblerait toutefois que cet effet n'ait qu'une influence négligeable sur l'évolution de E_{corr}.

Ainsi, l'introduction de GOD et de glucose (ou de H₂O₂ et d'acide gluconique) dans la solution aurait pour conséquence première et quasi-immédiate de faire augmenter le courant cathodique, engendrant alors une augmentation du potentiel de corrosion libre. Le peroxyde d'hydrogène et l'acide gluconique de la solution modifient progressivement la couche d'oxydes, mais cette évolution de la couche d'oxydes paraît indépendante de l'augmentation du potentiel d'abandon, ce qui serait cohérent avec l'augmentation de E_{corr} constatée sur des matériaux non passivables tels que le platine.

L'augmentation du courant cathodique expliquerait l'augmentation du potentiel de corrosion libre des aciers inoxydables dans le modèle enzymatique. Pour confirmer cette hypothèse, des polarisations cathodiques doivent être effectuées.

5.4 Réactions cathodiques en eau de rivière artificielle

Que le peroxyde d'hydrogène soit ajouté directement en solution ou qu'il soit formé par la réaction enzymatique, il semble être en mesure de générer une forte augmentation du potentiel de corrosion libre. Ceci serait principalement dû à un effet du peroxyde sur la valeur du courant cathodique. En effet, H₂O₂ est un oxydant puissant au sein du couple redox H₂O₂/H₂O, dont la demi-équation électronique s'écrit :



Cet oxydant peut être réduit au niveau des sites cathodiques et contribuer ainsi à faire augmenter le courant cathodique. De plus, la présence de cet oxydant en solution peut entraîner des modifications de la couche d'oxydes [17] et ainsi affecter la valeur de E_{corr} .

Il a été démontré dans une eau de mer artificielle que l'introduction de glucose-oxydase et de glucose (ou de peroxyde d'hydrogène) entraîne une augmentation du courant cathodique sur des échantillons d'acier inoxydable 254SMO [73].

L'influence des réactifs et des produits enzymatiques sur les réactions cathodiques va être étudiée dans cette partie à l'aide du tracé de courbes intensité-potentiel. L'électrolyte est la solution d'eau de rivière artificielle.

5.4.1 Réactions cathodiques en présence des réactifs enzymatiques

5.4.1.1 Courbes de polarisation cathodique en présence des réactifs enzymatiques

Afin de déterminer l'influence des réactifs enzymatiques sur le courant cathodique, une courbe de polarisation cathodique est réalisée sur un échantillon d'acier inoxydable dans la solution d'eau de rivière artificielle (sans aucun ajout), ce qui constituera le témoin, et une autre courbe de polarisation cathodique est réalisée sur un autre échantillon de la même nuance dans la solution « eau de rivière artificielle » à laquelle ont été ajoutées 100 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose (solution « réactifs enzymatiques »). La comparaison de ces deux courbes permet d'identifier d'éventuelles nouvelles réductions et de voir les modifications des réductions déjà existantes dans la solution témoin.

Ces courbes ont été tracées pour les trois nuances d'acier inoxydable étudiées. Les solutions ne sont pas agitées, afin que la réduction de l'oxygène soit faite dans des conditions expérimentales les plus semblables possibles d'une expérience à l'autre. Ceci constitue une première approche ; d'autres expériences seront présentées par la suite, durant lesquelles le transport de matière à la surface sera contrôlé par un montage d'électrode tournante.

Ces courbes sont tracées 48 heures après l'ajout des réactifs enzymatiques ; à cette date, le potentiel de corrosion libre est stationnaire (sauf instabilités susmentionnées). A cet instant, la concentration en peroxyde d'hydrogène est d'environ 1 mmol/L et le pH est compris entre 3,2 et 3,3. La concentration en oxygène dissous est comprise entre 1,9 et 2,4 g/L.

Les courbes de polarisation effectuées sur des échantillons d'acier inoxydable (304L, 316L, 254SMO) sans et avec ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose sont présentées sur la figure 121.

- **Acier 304L** : sur la courbe témoin tracée en eau de rivière artificielle (notée « NaCl »), un seul palier de réduction est visible, centré autour de -1 V/ECS. Le seul oxydant présent en solution est le dioxygène dissous, cette réaction électrochimique est par conséquent la réduction de l'oxygène. Pour rappel, cette réaction peut s'écrire en milieu

acide selon l'équation (1) (le pH de la solution d'eau douce artificielle est compris entre 5,7 et 6) :



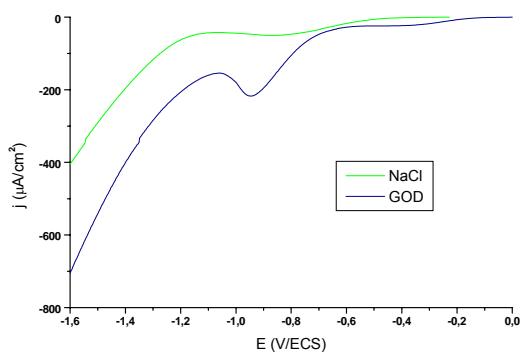
Aux potentiels inférieurs à -1,1 V/ECS, la réduction de l'eau en hydrogène gazeux apparaît. Cette réaction n'est pas limitée par la diffusion (« mur du solvant ») et la courbe intensité-potentiel tend vers -∞.

Sur la courbe tracée dans la solution « réactifs enzymatiques », deux paliers de réduction apparaissent. Sur le premier palier, centré autour de -0,45 V/ECS, le courant est d'environ -24 μA.cm⁻². La deuxième réduction a lieu depuis -0,8 jusqu'à -1,2 V/ECS. Le courant cathodique est d'environ -160 μA.cm⁻² à -1,1 V/ECS.

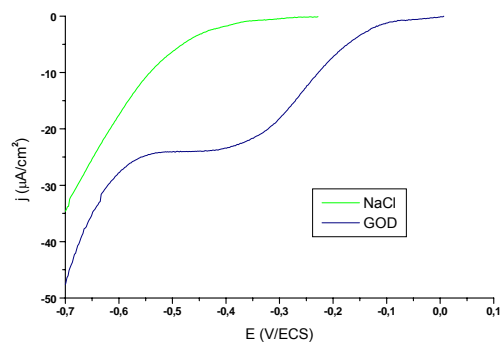
- **Acier 316L** : dans la solution témoin, la réduction de l'oxygène dissous se fait depuis -0,4 V/ECS jusqu'à -1,1 V/ECS. Le courant sur le palier de diffusion est d'environ -61 μA.cm⁻². La réduction de l'eau en hydrogène a lieu aux potentiels inférieurs à -1,1 V/ECS.

Dans la solution « réactifs enzymatiques », deux réductions ont lieu. La première se fait sur un palier de réduction centré autour d'une valeur comprise entre -0,5 et -0,45 V/ECS. Le courant y est de -93 μA.cm⁻². La deuxième se fait depuis -0,8 jusqu'à -1,2 V/ECS, le courant cathodique est de -186 μA.cm⁻² à -1,1 V/ECS. Les deux réductions observées sur l'acier 304L dans les mêmes conditions expérimentales sont retrouvées.

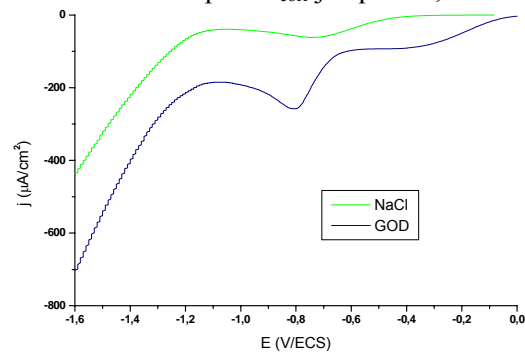
- **Acier 254SMO** : les mêmes différences que sur les autres nuances sont observées. En présence de glucose-oxydase et de glucose, une réduction apparaît à des potentiels plus élevés que la réduction de l'oxygène. Le palier de réduction est centré autour de -0,45 V/ECS, et le courant cathodique est d'environ -71 μA.cm⁻². Une autre réduction a lieu depuis -0,8 jusqu'à -1,2 V/ECS. Le courant est de -205 μA.cm⁻² à -1,1 V/ECS. Les deux réductions observées sur les nuances 304L et 316L dans les mêmes conditions expérimentales sont retrouvées.



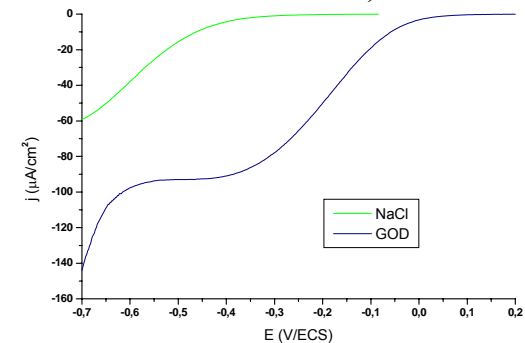
a- Acier 304L : depuis E_{corr} jusqu'à -1,6 V/ECS



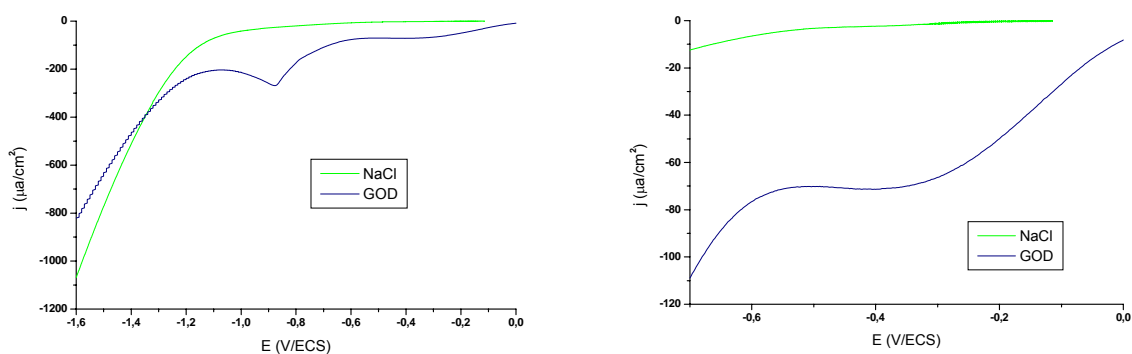
b- Acier 304L : zoom entre -0,7 et 0 V/ECS



c- Acier 316L : depuis E_{corr} jusqu'à -1,6 V/ECS



d- Acier 316L : zoom entre -0,7 et 0 V/ECS



e- Acier 254SMO : depuis E_{corr} jusqu'à -1,6 V/ECS f- Acier 254SMO : zoom entre -0,7 et 0 V/ECS

Figure 121 : courbes intensité-potential côté cathodique d'échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de rivière artificielle, dans un cas sans aucun ajout dans la solution, dans l'autre cas 48h après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose (5 mV/s)

Globalement, à tous les potentiels, le courant cathodique est toujours plus élevé en valeur absolue dans la solution « réactifs enzymatiques » que dans l'eau de rivière artificielle, pour les trois nuances d'acier inoxydable testées. La présence des réactifs enzymatiques fait augmenter le courant cathodique, ce qui entraîne l'augmentation du potentiel de corrosion libre. Les deux réductions qui ont lieu en présence de la GOD et du glucose vont être étudiées en détail dans la suite de ce travail.

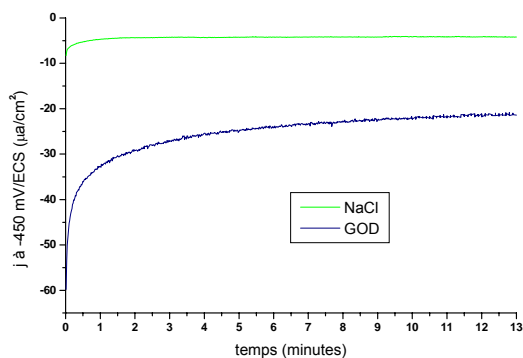
L'effet de la glucose-oxydase et du glucose sur le courant cathodique est vérifié par le tracé de courbes de chronoampérométrie réalisées à -0,45 V/ECS et à -1,1 V/ECS, en présence ou non de l'enzyme et de son substrat.

5.4.1.2 Chronoampérométries en présence des réactifs enzymatiques

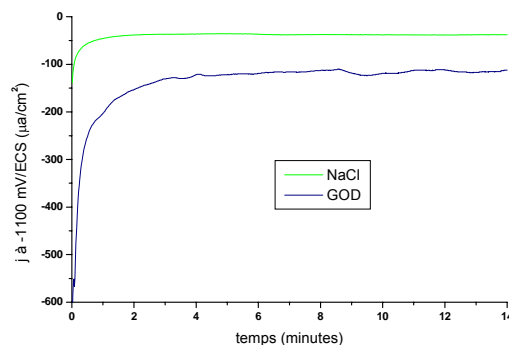
Dans les deux solutions (eau de rivière artificielle et « réactifs enzymatiques »), un échantillon est polarisé à -0,45 V/ECS et le courant est mesuré au cours du temps. Cette expérience a été menée sur des échantillons des aciers 304L et 254SMO. Les résultats sont identiques pour les deux nuances et peuvent être étendus à l'acier 316L. Seules les courbes obtenues sur l'acier 304L vont être présentées. Elles sont visibles sur la figure 122. La figure 122-a correspond à la polarisation à -0,45 V/ECS et la figure 122-b à la polarisation à -1,1 V/ECS.

Ces courbes montrent que le courant à -0,45 V/ECS est beaucoup plus important lorsque l'enzyme et son substrat sont présents dans la solution. Dans l'eau de rivière artificielle, la valeur stationnaire du courant est de $-4,2 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$. Elle est de $-21,3 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dans la solution « réactifs enzymatiques ».

De même, le courant à -1,1 V/ECS est plus élevé dans la solution « réactifs enzymatiques » que dans l'eau de rivière artificielle. Les valeurs stationnaires du courant cathodique sont respectivement $-113 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ et $-37,5 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$.



a- Polarisation à -0,45 V/ECS



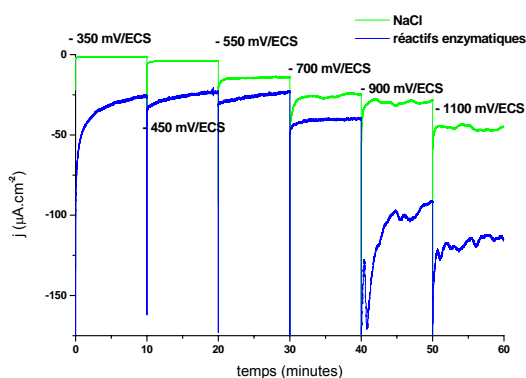
b- Polarisation à -1,1 V/ECS

Figure 122 : chronoampérométries réalisées sur échantillons d'acier 304L immergés en eau de rivière artificielle, dans un cas sans aucun ajout dans la solution, dans l'autre cas 48h après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose

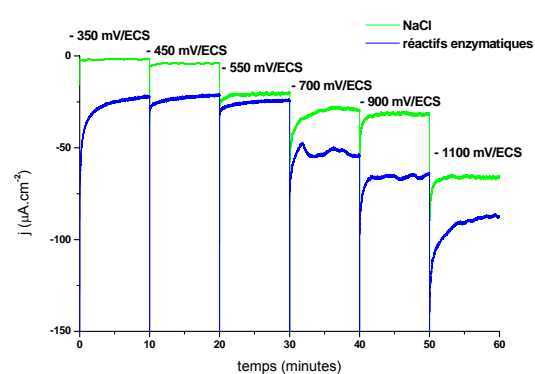
Les chronoampérométries confirment les résultats obtenus grâce aux courbes de polarisation cathodique. L'introduction de la GOD et du glucose entraîne une augmentation du courant cathodique. En présence des réactifs enzymatiques, la courbe intensité-potential comporte deux réductions, l'une aux alentours de -0,45 V/ECS et l'autre vers -1,1 V/ECS. Ces deux réductions vont être identifiées dans la suite de ce travail.

5.4.1.3 Séquence de chronoampérométries à différents potentiels en présence des réactifs enzymatiques

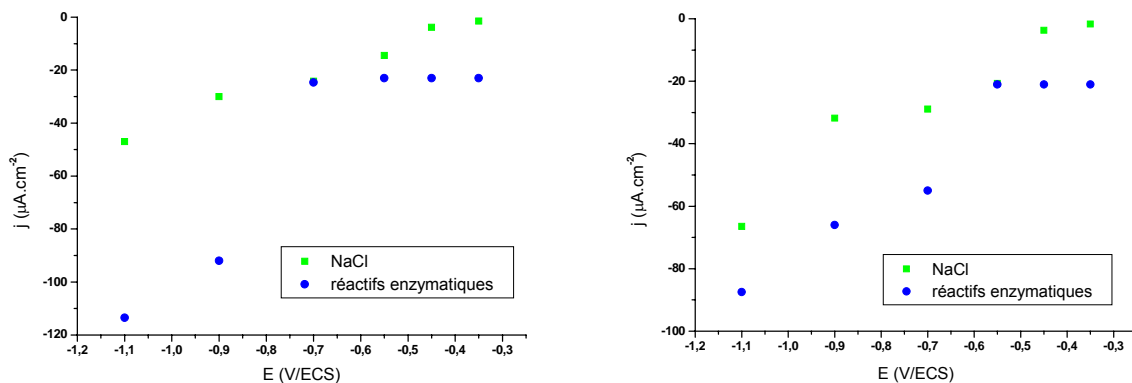
L'influence des réactifs enzymatiques sur le courant cathodique a aussi été évaluée par la mesure du courant lors de l'application d'une suite d'échelons de potentiels. Cette méthode permet d'obtenir des valeurs de courant stationnaires (contrairement à un balayage en potentiel à vitesse rapide) dans toute une gamme de potentiels (ici entre -350 et -1100 mV/ECS). Les résultats sont présentés sur les figures 123-a et -b. Les points (E, I) peuvent alors être reportés sur une courbe intensité-potential, qui présente ainsi uniquement des points stationnaires. Les courbes intensité-potential stationnaires sont visibles sur les figures 123-c et -d.



a- Chronoampérométries (304L)



b- Chronoampérométries (254SMO)



c- Courbe intensité-potential stationnaire sur un échantillon d'acier 304L d- Courbe intensité-potential stationnaire sur un échantillon d'acier 254SMO

Figure 123 : chronoampérométries successives sur des échantillons d'aciers 304L et 254SMO immergés en eau de rivière artificielle, sans ajout ou 48h après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose

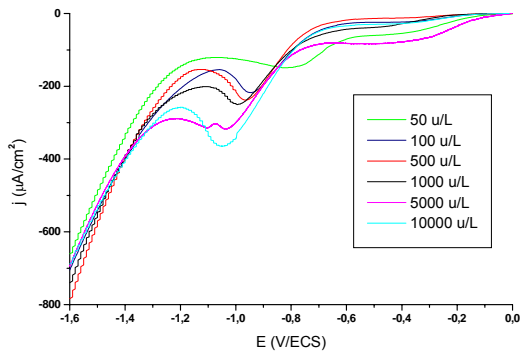
Comme sur les courbes de polarisation cathodique détaillées précédemment, le courant cathodique est toujours supérieur (en valeur absolue) dans la solution « réactifs enzymatiques » que dans l'eau de rivière artificielle. Un palier de courant est retrouvé aux potentiels -350, -450 et -550 mV/ECS. Aux environs de -600 mV/ECS, les valeurs de courant ont tendance à se rapprocher, puis une forte différence apparaît de nouveau. A -1,1 V/ECS, le courant cathodique est beaucoup plus élevé dans la solution « réactifs enzymatiques ». Cette méthode stationnaire confirme les résultats précédents.

5.4.1.4 Influence de l'activité enzymatique

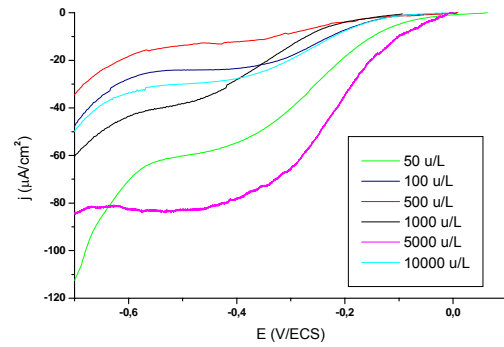
La présence de l'enzyme et de son substrat a pour conséquence une augmentation du courant cathodique. Le but de ce paragraphe est d'étudier l'effet de l'activité enzymatique sur les réactions de réduction. Une large gamme d'activités de GOD est testée, depuis 50 u/L jusqu'à 10000 u/L. Des courbes de polarisation cathodique effectuées sur des échantillons d'acier 304L 48 heures après leur immersion en eau de rivière artificielle contenant 20 mmol/L de glucose et différentes activités de GOD sont tracées sur la figure 124-a.

L'activité de l'enzyme semble avoir une influence sur la première réduction observée aux alentours de -0,45 V/ECS. En effet, le courant sur le palier de réduction varie avec l'activité de la GOD (figure 124-b). Toutefois, cette variation n'est pas monotone. Par exemple, le courant à -0,45 V/ECS est de -12,8 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ lorsque l'activité est de 500 u/L, alors qu'il est de -58,3 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ pour une activité de 50 u/L. Il atteint -81,5 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ pour 5000 u/L, mais n'est que de -29,1 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ pour 10 000 u/L. L'influence de l'activité de la GOD sur le courant à -0,45 V/ECS est réelle mais n'est pas simple.

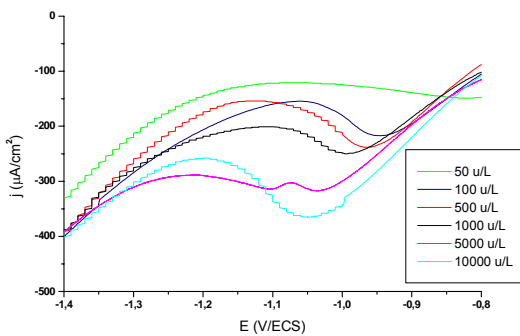
En revanche, la deuxième réduction, observée autour de -1,1 V/ECS, varie simplement avec l'activité de la GOD. Plus l'activité augmente, plus le sommet (en valeur absolue) de la vague de réduction augmente (figure 124-c). La densité de courant à -1,1 V/ECS est une fonction croissante de l'activité enzymatique (figure 124-d).



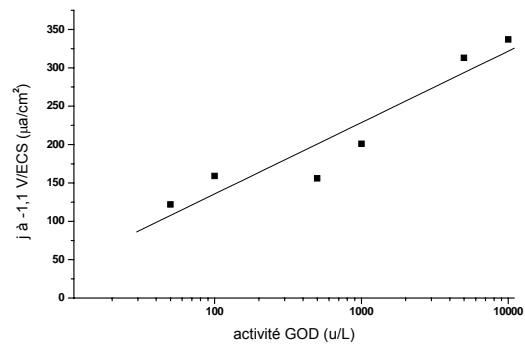
a- Depuis E_{corr} jusqu'à -1,6 V/ECS



b- Zoom entre -0,7 et 0 V/ECS



c- Zoom entre -1,4 et -0,8 V/ECS

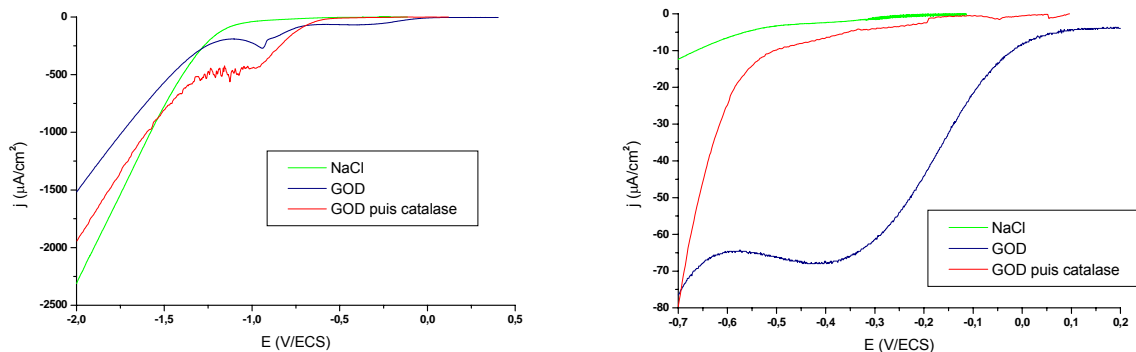


d- $j(-1,1 \text{ V/ECS}) = f(\text{activité GOD})$

Figure 124 : courbes intensité-potential côté cathodique d'échantillons d'acier 304L immergés en eau de rivière artificielle, 48h après ajout de 20 mmol/L de glucose et de GOD à différentes activités (5 mV/s)

5.4.1.5 Effet d'un ajout de catalase sur le courant cathodique

Une première expérience a été réalisée pour évaluer le rôle joué par le peroxyde d'hydrogène dans les réactions cathodiques. Des courbes de polarisation cathodique sont tracées sur des échantillons d'acier 254SMO immergés dans la solution « réactifs enzymatiques ». Pour l'un des échantillons, ce tracé est effectué 48 heures après ajout de 3370 u/L de catalase dans la solution. Les résultats peuvent être vus sur la figure 125. La présence de catalase a peu (ou n'a pas) d'influence sur la deuxième réduction (entre -1,2 et -0,7 V/ECS). En revanche, la première réduction (entre -0,7 et 0,1 V/ECS) disparaît complètement lorsque la catalase est présente en solution. Le courant cathodique à -0,45 V/ECS est de -67 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dans la solution « réactifs enzymatiques », alors qu'il n'est que de -8 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dans la solution où la catalase a été rajoutée. Or la catalase catalyse la dégradation de H₂O₂. La réduction qui se fait depuis 0,1 jusqu'à -0,7 V/ECS est vraisemblablement la réduction du peroxyde d'hydrogène. D'autres expériences présentées plus loin permettront de conclure à ce sujet.



a- Depuis E_{corr} jusqu'à -2 V/ECS

b- Depuis 0,2 jusqu'à -0,7 V/ECS

Figure 125 : courbes intensité-potential côté cathodique d'échantillons d'acier 254SMO immergés en eau de rivière artificielle, avant ajout, 48 heures après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose, et 48 heures après l'ajout ultérieur de 3370 u/L de catalase (5 mV/s)

5.4.1.6 Synthèse

L'ajout de glucose-oxydase et de glucose dans une solution d'eau de rivière artificielle contenant un échantillon d'acier inoxydable fait augmenter le courant cathodique sur cet échantillon. Lorsque l'enzyme et son substrat sont présents dans la solution depuis 48 heures, la courbe de polarisation cathodique révèle deux réductions.

La première, désignée dorénavant par l'expression « réduction n°1 », a lieu autour de -0,45 V/ECS. Le courant du palier de cette réduction varie de façon complexe avec l'activité de la GOD. Cette réduction disparaît lorsque la catalase est ajoutée dans la solution ; ceci semble indiquer que la réduction n°1 est la réduction du peroxyde d'hydrogène.

La deuxième, appelée « réduction n°2 », se fait autour de -1,1 V/ECS. Le courant du palier de cette réduction augmente avec l'activité de la GOD.

Ces deux réductions doivent être étudiées séparément afin d'identifier les oxydants qui sont réduits à ces potentiels. Elles ne mettent en jeu ni la glucose-oxydase ni le glucose, qui n'ont pas de propriétés d'oxydoréduction majeures. Ce sont donc vraisemblablement les produits enzymatiques, H₂O₂ et l'acide gluconique, qui sont à l'origine de ces deux réductions. Il faut aussi conserver à l'esprit que la couche d'oxydes formant le film passif et le dioxygène dissous font partie des espèces oxydantes réduites durant le balayage en potentiel.

Par ailleurs, les courbes de polarisation cathodique acquises sur les trois nuances d'acier inoxydable indiquent des phénomènes identiques. Les processus cathodiques ne semblent pas dépendre de la nuance testée. Dans la plupart des expériences décrites dans la suite de ce chapitre, les résultats ne seront plus présentés que pour une nuance, auquel cas il faudra considérer que les observations sont comparables sur les deux autres types d'acier inoxydable.

5.4.2 Identification de la réduction n°1

Cette partie est basée sur l'étude des réactions cathodiques en présence de peroxyde d'hydrogène dans l'eau de rivière artificielle.

5.4.2.1 Réactions cathodiques en présence de peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est un oxydant, il est nécessairement réduit dans un certain intervalle de potentiels lorsque l'échantillon est polarisé depuis son potentiel de corrosion libre jusqu'à -2 V/ECS. Sa réduction doit être visible sur le tracé d'une courbe intensité-potential dans la direction des potentiels cathodiques. L'étude des courbes intensité-potential en présence de H₂O₂ va permettre à la fois de voir l'influence de ce composé sur le courant cathodique et de voir si sa réduction est liée aux réductions observées en solution « réactifs enzymatiques » (réductions n°1 et n°2).

a) Courbes intensité-potential en présence de H₂O₂

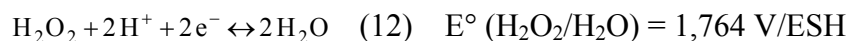
Dans ce paragraphe, des courbes de polarisation cathodique sont tracées sur des échantillons d'acier 254SMO immergés dans une solution d'eau de rivière artificielle, additionnée ou non de peroxyde d'hydrogène. La différence entre la courbe « sans H₂O₂ » et la courbe « avec H₂O₂ » permet de visualiser la réduction de H₂O₂, sans oublier que la modification de la couche d'oxydes au contact du peroxyde d'hydrogène peut aussi affecter le courant cathodique.

Deux concentrations en peroxyde d'hydrogène différentes ont été testées (1 et 10 mmol/L). Les courbes de polarisation cathodique en eau de rivière artificielle avec et sans ajout de H₂O₂ sont tracées en coordonnées linéaires et semi-logarithmiques sur la figure 126.

Dans l'eau de rivière artificielle, la réduction de l'oxygène dissous se fait depuis -0,4 jusqu'à -1,1 V/ECS.

Quand H₂O₂ est présent dans la solution, le courant cathodique est plus élevé en valeur absolue depuis E_{corr} jusqu'à -1 V/ECS. La réduction de H₂O₂ se superpose à la réduction de O₂. Le courant de réduction du peroxyde d'hydrogène peut commencer à augmenter dès des potentiels proches de 0 V/ECS. La plage de potentiels où se fait la réduction du peroxyde semble s'élargir lorsque [H₂O₂] augmente.

Le palier n'est centré ni autour de -0,45 V/ECS (réduction n°1), ni autour de -1,1 V/ECS (réduction n°2). Toutefois, le pH proche de 5,7 n'est pas le même que dans la solution « réactifs enzymatiques » (environ 3,3), et il est connu que le pH a une forte influence sur la gamme de potentiels où les réductions peuvent avoir lieu. En effet, lorsque la demi-équation électronique comporte des protons H⁺, le pH intervient dans l'expression du potentiel électrochimique. C'est le cas pour la réduction de H₂O₂, qui peut s'écrire ainsi :



Le potentiel de la réaction suit la formule de Nernst :

$$E (\text{H}_2\text{O}_2 / \text{H}_2\text{O}) = 1,764 + 0,03 \log [\text{H}_2\text{O}_2] - 0,06 \text{ pH}$$

Il diminue lorsque le pH augmente. La réduction observée sur la figure 126 pourrait donc correspondre à une réduction se produisant à des potentiels plus élevés lorsque le pH est plus faible. Cette réduction pourrait alors être la réduction n°1. L'écart de pH entre la solution de NaCl contenant du peroxyde d'hydrogène (pH 6 environ) et la solution « réactifs enzymatiques » (pH 3,3 environ) pourrait expliquer le décalage du potentiel de la réduction de H₂O₂.

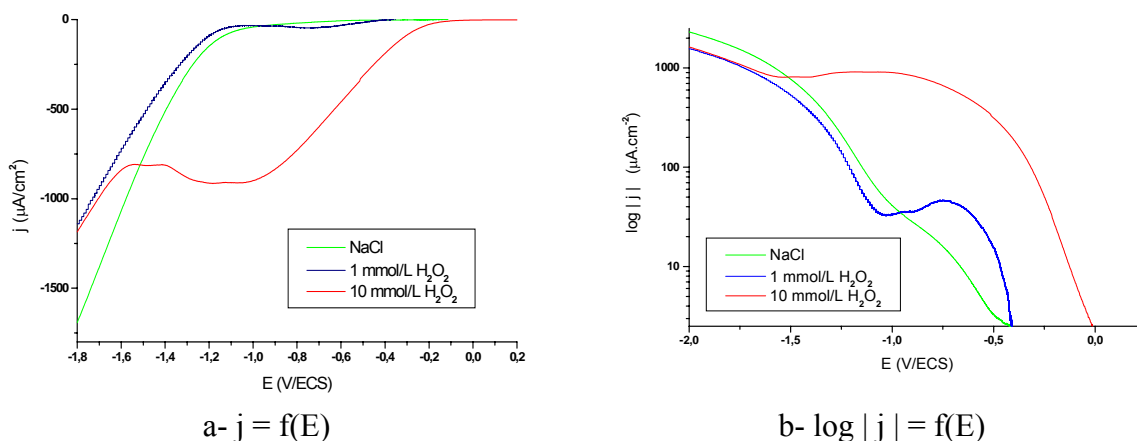


Figure 126 : courbes intensité-potential côté cathodique d'échantillons d'acier 254SMO immergés en eau de rivière artificielle, dans un cas sans ajout dans la solution, dans l'autre cas 48h après ajout de 1 ou 10 mmol/L de H₂O₂ (5 mV/s)

L'effet d'un ajout de peroxyde d'hydrogène sur le courant cathodique est aussi mis en évidence par des chronoampérométries.

b) Chronoampérométrie en présence de H₂O₂

Des chronoampérométries à -0,45 V/ECS (potentiel central du palier de diffusion de la réduction n°1 dans la solution « réactifs enzymatiques ») ont été réalisées sur des échantillons d'acier 254SMO immergés en eau de rivière artificielle, immédiatement après ajout de 1 ou 10 mmol/L de peroxyde d'hydrogène.

Lorsque la concentration en peroxyde d'hydrogène est de 1 mmol/L, la valeur stationnaire du courant à -0,45 V/ECS est d'environ -60 µA.cm⁻². Lorsque la concentration est de 10 mmol/L, la densité de courant stationnaire est environ -285 µA.cm⁻².

Le peroxyde d'hydrogène a un impact direct et fort sur la valeur du courant cathodique au potentiel -0,45 V/ECS. La réduction de H₂O₂ se fait donc aux alentours de ce potentiel.

Toutefois, comme les courbes intensité-potential l'ont montré, la réduction du peroxyde d'hydrogène n'a pas lieu tout à fait dans la même gamme de potentiels que la réduction n°1, et ceci a été attribué hypothétiquement à la différence de pH des deux solutions. L'expérience décrite ci-dessous permet de prouver cette hypothèse.

c) Effet du pH sur la réduction de H₂O₂

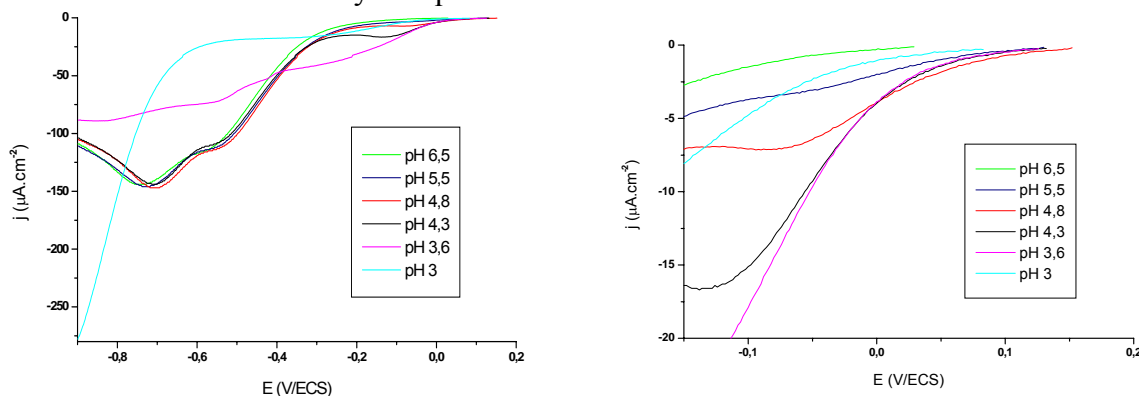
Pour vérifier ce qui a été dit précédemment, des courbes de polarisation cathodique successives ont été tracées sur un échantillon d'acier 316L immergé en eau de rivière artificielle contenant 1 mmol/L de H₂O₂ après ajustements successifs de pH par ajout d'acide gluconique. La gamme de pH couverte est [3 ; 6,5]. Pour rappel, les valeurs de pH de la solution « réactifs enzymatiques » et de la solution de peroxyde d'hydrogène à 1 mmol/L sont respectivement d'environ 3,2 et 6. Les différentes courbes obtenues sont visibles sur la figure 127.

Les courbes obtenues pour un pH compris entre 4,3 et 6,5 ont la même allure que la courbe de polarisation cathodique dans la solution de peroxyde d'hydrogène. La réduction de H₂O₂ se fait à des potentiels proches de la réduction de l'oxygène. Il peut être remarqué que le courant de réduction du peroxyde d'hydrogène augmente à des valeurs de potentiel élevées, par exemple sur la courbe tracée à pH 5,5, le courant augmente en valeur absolue dès +150 mV/ECS (figure 127-b).

L'allure des courbes est complètement modifiée lorsque le pH devient inférieur à une valeur seuil proche de 4 (comprise entre 3,6 et 4,3). L'inflexion constatée autour de -0,45 V/ECS dans la solution « réactifs enzymatiques » est retrouvée. La surtension cathodique de la réduction de H₂O₂ est (en valeur absolue) beaucoup plus faible à pH acide inférieur à la valeur-seuil. Un pH acide améliore la réactivité de la surface vis-à-vis de la réduction du peroxyde d'hydrogène.

Il peut aussi être remarqué que les valeurs de courant limite sur le palier de diffusion sont beaucoup plus faibles à pH 3 et 3,6 qu'aux valeurs de pH plus élevées. Ceci est à mettre en relation avec la variation de la vitesse de décomposition de H₂O₂ en fonction du pH (cf. figure 78). Aux faibles valeurs de pH (inférieures à 4), la concentration du peroxyde d'hydrogène en solution est déjà plus faible à 48 heures qu'à pH plus élevé.

La réduction du peroxyde d'hydrogène est très fortement influencée par le pH de la solution. Cette expérience démontre que la réduction n°1 est la réduction de H₂O₂ à un pH acide compris entre 3 et 3,5. La différence de pH explique la différence entre les surtensions cathodiques de la réduction de H₂O₂ dans l'eau de rivière artificielle et de la réduction n°1 dans la solution « réactifs enzymatiques ».



a- Depuis E_{corr} jusqu'à -0,9 V/ECS

b- Zoom entre -150 et +200 mV/ECS

Figure 127 : courbes intensité-potentialité côté cathodique réalisées sur un échantillon d'acier 316L immergé depuis 48 heures dans une solution à 0,3 g/L de NaCl contenant 1 mmol/L de H₂O₂, avec ajustements successifs de pH avant chaque polarisation cathodique (5 mV/s)

L'influence du pH sur la réduction du peroxyde d'hydrogène sera à nouveau visualisée dans l'étude de la solution « produits enzymatiques » (§ 5.4.4).

d) Synthèse

A cette étape du raisonnement, il est vraisemblable d'affirmer que la réduction n°1 qui apparaît centrée autour de -0,45 V/ECS dans la solution « réactifs enzymatiques » est la réduction du peroxyde d'hydrogène. Toutefois, dans la même gamme de potentiels, la réduction de l'oxygène et la réduction des oxydes du film passif peuvent intervenir. Avant de conclure au sujet de l'identité de la réduction n°1, la contribution de la réduction de l'oxygène dissous et la contribution de la réduction des oxydes du film passif doivent être évaluées quantitativement.

5.4.2.2 Contribution de la réduction de l'oxygène dissous à la réduction n°1

La figure 121 montre que la réduction de l'oxygène se fait dans un domaine de potentiels compris entre -0,4 et -1,1 V/ECS sur les échantillons immergés dans la solution témoin d'eau de rivière artificielle. Elle pourrait donc influencer la réduction n°1, qui a lieu autour de -0,45

V/ECS. Le courant cathodique est plus élevé entre -1,1 V/ECS et -0,4 V/ECS lorsque la GOD et le glucose ont été introduits depuis 48 heures. Cette augmentation est due principalement à la réduction de H₂O₂ qui se superpose à la réduction de O₂, comme cela a été prouvé dans le paragraphe précédent.

Toutefois, la réduction de O₂ est susceptible d'évoluer. Les mesures de concentration en oxygène dissous montrent que 48 heures après l'ajout des réactifs enzymatiques, [O₂] n'est que d'environ 2 mg/L (en raison de sa consommation par la réaction enzymatique), alors que dans l'eau de rivière artificielle la solution est en équilibre (mais non agitée) avec l'air ambiant, donc [O₂] est comprise entre 6 et 9 g/L. Le courant de réduction de l'oxygène doit par conséquent être plus faible dans la solution « réactifs enzymatiques » que dans la solution d'eau de rivière artificielle. L'évolution de la réduction de O₂ ne peut a priori pas expliquer l'augmentation du courant cathodique entre -1,1 et -0,4 V/ECS observée dans la solution « réactifs enzymatiques ».

Pour confirmer l'absence de contribution de la réduction de O₂ dans la réduction n°1, des manipulations ont été réalisées dans des solutions désoxygénées.

L'idée est de réaliser des chronoampérométries à -0,45 V/ECS en l'absence d'oxygène dissous dans la solution (ou avec une concentration en oxygène dissous fortement diminuée). Dans un premier temps, l'expérience est identique aux manipulations précédentes. Deux échantillons sont immergés 24 heures dans la solution d'eau de rivière artificielle, puis 48 heures dans la solution « réactifs enzymatiques ». A ce stade de l'expérience, la solution contient de l'oxygène dissous, qui a permis la formation de peroxyde d'hydrogène en étant consommé par la réaction enzymatique. La concentration en oxygène est d'environ 2 g/L.

Dans un des deux béchers, un bullage de diazote N₂ est effectué pendant 30 minutes. La solution est alors fortement appauvrie en oxygène dissous. La polarisation à -0,45 V/ECS est ensuite réalisée, tout en maintenant un ciel de diazote au-dessus de la solution. La chronoampérométrie obtenue est comparée à la courbe obtenue dans le deuxième bécher, où la concentration en oxygène a été laissée libre d'évoluer.

Pour la nuance 304L, la densité de courant stationnaire mesurée après 20 minutes de polarisation est de -8,9 μA.cm⁻² dans la solution en équilibre avec l'air ambiant et de -5,2 μA.cm⁻² dans la solution appauvrie en oxygène dissous. Pour la nuance 254SMO, elle est de -2,6 μA.cm⁻² dans la solution en équilibre avec l'air du laboratoire et de -7 μA.cm⁻² dans la solution partiellement désoxygénée. Ces variations sont faibles et peuvent être considérées comme non significatives.

Le courant stationnaire mesuré à -0,45 V/ECS lorsque la solution est en contact avec l'air ambiant est à peu près égal au courant mesuré lorsque la solution est fortement appauvrie en oxygène. Le courant de réduction de l'oxygène dissous n'intervient donc pas dans la réduction n°1.

Ceci est confirmé par le tracé de courbes intensité-potential réalisées sur des échantillons d'acier 254SMO immergés dans les deux types de solution (en contact avec l'air du laboratoire et fortement appauvrie en oxygène) et représentées sur la figure 128.

Dans les deux solutions, la réduction n°1 se fait entre -0,6 et 0,1 V/ECS. Le courant de cette réduction n'est pas du tout modifié lorsque la solution est fortement appauvrie en oxygène. Cette expérience démontre que le courant de réduction de O₂ ne contribue pas à la réduction n°1.

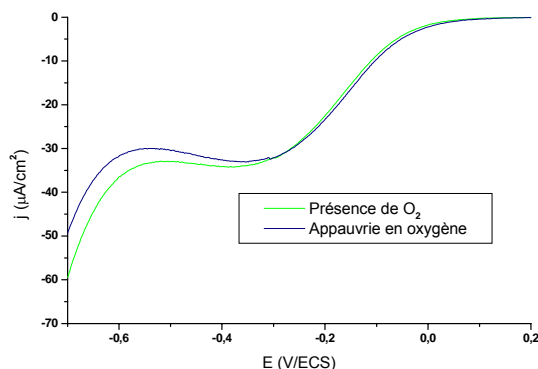


Figure 128 : courbes intensité-potential côté cathodique réalisées sur des échantillons d'acier 254SMO immergés depuis 48 heures dans la solution « réactifs enzymatiques », avec et sans désoxygénation réalisée avant polarisation (5 mV/s)

Au final, la réduction n°1 n'est pas affectée par la concentration en oxygène dissous de la solution. La réduction n°1 ne comporte pas de contribution de la réduction de l'oxygène.

5.4.2.3 Contribution de la réduction des oxydes du film passif à la réduction n°1

a) Réduction de la couche d'oxydes dans la solution « réactifs enzymatiques »

Des courbes intensité-potential du côté cathodique ont été tracées (figure 129) pour un échantillon d'acier 304L immergé depuis 24 heures en eau de rivière artificielle (courbe « NaCl »), pour un échantillon d'acier 304L immergé depuis 48 heures dans la solution « réactifs enzymatiques », et pour un échantillon d'acier 304L ayant été en contact pendant 48h avec la solution « réactifs enzymatiques » mais prélevé et réintroduit dans l'eau de rivière artificielle (courbe « 100 u/L GOD puis remis dans 0,3 g/L NaCl »).

Ce dernier échantillon a subi la modification de la couche d'oxydes générée par la solution « réactifs enzymatiques » (enrichissement global en chrome, entre autres) et est immergé dans une solution ne contenant plus ni de peroxyde d'hydrogène, ni d'acide gluconique. Le tracé de sa courbe de polarisation cathodique doit montrer la réduction de la couche d'oxydes mais ne comprendra pas l'éventuelle réduction de ces deux espèces. La différence entre la courbe intensité-potential de cet échantillon et la courbe intensité-potential de l'échantillon témoin sera uniquement la modification du courant de réduction de la couche d'oxydes, ainsi que l'éventuelle modification du courant de réduction de O₂ due à l'évolution de la couche d'oxydes. Effectivement, la réduction de O₂ peut varier avec l'état de surface. Il a par exemple été montré qu'en eau de mer naturelle la cinétique de la réduction de l'oxygène est accélérée en raison d'un enrichissement en fer(III) (catalyseur de la réduction de O₂) de l'extrême surface du film passif [17, 46, 47].

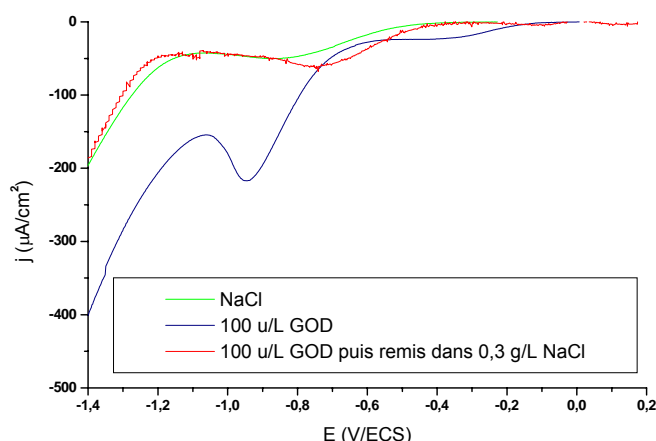


Figure 129 : courbes intensité-potential côté cathodique réalisées sur des échantillons d'acier 304L immergés en eau de rivière artificielle, avec et sans ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose (5 mV/s)

Les résultats obtenus montrent que les deux réductions observées autour de -0,45 et de -1,1 V/ECS en présence de l'enzyme et du glucose ne sont plus présentes lorsque l'échantillon est remis dans l'eau de rivière artificielle. Ces deux réductions mettent donc en jeu des espèces oxydantes présentes uniquement lorsque la GOD et le glucose ont été introduits.

Ceci confirme les résultats précédents et permet d'affirmer que la réduction n°1 est la réduction de H₂O₂.

Les courbes « NaCl » et « 100 u/L GOD puis remis dans 0,3 g/L de NaCl » ne sont pas superposables aux potentiels inférieurs à -0,4 V/ECS. L'évolution de la couche d'oxydes au contact de la solution « réactifs enzymatiques » est visible entre -0,8 et -0,4 V/ECS. La somme du courant de réduction de la couche d'oxydes et du courant de réduction de l'oxygène est plus importante dans le cas où l'échantillon a été en contact avec la solution « réactifs enzymatiques ». Toutefois, l'évolution de la couche d'oxydes ne génère une modification du courant cathodique qu'à des potentiels faibles, éloignés du potentiel de corrosion libre. Cette modification ne peut pas avoir d'impact sur la valeur de E_{corr} . Ceci explique le fait que le potentiel d'abandon rechute à sa valeur initiale lorsque l'échantillon est prélevé de la solution « réactifs enzymatiques » et réintroduit dans l'eau de rivière artificielle. Ce résultat confirme que la contribution de la réduction des oxydes du film passif au processus global d'augmentation de E_{corr} est négligeable. Le facteur principal de l'augmentation du potentiel d'abandon est l'augmentation du courant cathodique aux potentiels cathodiques proches de E_{corr} (contribution primordiale de la réduction de H₂O₂, ou réduction n°1). La couche d'oxydes évolue au contact de la solution « réactifs enzymatiques » (enrichissement en chrome, courant de réduction plus élevé en valeur absolue), mais cette évolution n'a pas d'influence notable sur la valeur du potentiel de corrosion libre.

b) Influence de la couche d'oxydes sur la réduction du peroxyde d'hydrogène

L'évolution de la couche d'oxydes au contact de la solution « réactifs enzymatiques » est liée à la présence du peroxyde d'hydrogène et de l'acide gluconique. Ces deux composés ont des influences opposées sur la composition chimique du film passif : l'acide favorise l'élément chrome au détriment du fer, alors que le contact avec H₂O₂ entraîne une augmentation de la teneur en élément fer au détriment du chrome au sein de la couche d'oxydes. Les modifications du film passif peuvent générer des différences au niveau du courant de réduction du peroxyde d'hydrogène. Dans ce paragraphe, l'influence de H₂O₂ sur la couche d'oxydes va être étudiée isolément.

Dans cette expérience, des échantillons d'acier 254SMO sont immergés pendant 48 heures dans une solution à 0,3 g/L de NaCl contenant 10 mmol/L de H₂O₂. Une courbe intensité-potentiel est alors tracée depuis E_{corr} jusqu'à -2 V/ECS. Puis l'échantillon est repoli, réimmergé dans la solution, et une nouvelle courbe de polarisation cathodique (notée « échantillon repoli ») est tracée. La comparaison de ces courbes est faite sur la figure 130. Les courbes de polarisation cathodique avant et après polissage sont superposées. L'évolution de la couche d'oxydes au contact du peroxyde d'hydrogène semble ne pas avoir de conséquence sur le courant cathodique de la réduction du peroxyde.

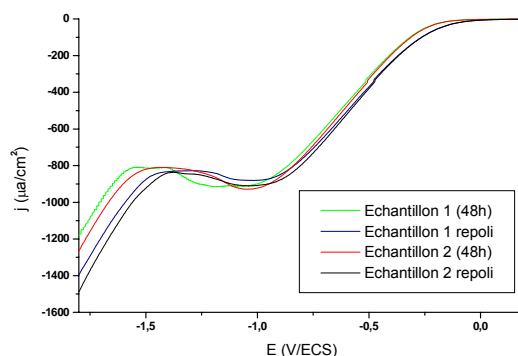


Figure 130 : courbes intensité-potentiel côté cathodique réalisées sur des échantillons d'acier 254SMO immergés depuis 48h dans une solution à 0,3 g/L de NaCl contenant 10 mmol/L de H₂O₂, avec effet du polissage (5 mV/s)

5.4.2.4 Synthèse : influence du peroxyde d'hydrogène

L'introduction de peroxyde d'hydrogène dans une solution d'eau de rivière artificielle contenant un échantillon d'acier inoxydable fait augmenter le potentiel de corrosion libre instantanément. Cette augmentation est due à la réduction de l'oxydant H₂O₂ qui se superpose à la réduction de l'oxygène dissous. L'existence de cette nouvelle réduction entraîne une augmentation du courant cathodique à faible polarisation (la surtension cathodique de la réduction de H₂O₂ est faible, le courant pouvant augmenter dès que le potentiel devient inférieur à +100 mV/ECS), ce qui implique une augmentation du potentiel de corrosion libre.

Le pH de la solution a une influence notable sur la concentration et sur le courant de réduction du peroxyde d'hydrogène. Dans la solution « réactifs enzymatiques », le pH est d'environ 3,3, le peroxyde d'hydrogène instable a déjà commencé fortement son auto-décomposition, et l'allure de la courbe de réduction est très différente de celle obtenue au pH de l'eau de rivière artificielle. L'étude de la réduction de H₂O₂ en fonction du pH permet de comprendre l'allure des courbes de polarisation cathodique dans la solution « réactifs enzymatiques » et de conclure définitivement à l'identité de la réaction n°1 et de la réduction du peroxyde d'hydrogène.

Par ailleurs, la modification de la couche d'oxydes au contact de la solution « réactifs enzymatiques » engendre une légère augmentation du courant de réduction des oxydes, mais cette différence n'apparaît qu'aux potentiels inférieurs à -0,4 V/ECS et ne peut avoir d'incidence sur le potentiel de corrosion libre.

Ainsi, le rôle joué par le peroxyde d'hydrogène dans le phénomène d'augmentation de E_{corr} semble primordial. Sa réduction pouvant s'étendre entre -600 et +150 mV/ECS entraîne une augmentation du courant (en valeur absolue) à faible polarisation cathodique.

5.4.3 Identification de la réduction n°2

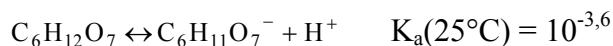
Cette partie est basée sur l'étude des réactions cathodiques en présence d'acide gluconique.

5.4.3.1 Réactions cathodiques en présence d'acide gluconique

L'évolution du potentiel de corrosion libre et du courant cathodique dans la solution « réactifs enzymatiques » est due à la présence du peroxyde d'hydrogène et de l'acide gluconique. Le rôle de H₂O₂ vient d'être précisé. Dans cette partie, l'influence de l'acide gluconique va être considérée. En particulier, le lien éventuel entre la réduction n°2 et l'acide gluconique va être étudié, à l'aide de courbes de polarisation cathodique et de chronoampérométries.

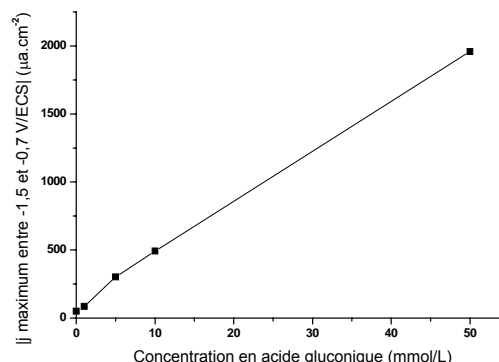
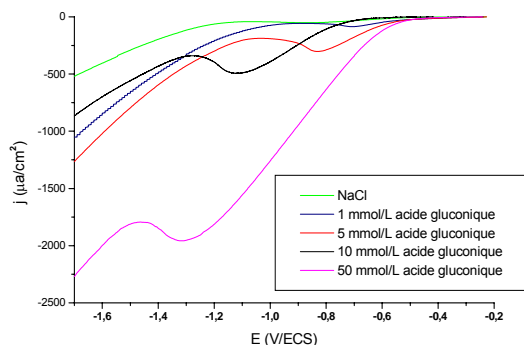
Pour rappel, la réduction n°2 se fait dans la solution « réactifs enzymatiques » autour de -1,1 V/ECS, et le courant du palier de cette réduction augmente avec l'activité de la GOD.

Des courbes intensité-potential ont été réalisées sur des échantillons d'acier 304L immergés dans des solutions d'eau de rivière artificielle additionnées de différentes concentrations d'acide gluconique. Le tracé de ces courbes est visible sur la figure 131. La concentration en acide gluconique a une influence sur le courant cathodique entre -1,5 et -0,5 V/ECS. En effet, le courant cathodique est beaucoup plus important dans cette gamme de potentiels lorsque l'acide est présent en solution. L'introduction d'acide gluconique ne modifie pas la concentration en oxygène dissous, par conséquent cette augmentation du courant ne peut être liée à une modification de la réduction de l'oxygène. Il apparaît sur la figure 131-b que le maximum local du courant cathodique augmente linéairement avec la concentration en acide gluconique. L'espèce oxydante qui est ici réduite est liée à la présence de ce composé. Cette réduction est donc la réduction des protons H⁺ provenant de la dissociation de l'acide :



La réduction de ces protons se fait dans des potentiels comparables à la réduction n°2 dans la solution « réactifs enzymatiques ». Les chronoampérométries réalisées sur des échantillons d'acier 304L polarisés à -1,1 V/ECS montrent d'ailleurs que le courant cathodique à cette valeur de potentiel augmente en valeur absolue lorsque la concentration en acide gluconique augmente (figure 132).

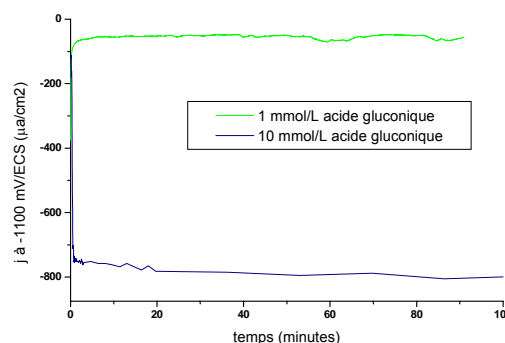
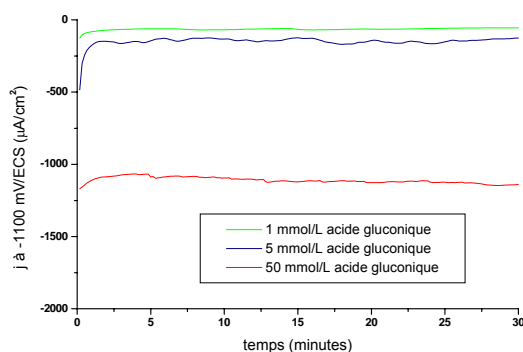
Le courant du palier de la réduction n°2 augmente avec l'activité de la GOD, et le courant du palier de la réduction des protons issus de la dissociation de l'acide gluconique augmente avec la concentration en acide gluconique. Or la concentration en acide gluconique croît avec l'activité de la GOD (cf. figure 77). La réduction des protons provenant de la dissociation de l'acide gluconique est donc très vraisemblablement la réduction n°2. Toutefois, pour pouvoir conclure à l'identité des deux réductions, il faut évaluer quantitativement les contributions de la réduction de l'oxygène et de la réduction des oxydes du film passif.



a- Depuis E_{corr} jusqu'à -1,7 V/ECS

b- Valeurs absolues de la densité de courant maximale entre -1,5 et -0,7 V/ECS

Figure 131 : courbes intensité-potential côté cathodique réalisées sur des échantillons d'acier 304L immergés en eau de rivière artificielle, sans ajout et 48h après ajout de 1, 5, 10 ou 50 mmol/L d'acide gluconique (5 mV/s)



a- Echantillons d'acier 304L

b- Echantillons d'acier 254SMO

Figure 132 : chronoampérométries réalisées à -1,1 V/ECS sur des échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de rivière artificielle, 48 heures après ajout de différentes concentrations d'acide gluconique

5.4.3.2 Contribution de la réduction de l'oxygène dissous à la réduction n°2

L'électrolyte considéré ici est la solution « réactifs enzymatiques ».

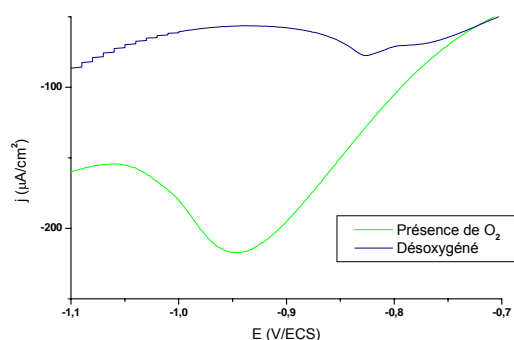
Il a été montré précédemment que la réduction de l'oxygène dissous se fait depuis -0,4 jusqu'à -1,1 V/ECS lors d'une polarisation cathodique. Il est donc attendu que le courant de réduction de O₂ apparaisse entre -1,1 et -0,7 V/ECS, dans la gamme de potentiels de la réduction n°2. Pour exclure une modification de la réduction de O₂ comme source potentielle d'augmentation du courant cathodique dans ce domaine de potentiels dans la solution « réactifs enzymatiques », le raisonnement du paragraphe 7.15.2 est repris ici. Des courbes de polarisation cathodique et des chronoampérométries à -1,1 V/ECS sont réalisées en solution « réactifs enzymatiques » fortement appauvrie en oxygène.

La comparaison entre le courant cathodique en solution « réactifs enzymatiques » usuelle et le courant cathodique dans la solution « réactifs enzymatiques » fortement appauvrie en oxygène (par bullage pendant 30 minutes de N₂, puis maintien d'un ciel d'azote pendant la durée de l'expérience) permet d'évaluer la contribution du courant de réduction de O₂ dans la réduction n°2. Les résultats sont présentés pour les nuances 304L et 316L ; ils sont identiques sur l'acier 254SMO.

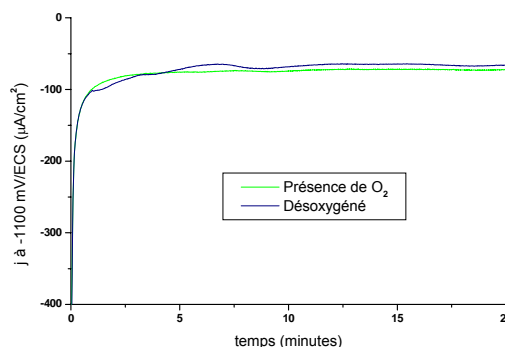
➤ Acier 304L

Les expériences menées sur les échantillons d'acier 304L montrent que la réduction de l'oxygène dissous se fait manifestement depuis -0,7 jusqu'à -1,1 V/ECS. La densité de courant est en effet beaucoup plus faible dans cet intervalle de potentiels lorsque la solution est fortement appauvrie en oxygène (figure 133-a). La réduction de l'oxygène se fait donc dans la gamme de potentiels de la réduction n^o2. Toutefois, le courant cathodique en l'absence d'oxygène dissous est non négligeable dans toute la gamme de potentiels de la réduction n^o2.

Les résultats de chronoampérométrie (figure 133-b) montrent que l'influence de la désoxygénation de la solution sur le courant stationnaire à -1,1 V/ECS n'est pas très importante. Il y a donc à -1,1 V/ECS une réduction autre que celle de l'oxygène dissous.



a- Courbe intensité-potential depuis -0,7 jusqu'à -1,1 V/ECS (5 mV/s)

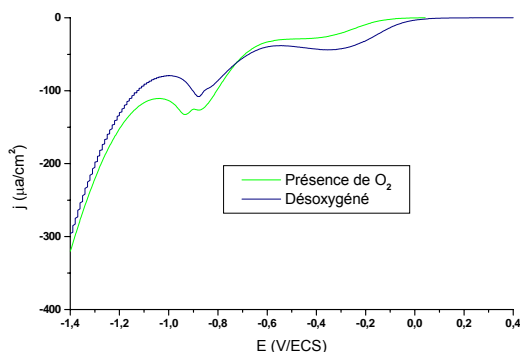


b- Polarisation à -1,1 V/ECS

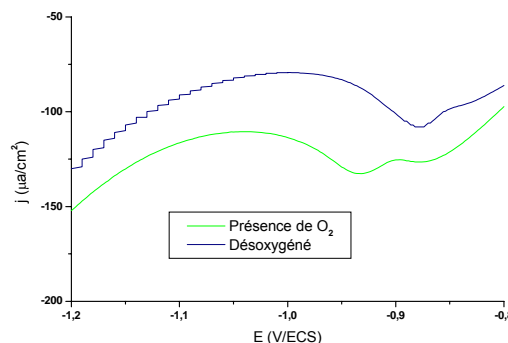
Figure 133 : courbes intensité-potential côté cathodique et chronoampérométries à -1,1 V/ECS réalisées sur échantillons d'acier 304L immergés depuis 48 heures dans la solution « réactifs enzymatiques », avec et sans désoxygénation réalisée avant polarisation

➤ Acier 316L

De manière semblable à l'acier 304L, le courant cathodique est plus faible entre -1,1 et -0,7 V/ECS lorsque la solution est fortement appauvrie en oxygène (figure 134-b). Ceci confirme que la réduction de O₂ a lieu dans cet intervalle de potentiels. Toutefois, le courant cathodique n'est pas uniquement dû à la réduction de l'oxygène dissous, puisqu'il prend une valeur non négligeable dans la solution fortement appauvrie en O₂. Une espèce oxydante autre que l'oxygène dissous, pouvant être les protons issus de la dissociation de l'acide gluconique, est réduite.



a- Depuis E_{corr} jusqu'à -1,4 V/ECS



b- Depuis -0,8 jusqu'à -1,4 V/ECS

Figure 134 : courbes intensité-potential côté cathodique réalisées sur des échantillons d'acier 316L immergés depuis 48 heures dans la solution « réactifs enzymatiques », avec et sans désoxygénation réalisée avant polarisation (5 mV/s)

➤ Synthèse

La réduction de l'oxygène dissous se fait dans le même domaine de potentiels que la réduction n°2, entre -1,1 et -0,7 V/ECS. Toutefois, la contribution du courant de la réduction de O₂ dans le courant de la réduction n°2 est minoritaire. La réduction n°2 ne peut donc pas être attribuée à l'oxygène dissous. Une autre espèce oxydante est réduite entre -1,1 et -0,7 V/ECS. Il peut s'agir de la réduction des protons issus de la dissociation de l'acide gluconique.

5.4.3.3 Contribution de la réduction des oxydes du film passif à la réduction n°2

La présence d'acide gluconique en solution entraîne des modifications dans la couche d'oxydes (enrichissement en chromine). Ces modifications du film passif pourraient provoquer des variations du courant de réduction des oxydes, ce qui pourrait se ressentir dans la gamme de potentiels de la réduction n°2.

Le tracé de chronoampérométries réalisées à une polarisation de -1,1 V/ECS sur des échantillons immergés dans une solution d'eau de rivière artificielle additionnée d'acide gluconique avant et après repolissage (pour diminuer fortement la contribution du courant de réduction des oxydes du film passif) est donné sur la figure 135. Quelle que soit la concentration en acide gluconique dans la solution, le courant stationnaire est à peu près égal avant et après le polissage de la surface. Le courant de réduction des oxydes semble être négligeable. La mise en contact des échantillons d'acier inoxydable avec une solution d'acide gluconique n'entraîne pas d'augmentation notable du courant de réduction des oxydes constitutifs de la couche passive.

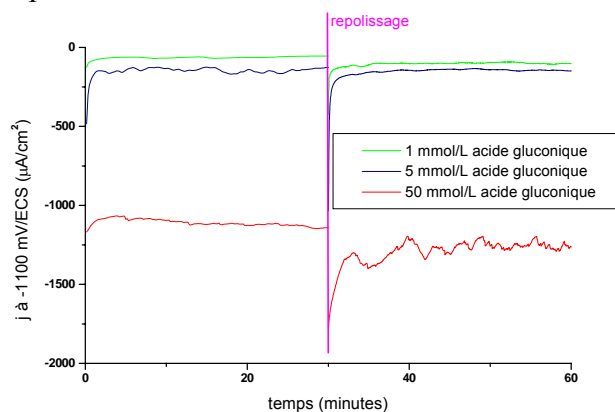


Figure 135 : chronoampérométries à -1,1 V/ECS sur des échantillons d'acier 304L immergés depuis 48 heures en eau de rivière artificielle, contenant différentes concentrations d'acide gluconique, avec effet du repolissage

5.4.3.4 Synthèse

La réduction n°2 ne fait pas intervenir la réduction des oxydes du film passif. Une partie du courant de la réduction n°2 est due à la réduction de l'oxygène, mais la majeure partie du courant est imputable à la réduction des protons issus de la dissociation de l'acide gluconique.

5.4.4 Réactions cathodiques en présence des produits enzymatiques

Après avoir étudié séparément les rôles du peroxyde d'hydrogène et de l'acide gluconique dans le phénomène d'augmentation du courant cathodique, l'effet conjugué de ces deux composés va être considéré. Pour cela, deux échantillons d'acier 316L ont été immergés pendant 24 heures dans deux solutions d'eau de rivière artificielle, à la suite de quoi 2 mmol/L de H₂O₂ et 1 mmol/L d'acide gluconique ont été ajoutées successivement (dans les deux ordres possibles). 48 heures séparent les deux ajouts. Des courbes de polarisation cathodique ont alors été tracées. Elles sont comparées sur la figure 136 avec la courbe intensité-potentiel côté cathodique obtenue dans la solution « réactifs enzymatiques » (notée 100 u/L GOD).

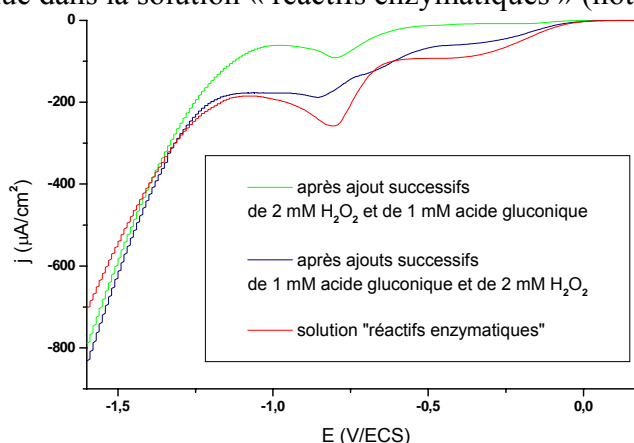


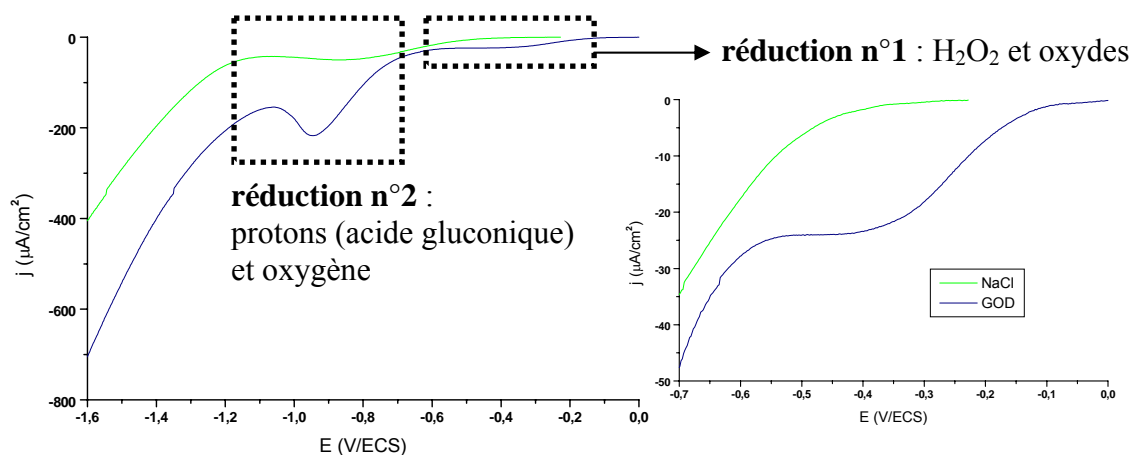
Figure 136 : courbes intensité-potentiel réalisées sur des échantillons d'acier 316L immergés en eau de rivière artificielle, après ajouts successifs (2 ordres possibles) de 2 mmol/L de H₂O₂ et de 1 mmol/L d'acide gluconique, ainsi qu'après ajout de 20 mmol/L de glucose et de 100 u/L de GOD (5 mV/s)

Le courant cathodique dans la solution « réactifs enzymatiques » (100 u/L de GOD et 20 mmol/ de glucose) est bien modélisé par l'ajout successif d'acide gluconique puis de peroxyde d'hydrogène. Le milieu du palier de la réduction de H₂O₂ (réduction n°1) est compris entre -0,45 et -0,4 V/ECS dans les deux solutions. La concentration du peroxyde d'hydrogène en solution, évaluée par la mesure du courant limite de réduction sur le plateau de diffusion, est sensiblement identique dans les deux milieux. La réduction des protons provenant de l'acide gluconique est aussi retrouvée entre -1,1 et -0,7 V/ECS.

Dans le cas où H₂O₂ est introduit avant l'acide gluconique, la polarisation cathodique est effectuée 96 heures après l'introduction du peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est dans une solution de pH acide (4,2 environ) depuis 48 heures. Ces deux facteurs permettent d'expliquer la courbe de la figure 136, qui indique que H₂O₂ est déjà très fortement dégradé. La concentration qui subsiste en solution et le courant limite de réduction à -0,45 V/ECS sur le plateau de diffusion sont très faibles.

5.4.5 Synthèse

Le courant cathodique d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans une solution d'eau de rivière artificielle est plus élevé (à tous les potentiels) lorsque la glucose-oxydase et le glucose sont présents dans la solution. L'introduction des deux réactifs enzymatiques génère l'apparition de deux nouvelles réductions, notées n°1 et n°2 sur la figure 137 (courbe de polarisation cathodique sur échantillons d'acier 304L, avec présence ou non des réactifs enzymatiques dans la solution).



- La réduction n°1 est la réduction du peroxyde d'hydrogène, qui se fait entre -0,6 et 0,1V/ECS au pH acide de la solution « réactifs enzymatiques », inférieur à une valeur-seuil proche de 4.
La réduction des oxydes du film passif se fait entre -0,8 et -0,4V/ECS. La modification de ces oxydes au contact des produits enzymatiques entraîne une légère augmentation du courant de leur réduction, mais à des potentiels trop éloignés de E_{corr} pour avoir une influence sur sa valeur. Le courant de la réduction n°1 est très majoritairement le courant de réduction de H₂O₂.
- La réduction n°2 est la réduction des protons libérés par la dissociation de l'acide gluconique, qui se fait entre -1,1 et -0,7 V/ECS.
La réduction de l'oxygène dissous a lieu dans ce domaine de potentiels. Toutefois, ni la variation de la concentration en oxygène (plus faible dans la solution « réactifs enzymatiques » que dans l'eau de rivière artificielle à 48 heures) ni l'évolution de la couche passive ne peut expliquer l'augmentation du courant cathodique. Le courant de la réduction n°2 est très majoritairement le courant de réduction des protons provenant de l'acide gluconique.

L'augmentation de E_{corr} dans la solution « réactifs enzymatiques » est due à la réduction n°1, c'est-à-dire à la réduction du peroxyde d'hydrogène. En effet, cette réduction se fait à des potentiels plus élevés que le potentiel de corrosion libre initial (elle peut débuter à des valeurs de potentiel aussi élevées que +150 mV/ECS), ce qui a pour conséquence une augmentation de E_{corr} . Le peroxyde d'hydrogène apparaît comme le composé « dangereux » pour le métal dans le cadre du modèle enzymatique.

5.4.6 Réactions cathodiques en eau de rivière artificielle avec électrode tournante

Cette partie du travail a pour but de voir l'effet du transport de masse sur la réduction du peroxyde d'hydrogène (n°1) et sur la réduction des protons issus de la dissociation de l'acide gluconique (n°2), ainsi que d'étudier la cinétique de ses réactions. Un montage d'électrode tournante est utilisé afin de contrôler la diffusion à proximité de la surface de l'échantillon.

Des courbes de polarisation (à différentes vitesses de balayage) et des chronoampérométries sont réalisées avec l'électrode tournante. Les courbes de polarisation ne donnent pas de valeurs stationnaires mais permettent de choisir une valeur de potentiel à appliquer durant les

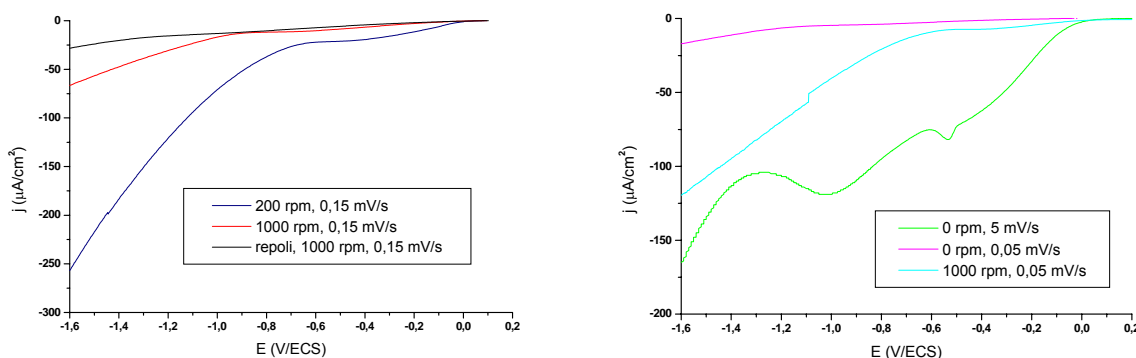
expériences de chronoampérométrie. Ces dernières permettent de mesurer des valeurs stationnaires de courant. Elles sont effectuées à différentes vitesses de rotation ; il paraît préférable d'appliquer des vitesses de rotation décroissantes, afin d'éviter tout problème d'homogénéisation de la solution provoquant des artefacts transitoires en début de mesure.

Les échantillons sont immergés pendant 48 heures dans la solution « réactifs enzymatiques », puis les polarisations sont appliquées et les mesures effectuées. Les résultats ne sont indiqués que pour la nuance 304L et peuvent être étendus aux deux autres nuances.

La figure 138 indique le tracé de courbes intensité-potential côté cathodique sur des échantillons d'acier 304L.

Le palier de réduction du peroxyde d'hydrogène est retrouvé, avec un potentiel central compris entre -0,5 et -0,4 V/ECS. Seule la courbe correspondant à une vitesse de balayage très lente et à une vitesse de rotation nulle (figure 138-b, 0,05 mV/s, 0 rpm) ne présente pas ce palier de réduction. Si, sur la figure 138-b, la valeur du courant sur le palier de diffusion augmente en valeur absolue avec la vitesse de rotation (à vitesse de balayage égale), les courbes de la figure 138-a montrent que la relation entre le courant du palier de diffusion et la vitesse de rotation n'est pas si simple : le courant à 1000 rpm (-11,4 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$) est plus faible en valeur absolue que le courant à 200 rpm (-21,6 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$). La relation de Levich n'est pas suivie.

La figure 138-a permet aussi de montrer à nouveau qu'au contact de la solution « réactifs enzymatiques », le courant de réduction des oxydes du film passif augmente légèrement (le courant cathodique sur l'échantillon immergé depuis 48 heures est supérieur en valeur absolue au courant cathodique sur l'échantillon repoli).



a- Vitesse de balayage : 0,15 mV/s

b- Vitesses de balayage : 5 et 0,05 mV/s

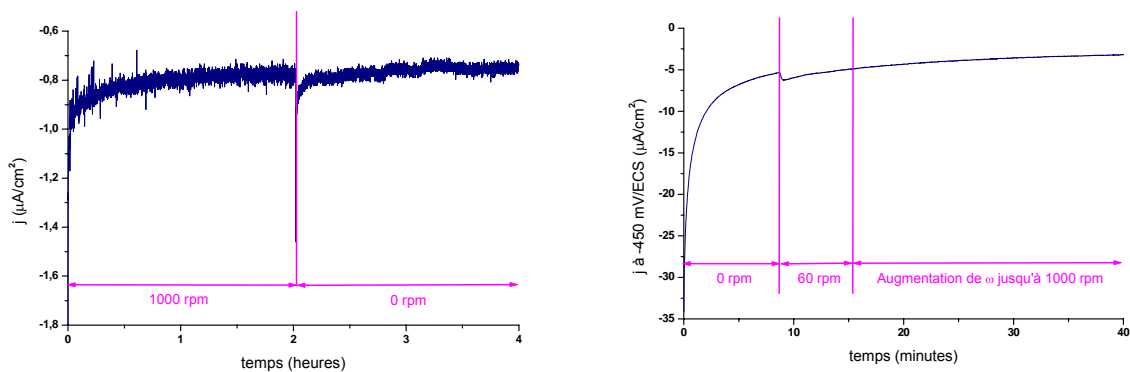
Figure 138 : courbes intensité-potential côté cathodique réalisées sur des échantillons d'acier 304L immergés depuis 48 heures dans la solution « réactifs enzymatiques », en électrode tournante

En revanche, la vague de réduction des protons provenant de l'acide gluconique n'est pas retrouvée sur toutes les courbes. Elle n'est visualisée que pour la vitesse de balayage la plus rapide (5 mV/s). Cette vague de réduction des protons semble être l'effet d'un balayage trop rapide en potentiel.

Dans le cas d'une vitesse de balayage élevée, les protons adsorbés à la surface de l'échantillon sont réduits très rapidement, créant l'apparition d'un « pic » de réduction. Puis le phénomène de diffusion entre en jeu, générant un flux stationnaire d'ions H⁺ parvenant jusqu'à l'échantillon. La vitesse de balayage est dans ce cas trop élevée par rapport au temps caractéristique de diffusion. En revanche, lorsque le balayage est suffisamment lent, la réduction de tous les protons se fait simultanément, et aucun « pic » de réduction ne se distingue. Une vitesse de balayage lente permet de ne pas distinguer la réduction des protons adsorbés et la réduction des protons de la solution.

Les chronoampérométries réalisées à -0,45 V/ECS sont visibles sur la figure 139. Elles montrent que le courant à cette valeur de potentiel ne varie pas avec la vitesse de rotation de l'électrode. Ce résultat n'était pas attendu : à -0,45 V/ECS, le courant est principalement dû à la réduction du peroxyde d'hydrogène, donc une augmentation du transport de matière jusqu'à la surface (par augmentation de la vitesse de rotation) devrait entraîner une augmentation du courant, ce qui n'est manifestement pas le cas ici.

Ceci prouve que la réduction de H₂O₂ n'est pas contrôlée par le transport de masse. Le contrôle est cinétique, la réaction électrochimique de réduction du peroxyde est donc plus lente que le phénomène de diffusion.



a- 2 heures à 1000 rpm,

b- Augmentation progressive

puis arrêt de la rotation

de la vitesse de rotation

Figure 139 : chronoampérométries réalisées à -0,45 V/ECS sur des échantillons d'acier 304L immergés depuis 48 heures dans la solution « réactifs enzymatiques », en électrode tournante

5.4.7 Synthèse générale : réactions cathodiques

L'augmentation du potentiel de corrosion libre dans la solution « réactifs enzymatiques » et dans une solution de peroxyde d'hydrogène est la conséquence de l'augmentation (en valeur absolue) du courant à faible polarisation cathodique, due à la réduction du peroxyde d'hydrogène. Cette réduction peut en effet se faire à des potentiels aussi élevés que +150 mV/ECS. La présence de l'oxydant H₂O₂ en solution est le facteur principal de l'augmentation de E_{corr}. Combinée à un pH acide, elle implique une hausse du potentiel d'abandon de plusieurs centaines de mV.

5.5 Effet des réactifs enzymatiques sur le comportement anodique des aciers inoxydables

L'effet des différents composés mis en jeu dans le modèle enzymatique sur le comportement anodique des aciers inoxydables est étudié dans cette partie.

Pour cela, des courbes de polarisation anodique sont effectuées sur des échantillons des trois nuances d'acier inoxydable. Des courbes de polarisation galvanostatique à 10 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ sont aussi tracées.

5.5.1 Courbes intensité-potentiel côté anodique en présence des réactifs enzymatiques

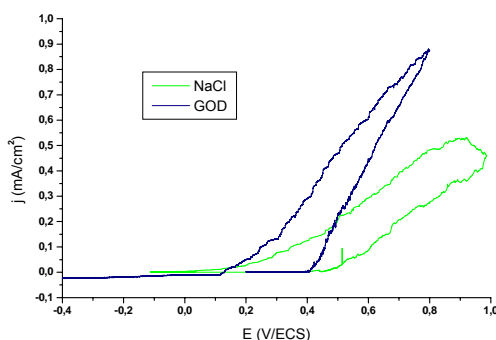
L'effet de l'ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose sur le comportement anodique des aciers inoxydables immergés en eau de rivière artificielle est visualisé par le tracé de courbes intensité-potentiel (figures 140-142).

➤ Acier 304L

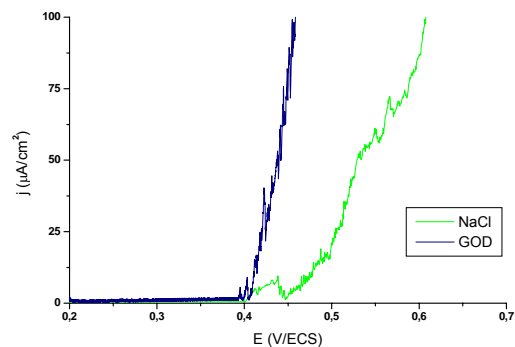
Dans les deux solutions, l'apparition d'un hystérésis sur la courbe de polarisation anodique indique le développement de la corrosion par piqûres. La teneur en ions chlorures est suffisante pour générer l'apparition de piqûres lorsque le potentiel de l'échantillon est suffisamment élevé.

Dans la solution d'eau de rivière artificielle, le potentiel de piqûre E_{piq} est compris entre 380 et 400 mV/ECS, et le potentiel de repassivation E_{rep} entre -10 et 10 mV/ECS. Au dessus de 400 mV/ECS, la pente de la courbe intensité-potentiel est d'environ $848 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{V}^{-1}$.

Dans la solution « réactifs enzymatiques », le potentiel de piqûre est compris entre 380 et 400 mV/ECS : la présence de l'enzyme et de son substrat n'a pas d'influence sur la valeur du potentiel de piqûre. Le potentiel de repassivation est d'environ 120 mV/ECS, il a donc augmenté d'une centaine de mV sous l'effet de la GOD et du glucose. La pente de la courbe intensité-potentiel dans le domaine de la corrosion par piqûres ($E > 400$ mV/ECS) est plus élevée dans la solution « réactifs enzymatiques » que dans la solution de NaCl. Elle est en effet d'environ $2251 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{V}^{-1}$ en présence des réactifs enzymatiques.



a- Courbe aller-retour



b- Détermination du potentiel de piqûre E_{piq}

(zoom entre 0,2 et 0,7 V/ECS)

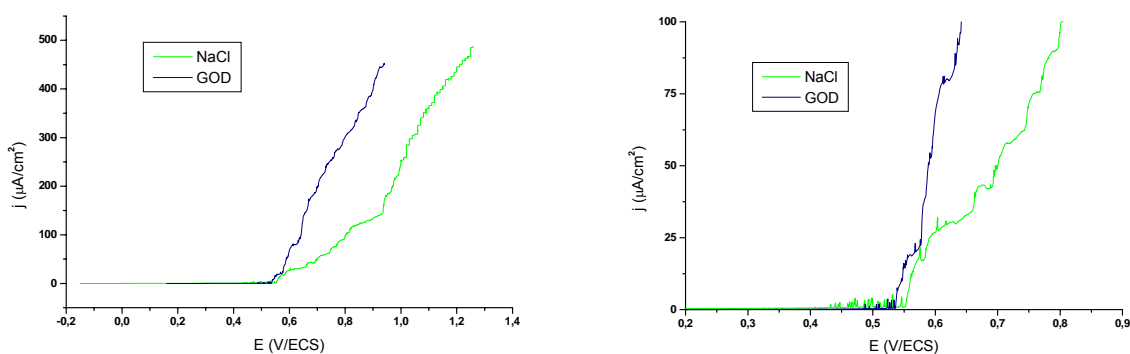
Figure 140 : courbes de polarisation anodique d'échantillons d'acier 304L immergés en eau de rivière artificielle, dans un cas sans aucun ajout dans la solution, dans l'autre cas 48h après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose (0,15 mV/s)

Ainsi, les réactifs enzymatiques ne modifient pas la valeur du potentiel de piqûre, mais affectent fortement le potentiel de repassivation (augmentation de 100 mV) et la pente de la courbe intensité-potential au-dessus de E_{piq} (forte augmentation). A potentiel égal, la quantité de matière dissoute est plus importante dans la solution « réactifs enzymatiques ». La repassivation semble plus facile en présence de la GOD.

➤ Acier 316L

Dans la solution d'eau de rivière artificielle, le potentiel de piqûre est d'environ 550 mV/ECS. Cette valeur n'est pas modifiée significativement lorsque l'enzyme et le glucose sont introduits dans la solution, puisque la valeur de E_{piq} est alors 540 mV/ECS. Les réactifs enzymatiques n'ont pas d'influence notable sur le potentiel de piqûre de l'acier 316L.

En revanche, la pente de la courbe intensité-potential au-delà du potentiel de piqûre, déterminée à partir de la figure 141-b, varie fortement en fonction de la présence ou non des réactifs enzymatiques. Elle n'est que de $721 \mu A \cdot cm^{-2} \cdot V^{-1}$ dans la solution d'eau de rivière artificielle, mais atteint $1133 \mu A \cdot cm^{-2} \cdot V^{-1}$ dans la solution contenant l'enzyme et le glucose.



a- Depuis E_{corr} jusqu'à 1,4 V/ECS

b- Détermination du potentiel de piqûre E_{piq}
(zoom entre 0,2 et 0,9 V/ECS)

Figure 141 : courbes de polarisation anodique d'échantillons d'acier 316L immergés en eau de rivière artificielle, dans un cas sans aucun ajout dans la solution, dans l'autre cas 48h après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose (0,15 mV/s)

La présence de GOD et de glucose dans la solution ne modifient pas le potentiel de piqûre, mais induit une augmentation de la pente de la courbe intensité-potential aux potentiels supérieurs à E_{piq} . Comme pour l'acier 304L, à potentiel égal, la quantité de matière dissoute est plus élevée dans la solution « réactifs enzymatiques » que dans la solution de NaCl.

➤ Acier 254SMO

Le tracé de la courbe de polarisation anodique aller-retour d'échantillons d'acier 254SMO immergés en eau de rivière artificielle ne présente pas de boucle hystérésis. L'aller et le retour sont confondus. Par conséquent, l'acier 254SMO n'est pas sujet à la corrosion par piqûres dans ce milieu peu chloruré. Il n'y a pas suffisamment de chlorures pour avoir une corrosion par piqûres.

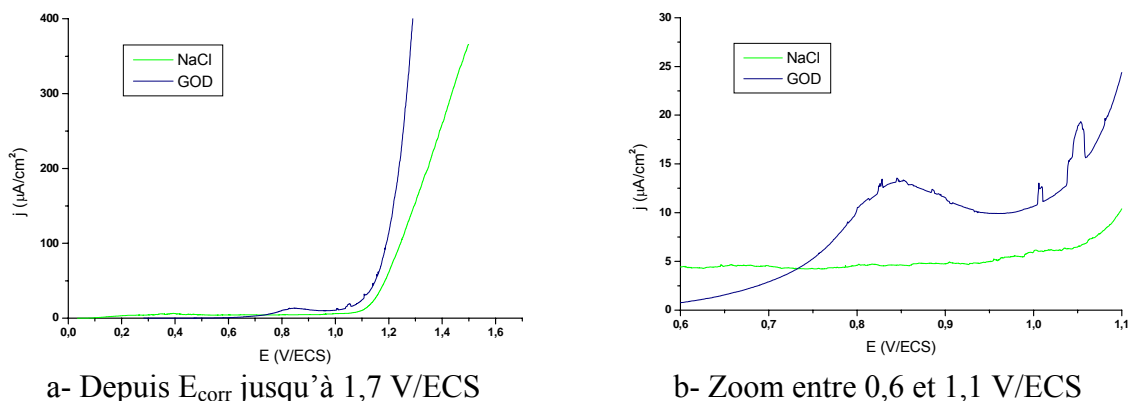
Si le tracé de la courbe intensité-potential ne peut permettre de déterminer une valeur de E_{piq} (qui n'existe pas), il peut toutefois nous donner des indications sur la couche d'oxydes, et sur son éventuelle modification par la solution « réactifs enzymatiques ».

Dans les deux solutions, la densité de courant augmente fortement dès que le potentiel dépasse 1,1 V/ECS. Cette augmentation est due à l'évolution de l'oxygène : au-dessus de cette valeur de potentiel, l'oxydation de l'eau en oxygène apparaît.

Les deux courbes diffèrent notablement entre 0,7 et 0,95 V/ECS. Dans la solution contenant la GOD et le glucose, une augmentation de la densité de courant apparaît, il se fait donc dans cet intervalle de potentiels une oxydation qui est beaucoup plus quantitative que dans l'eau de rivière artificielle, où aucun pic d'oxydation n'apparaît dans l'intervalle de potentiels considéré. Ces valeurs de potentiel sont caractéristiques de l'oxydation du chrome(III) en chrome(VI). Cette oxydation est plus importante dans la solution « réactifs enzymatiques » que dans la solution d'eau de rivière artificielle.

Ceci est cohérent avec les caractérisations effectuées par photoélectrochimie et XPS, qui ont montré que la couche d'oxydes formée sur un échantillon d'acier 254SMO immergé dans la solution « réactifs enzymatiques » est plus enrichie en chrome que la couche d'oxydes formée en eau de rivière artificielle. En XPS, le pourcentage total de chrome dans la couche d'oxydes passe de 39,7 % en eau de rivière artificielle à 52,7 % dans la solution « réactifs enzymatiques ». Cette augmentation de la teneur en chrome est aussi visualisée sur le tracé des courbes de polarisation anodique, où le courant d'oxydation du chrome(III) en chrome(VI) est plus élevé dans la solution « réactifs enzymatiques » que dans l'eau de rivière artificielle.

L'oxydation du chrome(III) en chrome(VI) ne peut être visualisée sur les courbes réalisées sur des échantillons d'acier 304L et 316L (figures 140 et 141), car sur ces échantillons le potentiel de piqûre est inférieur au potentiel de l'oxydation du chrome(III). Par conséquent, la corrosion par piqûres se développe avant que l'oxydation du chrome(III) n'ait pu avoir lieu.



a- Depuis E_{corr} jusqu'à 1,7 V/ECS

b- Zoom entre 0,6 et 1,1 V/ECS

Figure 142 : courbes de polarisation anodique d'échantillons d'acier 254SMO immergés en eau de rivière artificielle, dans un cas sans aucun ajout dans la solution, dans l'autre cas 48h après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose (0,15 mV/s)

5.5.2 Courbes de polarisation galvanostatique en présence des réactifs enzymatiques

Le comportement anodique des échantillons d'acier inoxydable a aussi été examiné en réalisant des polarisations galvanostatiques [233-235]. Dans ces expériences, une densité de courant de 10 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ est imposé à l'échantillon, et le potentiel est mesuré au cours du temps. Les évolutions du potentiel permettent d'étudier l'éventuel développement de la corrosion par piqûres. Les résultats obtenus sont visible sur les figures 143-145.

➤ Acier 304L

Dans les deux solutions, le potentiel de déstabilisation du film passif E_{dest} est compris entre 530 et 545 mV/ECS. Ce potentiel, qui est (comme le potentiel de piqûre) caractéristique de la résistance de la couche d'oxydes à la corrosion par piqûres, n'est pas modifié lorsque la glucose-oxydase et le glucose sont ajoutés dans la solution d'eau de rivière artificielle.

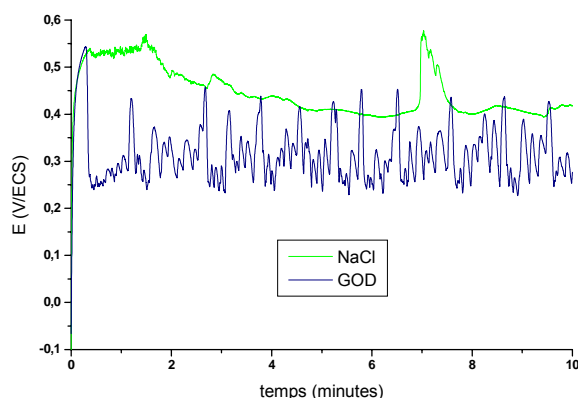


Figure 143 : chronopotentiométries réalisées sur des échantillons d'acier 304L polarisés galvanostatiquement à $10 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dans une solution d'eau de rivière artificielle, dans un cas sans aucun ajout dans la solution, dans l'autre cas 48h après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose

Les résultats obtenus par cette méthode permettent de confirmer les résultats obtenus par le tracé des courbes de polarisation anodique, à savoir que l'introduction des réactifs enzymatiques ne favorise pas l'amorçage de la corrosion par piqûres.

➤ Acier 316L

Dans la solution d'eau de rivière artificielle, le potentiel de déstabilisation est d'environ 600 mV/ECS. La valeur de E_{dest} est plus difficile à déterminer avec précision dans la solution « réactifs enzymatiques », en raison de fortes instabilités de potentiel durant les premiers temps de la polarisation galvanostatique. E_{dest} semble être compris entre 570 et 680 mV/ECS. Le potentiel de déstabilisation de l'acier 316L, comme le potentiel de piqûre, ne semble pas être modifié par l'ajout de glucose-oxydase et de son substrat.

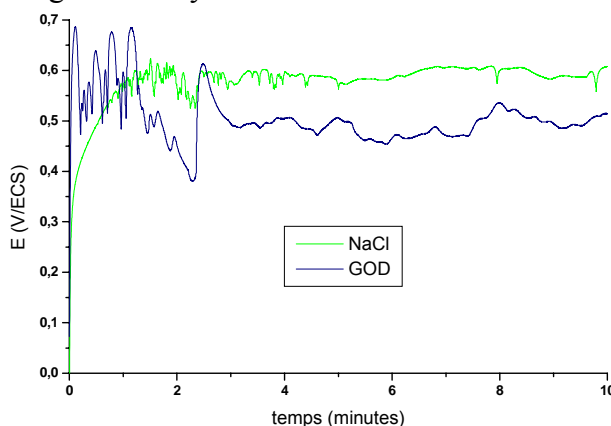


Figure 144 : chronopotentiométries réalisées sur des échantillons d'acier 316L polarisés galvanostatiquement à $10 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dans une solution d'eau de rivière artificielle, dans un cas sans aucun ajout dans la solution, dans l'autre cas 48h après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose

Les résultats de cette polarisation galvanostatique confirment les résultats obtenus par tracé des courbes intensité-potential côté anodique. L'introduction de GOD et de glucose dans la solution d'eau de rivière artificielle ne paraît pas favoriser l'amorçage de la corrosion par piqûres sur l'acier inoxydable 316L.

➤ Acier 254SMO

L'absence d'une chute de potentiel indique l'absence de développement de piqûres. Le potentiel atteint assez rapidement (après 9 minutes) une valeur stable d'environ 1,2 V/ECS dans la solution d'eau de rivière artificielle. Cette valeur de potentiel correspond au potentiel

d'oxydation de l'eau en dioxygène, comme cela a été précisé auparavant lors de l'étude des courbes intensité-potential côté anodique obtenues sur des échantillons d'acier 254SMO. Il est à noter qu'une inflexion de la courbe apparaît à des valeurs proches de 0,8 V/ECS. Cette inflexion est due à une oxydation (quantitativement faible) du chrome(III) en chrome(VI), qui n'était pas visible sur le tracé des courbes intensité-potential.

Dans la solution « réactifs enzymatiques », il faut quasiment 20 minutes pour que le potentiel atteigne une valeur stationnaire proche de 1,05 V/ECS, où se fait l'oxydation de l'eau en oxygène. De plus, l'oxydation du chrome(III) est plus quantitative dans cette solution : en effet, dans les premiers instants de la polarisation galvanostatique, le potentiel augmente très rapidement jusqu'à rester relativement stable dans un intervalle allant de 780 à 830 mV/ECS pendant quelques minutes. Cette stabilisation relative autour de 0,8 V/ECS pendant un temps non négligeable indique qu'une oxydation se produit dans cette gamme de potentiels. Cette évolution est à mettre en parallèle avec le pic d'oxydation observé entre 0,75 et 0,95 V/ECS sur la figure 142. Elle est due à l'oxydation du chrome(III) en chrome(VI). Cette oxydation est beaucoup moins marquée sur la courbe obtenue dans l'eau de rivière artificielle, ce qui témoigne une nouvelle fois de l'enrichissement en chrome de la couche d'oxydes dans la solution « réactifs enzymatiques ».

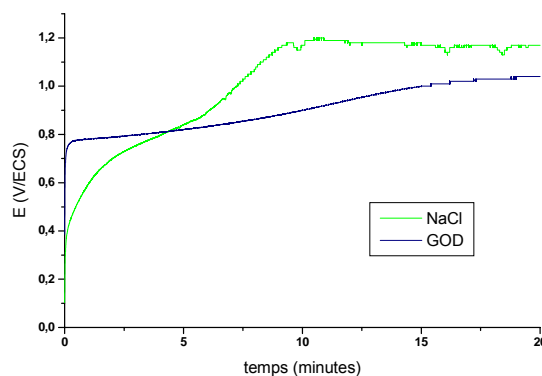
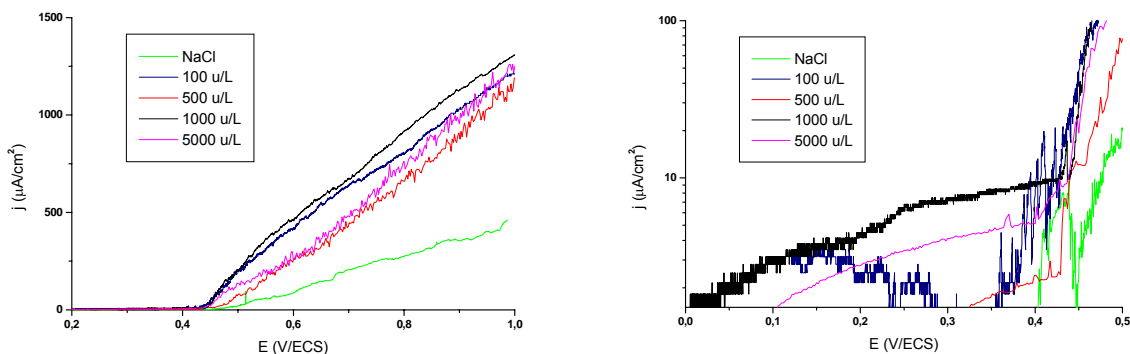


Figure 145 : chronopotentiométries réalisées sur des échantillons d'acier 254SMO polarisés galvanostatiquement à $10 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dans une solution d'eau de rivière artificielle, dans un cas sans aucun ajout dans la solution, dans l'autre cas 48h après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose

5.5.3 Effet de l'activité enzymatique

L'effet de la glucose-oxydase sur le comportement anodique du film passif a pour l'instant été étudié avec une activité enzymatique de 100 u/L. Une expérience complémentaire est réalisée ici afin de voir si des activités enzymatiques différentes peuvent avoir une influence sur le comportement anodique des aciers inoxydables. Des courbes de polarisation anodique ont été tracées sur des échantillons d'acier 304L immergés dans des solutions d'eau de rivière artificielle contenant 20 mmol/L de glucose et différentes activités de glucose-oxydase (figure 146). Dans toutes les conditions expérimentales, le potentiel de piqûre E_{piq} est compris entre 400 et 450 mV/ECS. Il est ici retrouvé que la présence des réactifs enzymatiques n'a pas d'influence sur la valeur du potentiel de piqûre. L'enzyme ne favorise pas l'amorçage de la corrosion par piqûres.

En revanche, toutes les courbes obtenues en présence de l'enzyme ont une pente plus élevée dans le domaine de la corrosion par piqûres ($E > E_{\text{piq}}$) que la courbe obtenue en eau de rivière artificielle sans aucun ajout. Ce résultat a déjà été trouvé pour une activité de GOD de 100 u/L : à potentiel égal, la quantité de matière dissoute est plus élevée lorsque l'enzyme et son substrat sont présents dans la solution.



a- Entre 0,2 et 1 V/ECS

 b- Détermination du potentiel de piqûre E_{piq}
(zoom entre 0 et 0,5 V/ECS)

Figure 146 : courbes de polarisation anodique d'échantillons d'acier 254SMO immergés en eau de rivière artificielle, dans un cas sans aucun ajout dans la solution, dans les autres cas 48h après ajout de 20 mmol/L de glucose et de différentes activités de GOD (0,15 mV/s)

5.5.4 Synthèse

Les aciers inoxydables 304L et 316L peuvent être victimes de corrosion par piqûres dans l'eau de rivière artificielle. En revanche, la teneur en chlorures est trop faible dans cette solution pour que l'acier 254SMO puisse être sujet à la corrosion par piqûres.

- **Effet des réactifs enzymatiques sur le comportement anodique des aciers inoxydables 304L et 316L** : l'introduction de glucose-oxydase et de glucose dans la solution d'eau de rivière artificielle ne modifie pas la valeur du potentiel de piqûre des aciers inoxydables 304L et 316L. En revanche, la quantité de matière dissoute au cours d'un balayage au-dessus de E_{piq} est plus élevée dans la solution « réactifs enzymatique » que dans l'eau de rivière artificielle. A potentiel égal, le volume total de matériau dissous (sans distinction entre les différents modes de propagation, que ce soit selon la normale à la surface ou par un accroissement du nombre de piqûres sur la surface), est plus élevé lorsque l'enzyme et le glucose sont présents dans la solution. L'enzyme ne favorise pas l'amorçage de la corrosion par piqûres (elle a même tendance à faire augmenter le potentiel de repassivation), mais a un rôle amplificateur lors de la propagation des piqûres : elle augmente le volume d'acier inoxydable dissous, une fois la corrosion par piqûres initiée.
- **Effet des réactifs enzymatiques sur le comportement anodique de l'acier inoxydable 254SMO** : l'oxydation du chrome(III) est beaucoup plus quantitative dans la solution « réactifs enzymatiques » que dans l'eau de rivière artificielle. La couche d'oxydes est fortement enrichie en chrome lorsque l'échantillon est en contact avec la solution contenant la GOD et le glucose. Ce résultat confirme les mesures de photocourant et les analyses XPS.

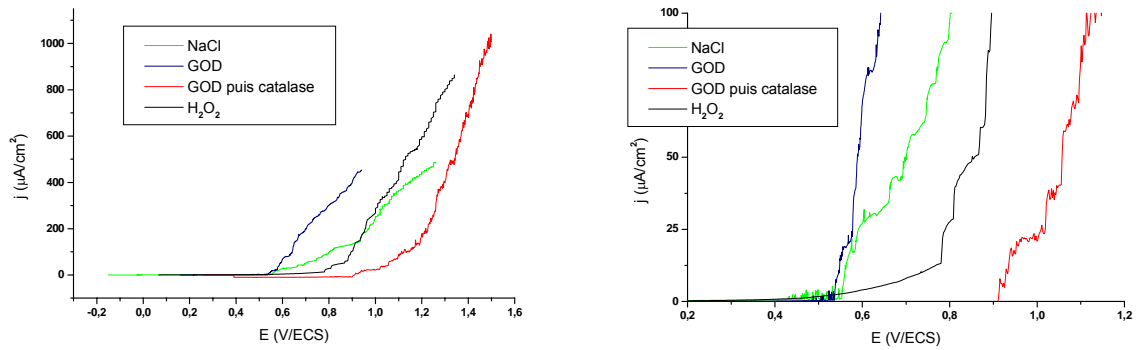
5.5.5 Effet des autres composés sur le comportement anodique des aciers inoxydables

Dans ce paragraphe, l'influence de H₂O₂ et de la catalase sur le comportement anodique des aciers inoxydables est étudiée. Le choix a été fait de s'intéresser plus particulièrement à l'acier inoxydable 316L. En effet, cette nuance présente un potentiel de piqûre, comme le 304L, et l'effet des deux composés sur E_{piq} peut être étudié.

Des courbes de polarisation anodique sont tracées pour des échantillons d'acier 316L immergés en eau de rivière artificielle, dans un premier cas sans aucun ajout, dans un deuxième cas 48 heures après ajout de 20 mmol/L de glucose et de 100 u/L de GOD (solution « réactifs enzymatiques », dans un troisième cas 48 heures après un ajout de 3370 u/L de catalase postérieur à un ajout des réactifs enzymatiques, et dans un dernier cas 48 heures après ajout de 2 mmol/L de peroxyde d'hydrogène. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 147.

- **Catalase** : l'ajout de catalase dans la solution « réactifs enzymatiques » provoque une très forte augmentation du potentiel de piqûre. Celui-ci passe en effet d'environ 540 à 910 mV/ECS. La catalase semble être un excellent inhibiteur de corrosion. Les spectres XPS montrent que la catalase s'adsorbe très facilement sur la surface des supports en acier inoxydable (par-dessus la première couche d'adsorption pouvant dans ce cas contenir des molécules de glucose-oxydase, d'acide gluconique et de glucose). Son adsorption pourrait bloquer une fraction des sites anodiques de dissolution du métal et empêcher le développement de piqûres.
- **H₂O₂** : l'ajout de peroxyde d'hydrogène dans l'eau de rivière artificielle entraîne une augmentation du potentiel de piqûre : celui-ci passe effectivement d'environ 540 à 780 mV/ECS. La présence de H₂O₂ induit une modification de couche d'oxydes qui améliore la résistance de l'acier à la corrosion par piqûres. Les analyses XPS révèlent un enrichissement en fer du film passif au contact d'une solution de peroxyde d'hydrogène. Dans la solution contenant du peroxyde d'hydrogène, le courant anodique est déjà fortement modifié avant la valeur de E_{piq}. En effet, un pic d'oxydation apparaît juste avant le potentiel de piqûre. L'augmentation du courant entre 400 et 750 mV/ECS pourrait être due à l'oxydation du fer(II) en fer(III), plus quantitative dans la solution de peroxyde d'hydrogène que dans les autres solutions. Cette oxydation n'est visible que lorsque le potentiel de piqûre est suffisamment élevé, c'est pourquoi cette oxydation ne peut être vue ni dans l'eau de rivière artificielle ni dans la solution « réactifs enzymatiques », où le potentiel de piqûre est inférieur au potentiel d'oxydation du fer(II) et où la quantité de fer totale dans la couche d'oxydes est relativement faible.

La pente de la courbe intensité-potentiel (au-dessus de E_{piq}) dans la solution de peroxyde d'hydrogène est d'environ 1700 μA.cm⁻².V⁻¹, elle est plus élevée que dans l'eau de rivière artificielle. Comme dans la solution « réactifs enzymatiques », la propagation au sens large (en terme de volume total dissous) est favorisée dans la solution de peroxyde d'hydrogène.



a- Depuis E_{corr} jusqu'à 1,6 V/ECS

b- Entre 0,2 et 1,2 V/ECS

Figure 147 : courbes de polarisation anodique sur des échantillons d'acier 316L immergés dans l'eau de rivière artificielle (NaCl), dans la solution « réactifs enzymatiques » (GOD), dans la solution « réactifs enzymatiques » additionnée de 3370 u/L de catalase (GOD puis catalase), et dans une solution à 2 mmol/L de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (0,15 mV/s)

5.5.6 Synthèse : comportement anodiques

➤ Corrosion par piqûres

Dans l'eau douce artificielle utilisée dans cette étude, les aciers inoxydables 304L et 316L peuvent être dégradés par corrosion par piqûres. La teneur en chlorures est en revanche trop faible pour que l'acier 254SMO soit sujet à cette forme de corrosion.

➤ Action des réactifs enzymatiques

L'ajout de GOD et de glucose dans l'eau de rivière artificielle ne favorise pas l'amorçage de la corrosion par piqûres (pas d'effet notable sur E_{piq}), mais en augmente la « propagation » au sens large (volume dissous plus important). Il semblerait que le potentiel de repassivation soit plus élevé en présence des réactifs enzymatiques, ce qui indiquerait un rétrécissement du domaine d'existence des piqûres métastables. Par ailleurs, la présence de GOD et de glucose semble entraîner un enrichissement en chrome au sein de la couche d'oxydes (au moins sur l'acier 254SMO), visible par l'apparition d'un pic d'oxydation entre 0,75 et 0,95 V/ECS lorsque le potentiel d'apparition est supérieur à ces valeurs.

➤ Action de la catalase

L'ajout de catalase dans la solution « réactifs enzymatiques » entraîne une très forte augmentation de E_{piq} . La catalase semble être un inhibiteur de corrosion très efficace.

➤ Action de H₂O₂

L'ajout de peroxyde d'hydrogène dans l'eau de rivière artificielle améliore la passivité de l'alliage : le potentiel de piqûre est nettement plus élevé lorsque H₂O₂ est présent en solution (augmentation d'environ 250 mV dans le cas de l'acier 316L). La propagation (au sens large) paraît être favorisée dans la solution de peroxyde d'hydrogène.

5.6 Influence des réactifs enzymatiques sur l'impédance du système

Il a été montré auparavant que les réactifs enzymatiques d'une part, les produits enzymatiques (peroxyde d'hydrogène et acide gluconique) d'autre part, ont une influence sur la valeur du potentiel de corrosion libre et sur le courant cathodique. En particulier, la présence de peroxyde d'hydrogène (à une concentration de l'ordre de la mmol/L) modifie suffisamment le courant cathodique à proximité de E_{corr} (c'est-à-dire à de faibles surtensions cathodiques) pour engendrer une forte augmentation du potentiel d'abandon. Le modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase » reproduit correctement le comportement électrochimique des aciers inoxydables en eau de rivière naturelle. La seule différence se situe au niveau de l'évolution de E_{corr} dans la solution « réactifs enzymatiques » : des instabilités de E_{corr} nombreuses et fréquentes perturbent le suivi du potentiel d'abandon, en particulier sur l'acier 304L. Ces instabilités traduisent des instabilités du film passif. Il a été prouvé que cette fragilisation de la couche d'oxydes n'est pas une forme de corrosion par piqûres. Pour pousser plus loin l'investigation de ce phénomène, des mesures d'impédance électrochimique ont été réalisées, afin d'étudier les modifications du film passif en présence des différents composés mis en jeu dans le modèle enzymatique. Les résultats d'impédance qui vont être exposés concernent principalement l'acier inoxydable 304L, la nuance la plus affectée par les instabilités du potentiel d'abandon.

Il est rappelé que lors de la mesure de l'impédance électrochimique d'un système, lorsque la capacité C_{dl} de la double couche est très supérieure à la capacité de la couche d'oxydes (cas général), la capacité mesurée est égale à la capacité du film d'oxydes C_{ox} :

$$C_{\text{dl}} \gg C_{\text{ox}} \Rightarrow C = C_{\text{ox}}$$

La mesure de l'impédance d'un échantillon d'acier inoxydable immergé en eau de rivière artificielle permet de calculer la capacité de la couche d'oxydes qui le recouvre.

5.6.1 Diagrammes d'impédance en présence des enzymes

La spectroscopie d'impédance électrochimique a été utilisée afin d'étudier l'influence de la solution « réactifs enzymatiques » sur le film passif des aciers inoxydables. Le rôle ultérieur de la catalase est aussi analysé par cette technique.

5.6.1.1 Acier 304L

L'électrolyte est ici la solution d'eau de rivière artificielle à 0,3 g/L de NaCl. Les échantillons sont immergés pendant 24 heures dans cette solution (valeur stationnaire de E_{corr} de -51 mV/ECS), puis un diagramme d'impédance « avant ajout de la GOD » est tracé. Ensuite, 100 u/L de GOD et 20 mmol/L de glucose sont ajoutés. Le potentiel de corrosion libre augmente fortement puis présente des instabilités. Deux mesures d'impédance électrochimique sont effectuées, 24 heures ($E_{\text{corr}} = 48$ mV/ECS) et 48 heures ($E_{\text{corr}} = 34$ mV/ECS) après l'ajout des réactifs enzymatiques. Les résultats obtenus sur des échantillons d'acier 304L sont représentés sous la forme d'un diagramme de Nyquist sur la figure 148-a.

Avant l'ajout des réactifs enzymatiques, le diagramme de Nyquist du système électrochimique est une portion de boucle capacitive ayant un diamètre élevé, d'un ordre de

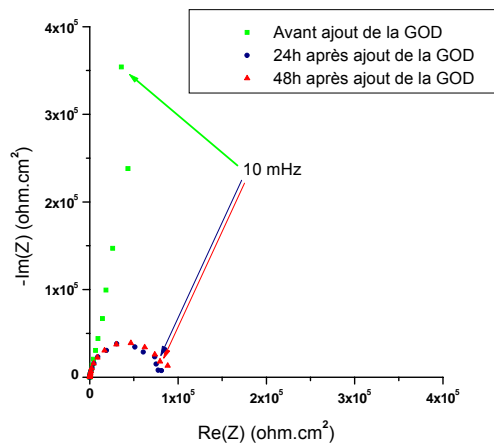
grandeur de plusieurs dizaines de MΩ.cm² (figure –a). Ce comportement est caractéristique d'un métal passif, dont l'impédance a une partie réelle résistive très importante.

Après ajout des réactifs enzymatiques, le diamètre de la boucle capacitive est beaucoup plus faible (environ 80 kΩ.cm²). La diminution du diamètre de la boucle capacitive est supérieure à un facteur 10. Les deux mesures effectuées après ajout de la GOD et du glucose (24 heures et 48 heures) sont sensiblement identiques, et le comportement de l'impédance en présence des réactifs enzymatiques peut être étudié en se limitant aux données acquises à 24 heures.

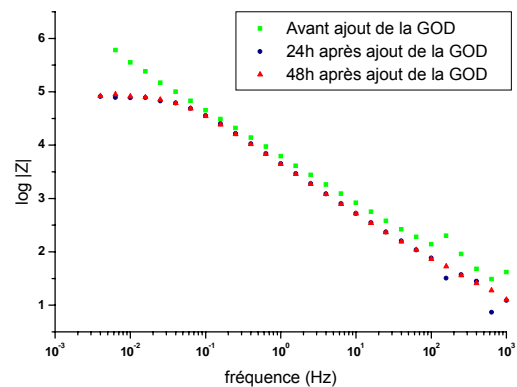
La forte diminution de l'impédance est visible aussi sur les diagrammes de Bode en module et en phase (figure –b et –c). Sur le diagramme de Bode, le module de l'impédance est nettement plus faible aux fréquences inférieures à 60 mHz dans la solution « réactifs enzymatiques ». La phase quant à elle s'éloigne fortement des valeurs proches de -80° mesurée dans la solution de NaCl : elle augmente dès 400 mHz pour terminer entre -9 et -5° à 4 mHz.

L'évolution de la partie imaginaire de l'impédance en fonction de la fréquence en coordonnées logarithmiques est donnée sur la figure –d. Cette représentation permet d'étudier le comportement capacitif du système, en s'affranchissant de la partie résistive (partie réelle de l'impédance). A basse fréquence, la présence de la GOD et de son substrat implique une diminution de la partie imaginaire de l'impédance. Puis, à des fréquences plus hautes, sur une large gamme allant de 100 mHz à 100 Hz, Im(Z) varie linéairement avec la fréquence. L'opposé α de la pente de cette partie linéaire est compris entre 0,87 et 0,91. La partie imaginaire de l'impédance ne se comporte donc pas comme une capacité idéale mais comme un CPE (Constant Phase Element). Autrement dit, la capacité du système présente une dispersion en fonction de la fréquence. Le comportement capacitif est encore de type CPE dans la solution « réactifs enzymatiques ».

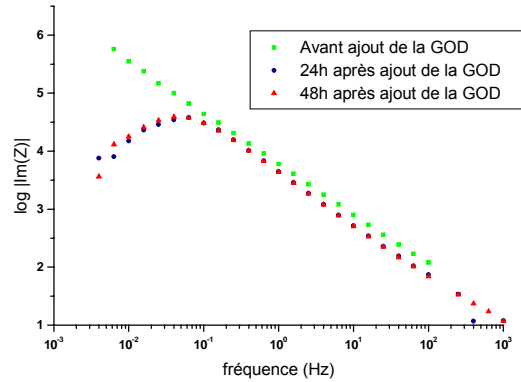
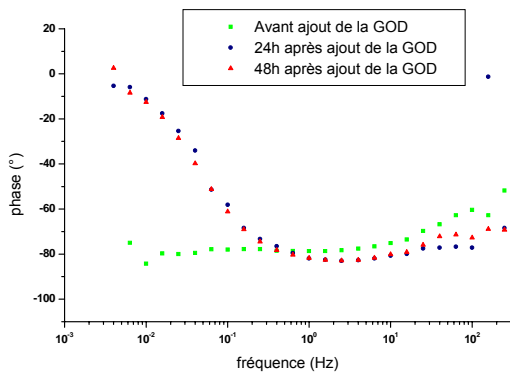
Il est à noter que, comme au chapitre 3, la courbe log|Im(Z)|=f(log(freq)) ne présente pas une mais deux zones linéaires. Comme il a été précisé, la zone de linéarité aux hautes fréquences est due aux distributions de courant et de potentiel dans l'électrolyte à proximité de la surface de l'électrode [230, 240]. Dans la suite de ce paragraphe, toutes les valeurs des paramètres du CPE sont calculées à partir des valeurs de la pente aux basses fréquences.



a- Diagramme de Nyquist : -Im(Z)= f(Re(Z))



b- Diagramme de Bode en module

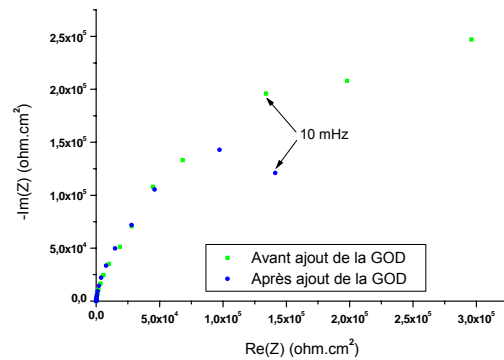
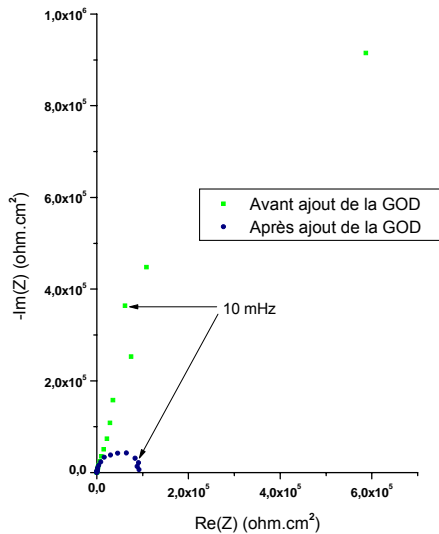


c- Diagramme de Bode en phase

d- $\log |\text{Im}(Z)| = f(\log(\text{fréquence}))$

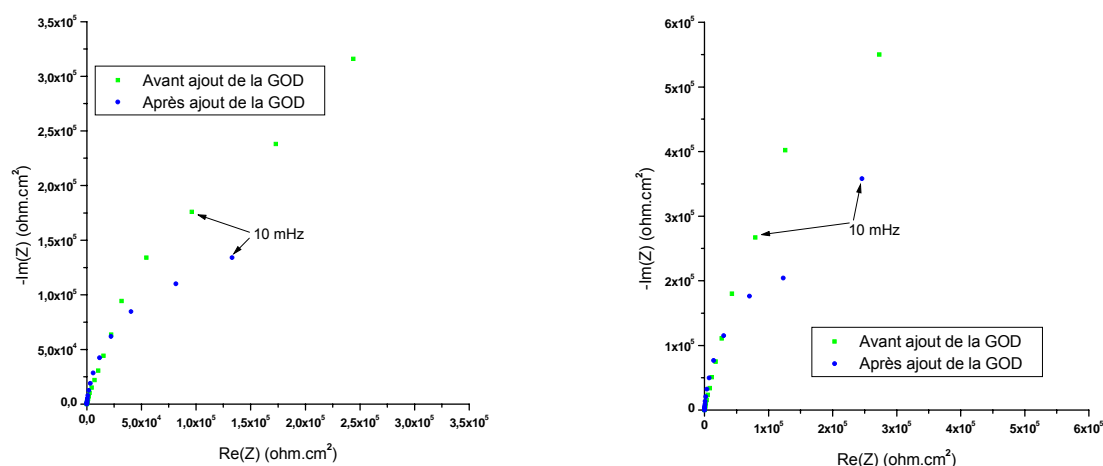
Figure 148 : diagrammes d'impédance électrochimique d'un échantillon d'acier inoxydable 304L immergé dans l'eau de rivière artificielle, avant et après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose, avec correction de la chute ohmique (expérience 1)

Toutefois, cette influence des réactifs enzymatiques sur l'impédance est très peu reproductible. Le diamètre de la boucle capacitive en solution « réactifs enzymatiques » peut différer fortement d'une expérience à l'autre. La figure 149 représente les données d'impédance acquises lors de 4 expériences identiques à celle décrite précédemment et illustre la variabilité des résultats. Dans tous les cas, la partie imaginaire de l'impédance à haute fréquence est plus faible en présence des réactifs enzymatiques que dans l'eau de rivière artificielle.



a- $E_{\text{corr}} = 23 \text{ mV/ECS}$ (expérience 2)

b- $E_{\text{corr}} = -31 \text{ mV/ECS}$ (expérience 3)



c- $E_{\text{corr}} = -26 \text{ mV/ECS}$ (expérience 4)

d- $E_{\text{corr}} = 180 \text{ mV/ECS}$ (expérience 5)

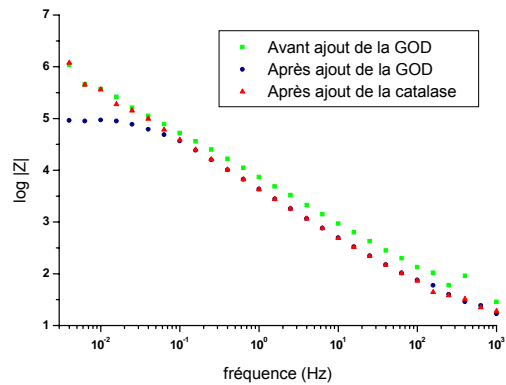
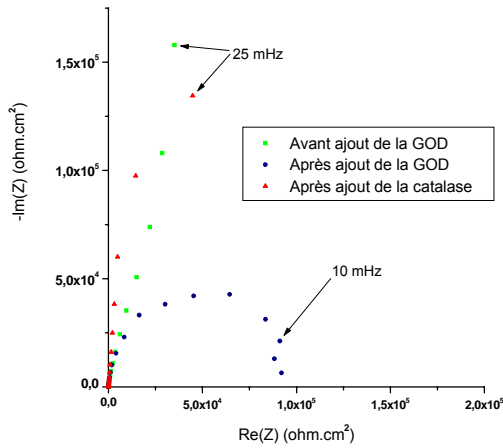
Figure 149 : représentation de Nyquist de l'impédance électrochimique d'échantillons d'acier inoxydable 304L immergés dans l'eau de rivière artificielle, avant et après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose, avec correction de la chute ohmique

L'effet d'un ajout ultérieur de 3370 u/L de catalase sur l'impédance électrochimique d'un échantillon d'acier inoxydable 304L est visible sur la figure 150, représentant les données d'impédance acquises 48 heures après l'ajout de la catalase ($E_{\text{corr}} \approx 0 \text{ mV/ECS}$). Dans le diagramme de Nyquist, le diamètre de la boucle capacitive augmente fortement et revient à peu près à sa valeur initiale, obtenue dans l'eau de rivière artificielle. L'effet de la catalase sur l'impédance contrecarre et annihile l'effet de la glucose-oxydase. L'introduction de la GOD et du glucose dans l'eau de rivière artificielle entraîne une diminution de l'impédance à basse fréquence, et l'ajout ultérieur de catalase provoque une augmentation de l'impédance.

Le diagramme de Bode en module illustre bien cette variation « aller-retour » de l'impédance. La valeur maximale du module de l'impédance dans la solution de glucose-oxydase, atteinte à basse fréquence, est inférieure à $100 \text{ k}\Omega\cdot\text{cm}^2$, alors qu'elle est supérieure à $1 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^2$ dans l'eau de rivière artificielle et dans la solution « réactifs enzymatiques » à laquelle 3370 u/L de catalase ont été ajoutées.

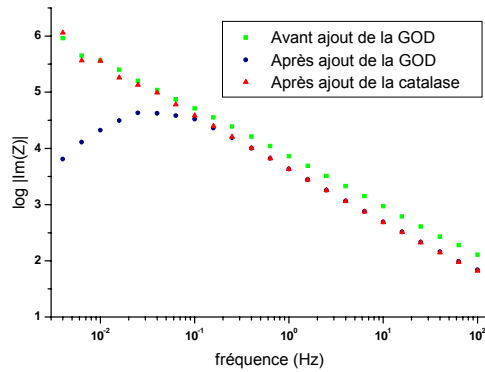
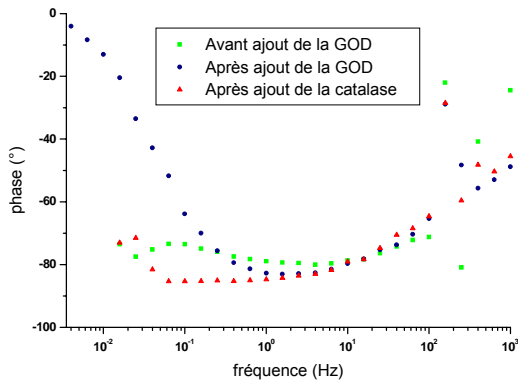
Le diagramme de Bode en phase et la courbe $\log|\text{Im}(Z)|=f(\text{fréquence})$ reflètent aussi ces évolutions de l'impédance.

Le coefficient α , l'opposé de la pente de la courbe $\log|\text{Im}(Z)|=f(\text{fréquence})$ dans sa portion linéaire, ne varie pas significativement lorsque la catalase est introduite dans la solution. Dans les trois électrolytes, α est compris entre 0,87 et 0,91 et le comportement capacitif est non idéal de type CPE.



a- Diagramme de Nyquist : $-\text{Im}(Z) = f(\text{Re}(Z))$

b- Diagramme de Bode en module



c- Diagramme de Bode en phase

d- $\log |\text{Im}(Z)| = f(\log(\text{fréquence}))$

Figure 150 : diagrammes d'impédance électrochimique d'un échantillon d'acier inoxydable 304L immergé en eau de rivière artificielle, avant et après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose (expérience 2), puis après ajout de 3370 u/L de catalase (avec correction de la chute ohmique)

➤ **Calcul des paramètres du CPE**

Rappel : l'impédance d'un élément à phase constante (CPE) peut s'écrire sous la forme :

$$Z = \frac{1}{(j\omega)^{\alpha} Q} \quad (57)$$

Par conséquent, le paramètre Q du CPE peut être calculé à partir d'une mesure de $\text{Im}(Z)$:

$$Q = -\text{Im}(Z) \cdot \frac{\omega^{\alpha}}{\sin(\alpha \frac{\pi}{2})} \quad (58)$$

Le coefficient α est égal à l'opposé de la pente de la courbe $\log|\text{Im}(Z)| = f(\text{fréquence})$ dans sa portion linéaire. Les tableaux 34-35 résument les valeurs de α et de Q trouvées pour les cinq expériences détaillées précédemment.

N° d'expérience	1	2	3	4	5
α avant GOD	0,87	0,88	0,90	0,85	0,85
α après GOD	0,90	0,91	0,92	0,91	0,93
α après catalase	X	0,92	0,91	0,90	0,90

Tableau 34 : valeurs du coefficient α calculé par régression linéaire à partir des mesures d'impédance sur des échantillons d'acier inoxydable 304L immergés dans l'eau de rivière artificielle, avec effet de l'ajout de la GOD et du glucose, puis de la catalase

N° d'expérience	1	2	3	4	5
Q avant GOD	$3,3 \cdot 10^{-5}$	$2,7 \cdot 10^{-5}$	$4,1 \cdot 10^{-5}$	$4,4 \cdot 10^{-5}$	$4,4 \cdot 10^{-5}$
Q après GOD	$4,5 \cdot 10^{-5}$	$4,4 \cdot 10^{-5}$	$4,7 \cdot 10^{-5}$	$5,6 \cdot 10^{-5}$	$3,3 \cdot 10^{-5}$
Q après catalase	X	$4,4 \cdot 10^{-5}$	$5,1 \cdot 10^{-5}$	$6,2 \cdot 10^{-5}$	$6,7 \cdot 10^{-5}$

Tableau 35 : valeurs calculées du paramètre Q pour des échantillons d'acier inoxydable 304L immergés dans l'eau de rivière artificielle, avec effet de l'ajout de GOD et de glucose, puis effet d'un ajout ultérieur de catalase

Ces valeurs de Q sont exprimées en $\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{\alpha}$ et ne sont donc ni comparables, ni assimilables à des capacités ($\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$ ou $\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}$). Pour pouvoir comparer le comportement capacitif dans l'eau de rivière artificielle, le comportement capacitif dans la solution « réactifs enzymatiques » et le comportement capacitif après l'ajout de catalase, il faut transformer les valeurs de Q en valeurs de capacité. Pour ce faire, deux méthodes différentes ont été utilisées et vont être explicitées par la suite.

Globalement, en excluant l'expérience n°5, l'ajout de GOD et de glucose entraîne une augmentation non négligeable du coefficient α et du paramètre Q. En revanche, l'ajout ultérieur de catalase n'affecte pas significativement les valeurs de α et de Q. Les réactifs enzymatiques sont donc à l'origine de modifications du comportement capacitif des échantillons d'acier 304L.

➤ Calcul des capacités

Le paramètre Q du CPE n'a pas de sens physique. Les capacités sont calculées à partir des valeurs de Q suivant deux méthodes, par la formule de Brug-den Eeden et par le modèle 3D de couche d'oxydes de Young.

➤ Méthode de Brug-den Eeden

Cette méthode permet d'obtenir une estimation de la capacité de la couche d'oxydes à partir des valeurs du paramètre Q et du coefficient α .

La résistance à basse fréquence du système R_{BF} est déterminée par interpolation de la boucle capacitive : elle est égale à l'abscisse du point d'intersection entre l'interpolation de la boucle et l'axe des abscisses. Connaissant cette résistance R_{BF} , le coefficient α et le paramètre Q du CPE, la capacité du film passif peut être calculée à l'aide de la formule de Brug-den Eeden :

$$C_{\text{Brug}} = (Q \cdot R_{BF}^{1-\alpha})^{\frac{1}{\alpha}}$$

Cette méthode génère une erreur due à l'interpolation de la boucle capacitive nécessaire pour déterminer R_{BF} . Elle a été utilisée pour calculer les capacités des couches d'oxydes lors des différentes phases des expériences 1 et 2, où l'impédance est fortement modifiée dans les conditions d'immersion testées.

Pour l'expérience n°1, la capacité calculée par la formule de Brug-den Eeden passe de 15,2 μF.cm⁻² dans l'eau de rivière artificielle à 17,9 μF.cm⁻² 24 heures après l'ajout de la GOD et du glucose, puis à 19,2 μF.cm⁻² 48 heures après l'ajout des réactifs enzymatiques. Le diagramme de Nyquist montre qu'à 24 heures le diamètre de la boucle capacitive est déjà très réduit. Il semble donc que l'évolution de l'impédance sous l'effet de l'action de la glucose-oxydase se fasse sans modification majeure de la capacité, ce qui laisse penser que la résistance est sûrement affectée très fortement.

Pour l'expérience n°2, la capacité passe de 16,5 μF.cm⁻² dans la solution de NaCl à 27,5 μF.cm⁻² après ajout de la GOD et du glucose, puis à 28,9 μF.cm⁻² après ajout ultérieur de la catalase. La capacité de la couche d'oxydes semble varier de façon plus importante au cours de cette expérience.

Il semble toutefois que la forte variation de l'impédance dans la solution de glucose-oxydase soit due à une variation de la résistance et non pas de la capacité du film passif.

Les valeurs calculées restent toutefois très élevées pour des capacités de couches d'oxydes. Cette méthode n'est pas adaptée au cas de cette étude : il a été démontré auparavant que le comportement en impédance locale des films passif est de type CPE, ce qui indique une variation des propriétés du film d'oxydes dans la direction normale à la surface utile. Or le comportement CPE utilisé dans la formule de Brug-den Eeden est lié à des variations des propriétés du film dans le plan de la surface utile. La formule de Brug ne peut donc pas être appliquée à une couche d'oxydes présentant des variations le long de l'épaisseur du film. Pour de telles couches d'oxydes, le modèle de Young semble mieux adapté au calcul de la capacité.

➤ Méthode de Young

Cette méthode, développée par Young [174] et reprise par Schiller [225], est particulièrement adaptée à une couche d'oxydes dont les propriétés (composition chimique, constante diélectrique...) varient selon la normale à la surface. Cette variation des propriétés électriques selon la normale a été mise en évidence sur les échantillons d'acier inoxydable par des mesures d'impédance locale (§3.3).

La méthode de Young consiste à envisager le film passif comme une suite infinie de circuits RC parallèles élémentaires mis en série. Le schéma de la figure 151 représente le circuit global équivalent au film passif et le circuit élémentaire de Young.

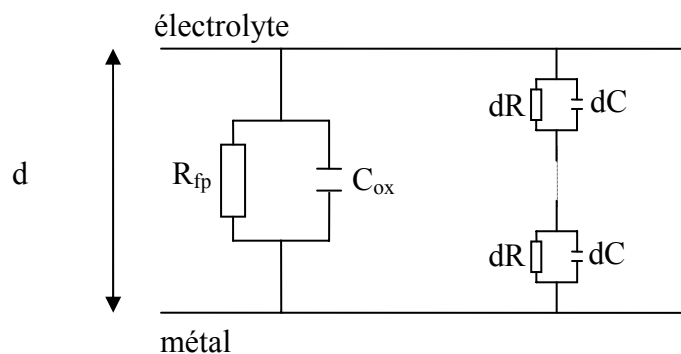


Figure 151 : circuit équivalent classique et circuit de Young modélisant le film passif (C_{ox} : capacité de la couche d'oxydes, R_{fp} : résistance du film passif)

L'impédance de la suite de circuits élémentaires s'écrit selon l'équation (60) :

$$Z = \int_0^d \frac{dx / \sigma}{1 + j\omega\epsilon\epsilon_0 / \sigma} \quad (60)$$

où d est l'épaisseur du film passif et σ sa conductivité.

L'hypothèse de départ est que la conductivité σ varie exponentiellement avec la cote x (coordonnée le long de l'axe normal à la surface) sur une épaisseur δ de la couche d'oxydes :

$$\sigma(x) = \sigma(0) \cdot \exp\left(-\frac{x}{\delta}\right) \quad (61)$$

$\sigma(0)$ est la conductivité à l'interface métal/film passif.

L'impédance peut alors s'écrire de la façon suivante :

$$Z_{YG} = \frac{p}{j\omega\epsilon\epsilon_0 S/d} \ln\left(\frac{1+j\omega\tau \exp(p^{-1})}{1+j\omega\tau}\right) \quad (62)$$

où S est la surface de l'échantillon en contact avec l'électrolyte, d l'épaisseur de la couche d'oxydes, p la profondeur de pénétration relative ($p = \frac{\delta}{d}$), et τ la constante de relaxation du

système : $\tau = \frac{\epsilon\epsilon_0}{\sigma(0)}$.

La capacité de la couche d'oxydes C_{ox} étant égale à :

$$C_{ox} = \frac{\epsilon\epsilon_0 S}{d} \quad (63)$$

l'impédance de Young peut s'écrire :

$$Z_{YG} = \frac{p}{j\omega C_{ox}} \ln\left(\frac{1+j\omega\tau \exp(p^{-1})}{1+j\omega\tau}\right) \quad (64)$$

Les parties réelle et imaginaire de l'impédance de Young peuvent s'écrire selon les équations (65) et (66), ce qui permet de définir la résistance de Young R_{YG} et la capacité de Young C_{YG} :

$$\text{Re}(Z_{YG}) = R_{YG} = \frac{\delta}{d\omega C_f} \cdot \arctan\left(\frac{\omega\tau \exp\left(\frac{d}{\delta}\right) - \omega\tau}{1 + \omega^2 \tau^2 \exp\left(\frac{d}{\delta}\right)}\right) \quad (65)$$

$$\text{Im}(Z_{YG}) = -\frac{\delta}{2d\omega C_f} \cdot \ln\left(\frac{1 + \omega^2 \tau^2 \exp\left(\frac{2d}{\delta}\right)}{1 + \omega^2 \tau^2}\right) = \frac{1}{\omega C_{YG}} \quad (66)$$

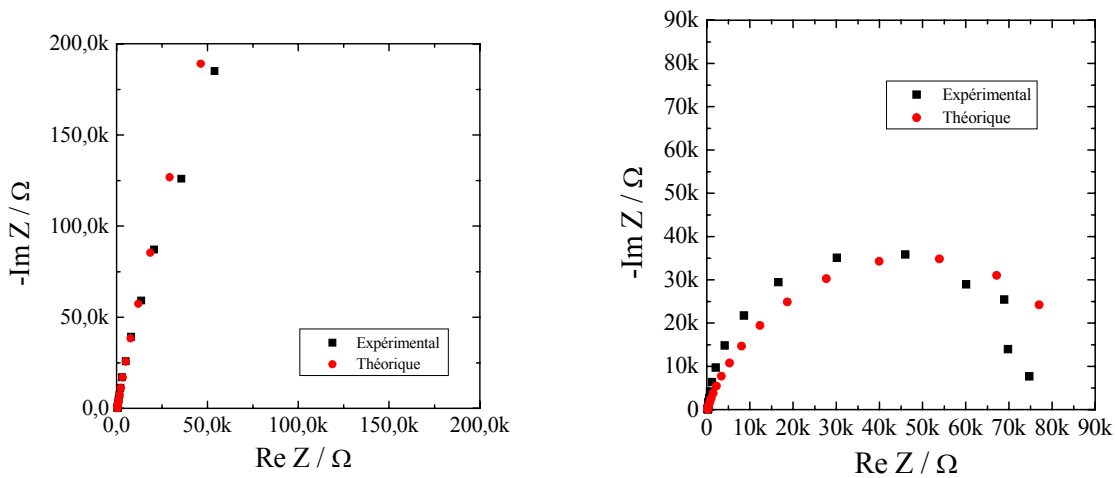
Globalement, l'impédance du système peut s'écrire comme la somme de Z_{YG} et de la résistance R_e de l'électrolyte.

Une comparaison a été effectuée entre les données expérimentales acquises dans l'expérience n°1 et les données théoriques fournies par les formules détaillées ci-dessus, afin d'obtenir des valeurs de la capacité de Young C_{YG} . Les résultats du fitting sont présentés sur la figure 152.

Ils indiquent que la capacité de la couche d'oxydes varie peu lorsque la GOD et le glucose sont ajoutés dans l'eau de rivière artificielle : C_{YG} passe de $7 \mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$ avant l'ajout à $7,5 \mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$ après l'introduction des réactifs enzymatiques. En revanche, l'ajout ultérieur de catalase fait augmenter fortement C_{YG} qui passe à $18 \mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$. La profondeur de pénétration relative p , quant à elle, passe de 0,032 dans la solution de NaCl à 0,039 dans la solution « réactifs enzymatiques », puis à 0,024 après l'ajout de la catalase.

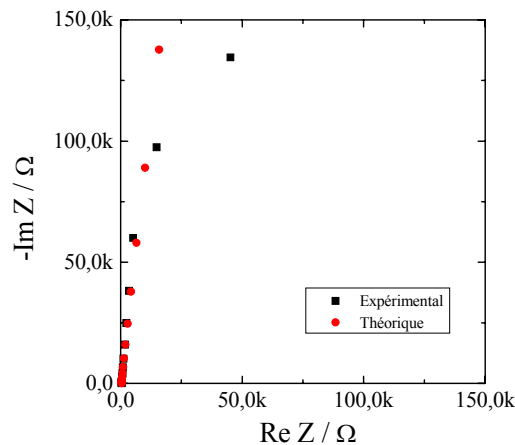
Les valeurs de capacités calculées ont cette fois le bon ordre de grandeur. Une capacité de $7 \mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$ correspond à une épaisseur de film d'environ 1,5 nm, et une capacité de $18 \mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$ à une épaisseur d'environ 0,6 nm. Cette dernière valeur est assez faible, mais une éventuelle variation de l'aire active du matériau ne peut être exclue.

Ces épaisseurs sont globalement compatibles avec les valeurs trouvées dans la littérature [256-258]. Les valeurs de capacités calculées à l'aide du modèle 3D de couche d'oxydes développé par Young ont un sens physique.



a- Avant ajout de la GOD et du glucose

b- 48 heures après ajout de la GOD et du glucose



c- 48 heures après ajout ultérieur de la catalase

Figure 152 : données expérimentales (expérience n°1) et données théoriques calculées par le modèle de Young pour l'impédance d'un échantillon de 304L immergé en eau de rivière artificielle, avec effet d'un ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose, et effet d'un ajout ultérieur de 3370 u/L de catalase

L'utilisation du modèle 3D de couche d'oxydes de Young permet de montrer que l'effet de la GOD sur l'impédance des échantillons d'acier 304L n'est pas principalement un effet sur la capacité de la couche d'oxydes, mais plutôt un effet sur la partie résistive de l'impédance.

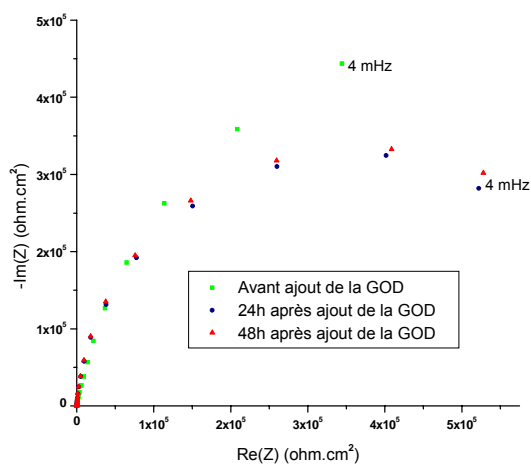
En revanche, l'ajout ultérieur de catalase, qui ramène l'impédance à des valeurs proches de ses valeurs initiales, modifie de façon importante la capacité de la couche d'oxydes.

5.6.1.2 Acier 316L

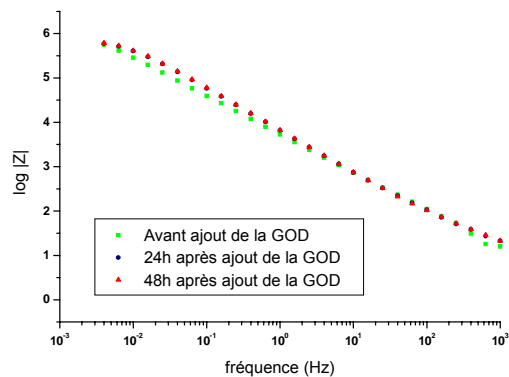
Les diagrammes d'impédance effectués sur des échantillons d'acier 316L immergés dans la solution d'eau de rivière artificielle ou dans la solution « réactifs enzymatiques » sont présentés sur la figure 153.

Avant l'ajout des réactifs enzymatiques, le diagramme de Nyquist est une portion de boucle capacitive dont le diamètre a pour ordre de grandeur le MΩ.cm². L'ajout des réactifs enzymatiques ne modifie que très légèrement la boucle capacitive dans le diagramme de

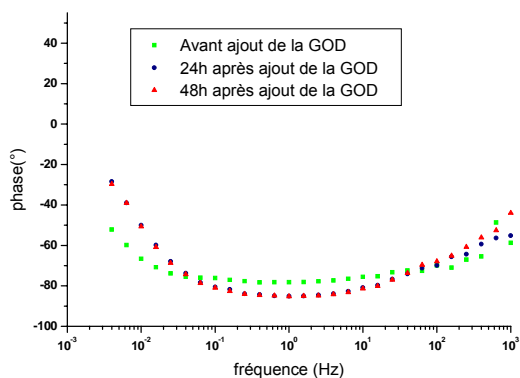
Nyquist, le diamètre est légèrement abaissé. L'effet de la GOD et du glucose sur l'impédance des échantillons de 316L est négligeable. Ceci est confirmé par les autres représentations de l'impédance électrochimique : les courbes avant et après ajout de la GOD et du glucose sont quasiment superposables.



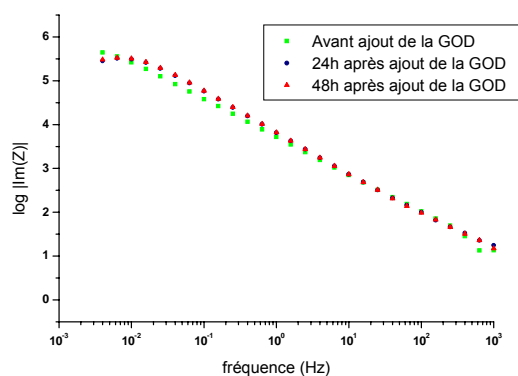
a- Diagramme de Nyquist



b- Diagramme de Bode en module



c- Diagramme de Bode en phase



d- $\log |Im(Z)| = f(\log(\text{fréquence}))$

Figure 153 : diagrammes d'impédance électrochimique d'un échantillon d'acier inoxydable 316L immergé dans l'eau de rivière artificielle, avant et après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose, avec correction de la chute ohmique (avant ajout, $E_{\text{corr}} = -60$ mV/ECS, puis après ajout forte augmentation, rupture et faibles instabilités, $E_{\text{corr}} = 185$ mV/ECS à 24 et 48 heures)

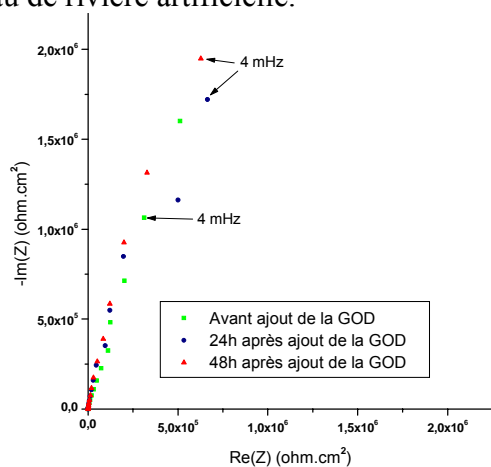
Contrairement au cas de l'acier 304L, l'ajout de glucose-oxydase et de glucose dans l'eau de rivière artificielle a une influence négligeable sur la valeur de l'impédance électrochimique de l'acier inoxydable 316L. De la même façon, un ajout ultérieur de catalase n'a pas d'influence notable sur l'impédance.

5.6.1.3 Acier 254SMO

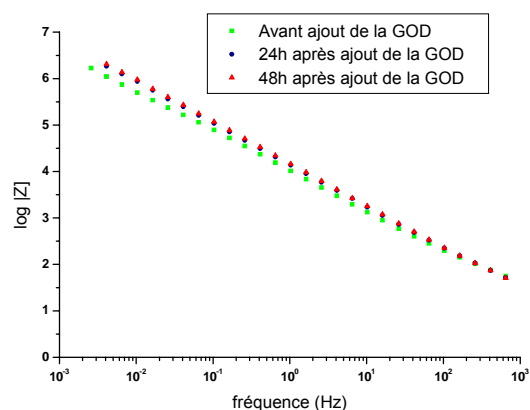
Des mesures d'impédance électrochimique ont été réalisées sur des échantillons d'acier 254SMO polis au micron, passés aux ultrasons dans l'éthanol, et immergés en eau de rivière artificielle avec et sans ajout des réactifs enzymatiques. Les différentes représentations graphiques des résultats obtenus sont visibles sur la figure 154.

La boucle capacitive obtenue dans le diagramme de Nyquist n'évolue pas lorsque les réactifs enzymatiques sont introduits dans la solution de NaCl. L'impédance ne semble pas modifiée en présence de GOD et de glucose. Les autres représentations confirment cette observation :

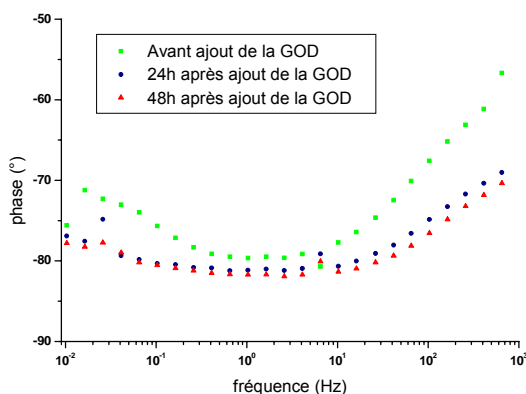
le module, la phase et le coefficient α du CPE (opposé de la pente de la courbe $\log |\text{Im}(Z)| = f(\log(\text{freq}))$) sont sensiblement identiques dans la solution « réactifs enzymatiques » et dans l'eau de rivière artificielle.



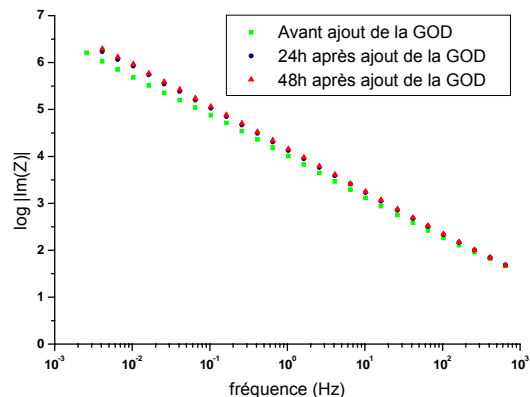
a- Diagramme de Nyquist



b- Diagramme de Bode en module



c- Diagramme de Bode en phase



d- $\log |\text{Im}(Z)| = f(\log(\text{fréquence}))$

Figure 154 : diagrammes d'impédance électrochimique d'un échantillon d'acier inoxydable 254SMO immergé dans l'eau de rivière artificielle, avant et après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose, avec correction de la chute ohmique

Comme dans le cas de l'acier 316L, l'impédance électrochimique de l'acier inoxydable 254SMO n'est pas modifiée par un ajout de GOD et de glucose dans l'eau de rivière artificielle. Ces deux aciers diffèrent de l'acier 304L, qui voit son impédance fortement abaissée lorsque les réactifs enzymatiques sont introduits dans l'eau de rivière artificielle.

5.6.1.4 Influence de l'activité enzymatique sur l'impédance de l'acier inoxydable 304L

Afin d'étudier l'influence de la glucose-oxydase sur l'impédance de l'acier inoxydable 304L, différentes activités de GOD ont été introduites dans des solutions à 0,3 g/L de NaCl contenant un échantillon d'acier 304L. Les activités testées sont 50, 100, 500, 1000 et 5000 u/L. L'impédance des échantillons a été mesurée après l'ajout de 20 mmol/L de glucose et de chaque activité de GOD. Les résultats obtenus sont visibles sur la figure 155. Les valeurs de E_{corr} sont indiquées dans le tableau 36.

Les diamètres approximatifs (calculés par interpolation) des boucles capacitives dans le diagramme de Nyquist sont donnés dans le tableau 36, ainsi que les valeurs du potentiel de corrosion libre des différents échantillons.

Quelle que soit l'activité enzymatique, l'impédance est beaucoup plus faible que dans la solution de NaCl, où R_{BF} est de plusieurs dizaines de MΩ.cm². Toutefois, aucune tendance simple ne permet de relier l'activité de la glucose-oxydase et la résistance de transfert de charge.

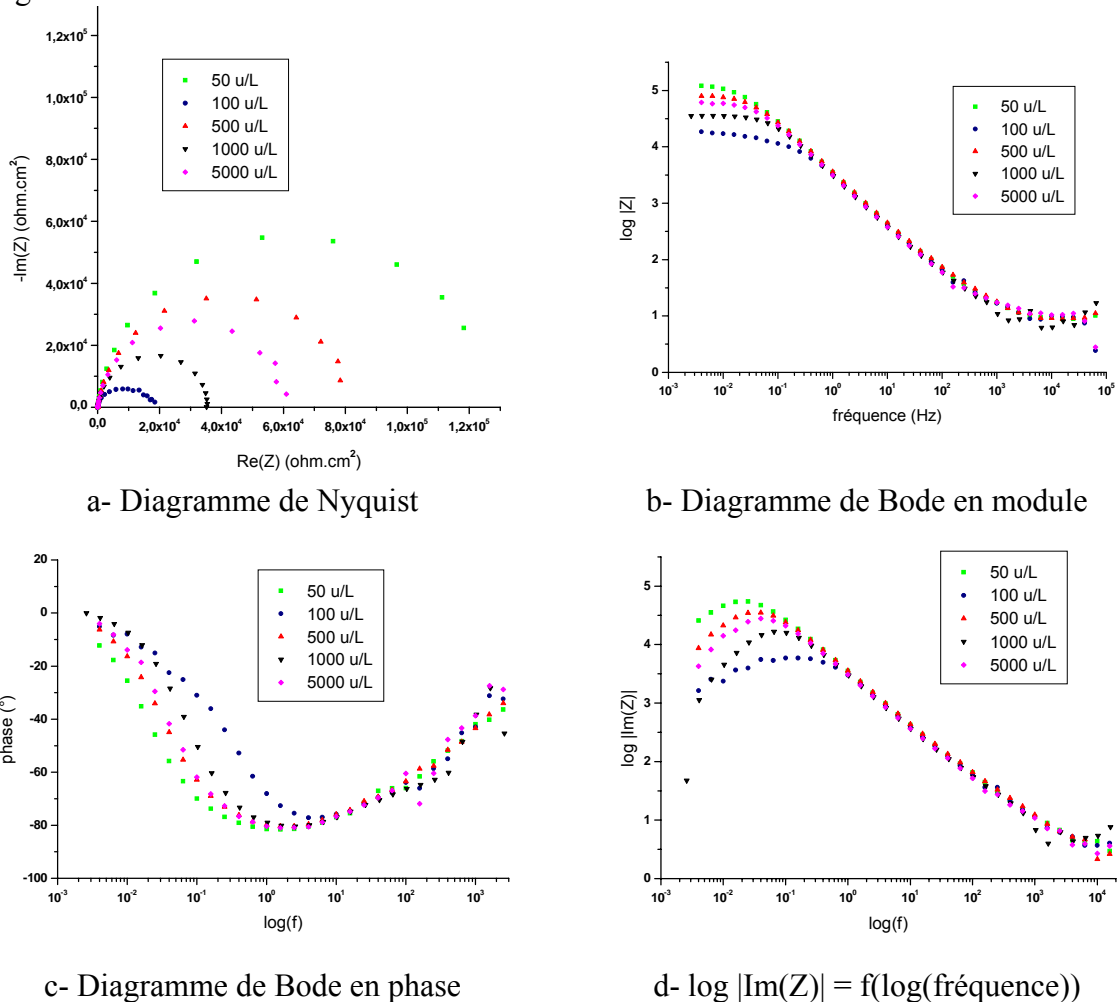


Figure 155 : diagrammes d'impédance électrochimique d'échantillons d'acier inoxydable 304L, 24 heures après l'ajout de 20 mmol/L de glucose et de différentes activités de GOD, avec correction de la chute ohmique

Activité de la GOD (u/L)	50	100	500	1000	5000
R _{BF} (Ω.cm ²)	1,25.10 ⁵	2.10 ⁴	8.10 ⁴	3,5.10 ⁴	6.10 ⁴
E _{corr} à 24h (mV/ECS)	-10	-10	46	7	34

Tableau 36 : valeur du diamètre de la boucle capacitive dans le diagramme de Nyquist pour différentes activités enzymatiques

L'introduction de glucose-oxydase et de glucose dans l'eau de rivière artificielle entraîne bien une diminution de la partie résistive de l'impédance.

Cette résistance, notée jusqu'ici R_{BF}, peut être de deux natures, comme il apparaît sur le schéma de la figure 156 :

- Elle peut correspondre à une résistance de transfert de charge R_{tc} à l'interface métal/électrolyte, dans le cas où le film passif est perforé de piqûres de corrosion

assimilables à des pores dans la couche d'oxydes. Pour que l'hypothèse R_{tc} soit plausible, il faut que l'échantillon soit sujet à la corrosion par piqûres (figure 156). Dans ce cas, la capacité totale du circuit est environ égale à C_{ox} (cf. formule (50)). Le pore court-circuite le film passif, le circuit électrocinétique équivalent au système électrochimique est alors R_{tc}/C_{ox} .

- Elle peut correspondre à la résistance du film passif R_{fp} . Dans ce cas, où l'échantillon ne subit pas de corrosion par piqûre, le circuit équivalent est R_{fp}/C_{ox} .

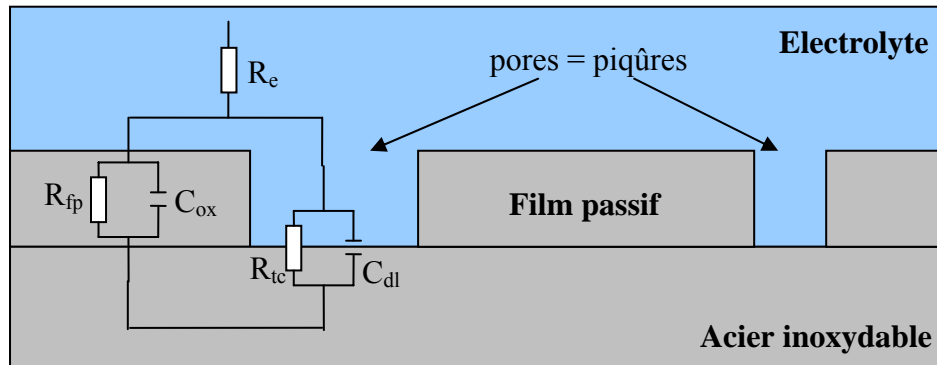


Figure 156 : représentation schématique de l'interface métal/film passif/électrolyte et circuit électrocinétique équivalent

Trois éléments permettent d'affirmer que R_{BF} est la résistance de la couche d'oxydes :

- l'absence d'une deuxième constante de temps (se traduisant par l'absence d'une deuxième boucle capacitive dans le diagramme de Nyquist) ;
- le facteur 10 que peut atteindre la diminution de R_{BF} . La courbe de la figure 157 indique que le courant d'échange sur le palier passif ne varie pas d'un facteur 10 lorsque les réactifs enzymatiques sont ajoutés dans la solution d'eau de rivière artificielle. Si R_{BF} était une résistance de transfert de charge, elle diminuerait du même rapport que le courant passif augmente.
- la très faible variation de R_{BF} sur les deux autres nuances d'acier inoxydable. En effet, la réaction cathodique est sensiblement la même sur les trois matériaux, donc la résistance de transfert de charge est identique. R_{tc} ne variant pas sur les aciers 316L et 254SMO, elle ne varie pas plus sur l'acier 304L. Par conséquent, la variation de la partie résistive de l'impédance mesurée ne peut être imputable qu'à une variation de la résistance R_{fp} de la couche d'oxydes.

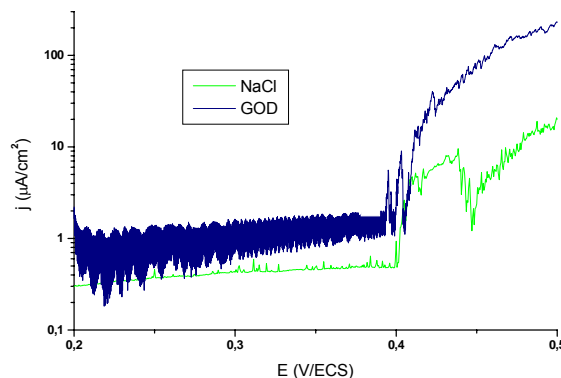


Figure 157 : courbes de polarisation anodique d'échantillons d'acier 304L immergés en eau de rivière artificielle, dans un cas sans aucun ajout dans la solution, dans l'autre cas 48h après ajout de 100 u/L de GOD et de 20 mmol/L de glucose (0,15 mV/s)

La résistance R_{BF} est donc la résistance du film passif R_{fp}, qui est très fortement réduite (dans le cas de l'acier 304L) lorsque l'enzyme et son substrat sont présents en solution.

5.6.1.5 Synthèse

L'ajout de glucose-oxydase et de glucose dans l'eau de rivière artificielle entraîne une forte diminution de l'impédance électrochimique de l'acier inoxydable 304L. Les deux autres nuances sont moins (voire pas) sujettes à cette diminution. L'effet de la GOD sur l'impédance est en réalité un effet sur la résistance du film passif, puisqu'il apparaît que les valeurs de capacité de la couche d'oxydes évaluées à l'aide du modèle de Young ne varient que très peu lorsque les réactifs enzymatiques sont introduits en solution. L'introduction de la GOD et de son substrat entraîne une forte diminution de la résistance de la couche d'oxydes. L'enzyme rendrait ainsi le film passif plus conducteur.

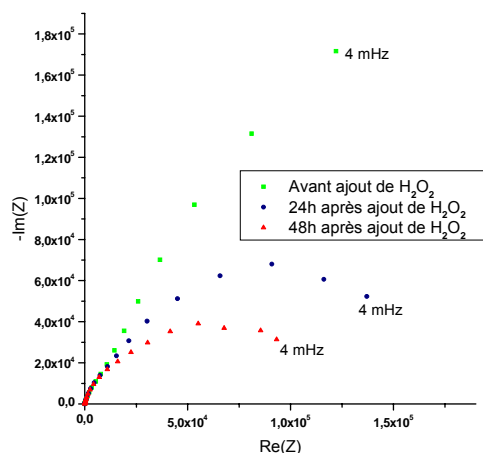
L'ajout ultérieur de catalase provoque une élévation conséquente de l'impédance électrochimique, qui atteint des valeurs proches de celles mesurées avant l'ajout de la GOD ; il semble en particulier que la capacité de la couche d'oxydes augmente très nettement lorsque la catalase est introduite.

5.6.2 Diagrammes d'impédance en présence des produits enzymatiques

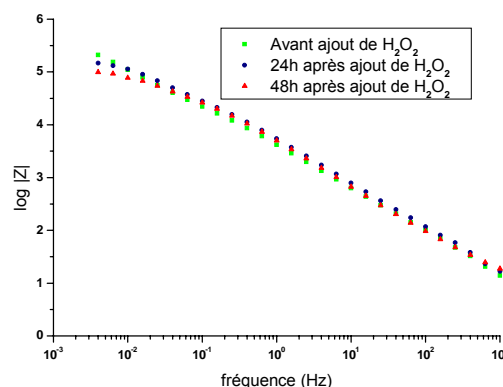
Il a été montré que l'ajout des enzymes dans l'eau de rivière artificielle ne modifie que très légèrement l'impédance des nuances 316L et 254SMO. Les mesures d'impédance en présence des réactifs enzymatiques ne sont présentées que pour la nuance 304L. Les diagrammes tracés sur les aciers 316L et 254SMO montrent que leur impédance ne varie pas plus en présence des produits que des réactifs enzymatiques.

5.6.2.1 Diagrammes d'impédance en présence de peroxyde d'hydrogène

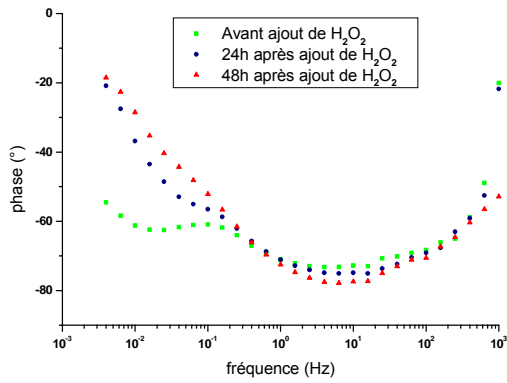
Les mesures d'impédance effectuées sur l'acier inoxydable 304L avant et après ajout de 1 mmol/L de peroxyde d'hydrogène dans l'eau de rivière artificielle sont présentées sur la figure 158. L'impédance, et en particulier la résistance de la couche d'oxydes, sont plus faibles lorsque le peroxyde est présent en solution. L'effet de la solution « réactifs enzymatiques » sur la résistance du film passif est retrouvé dans la solution de H₂O₂.



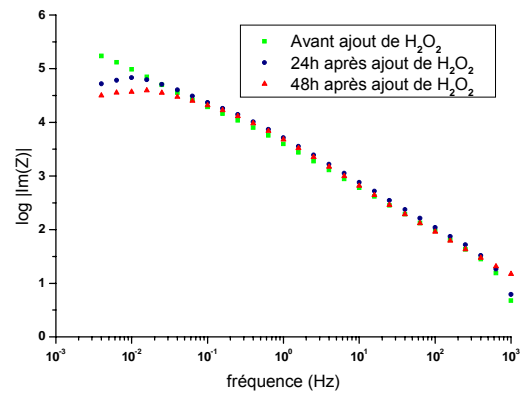
a- Diagramme de Nyquist



b- Diagramme de Bode en module



c- Diagramme de Bode en phase

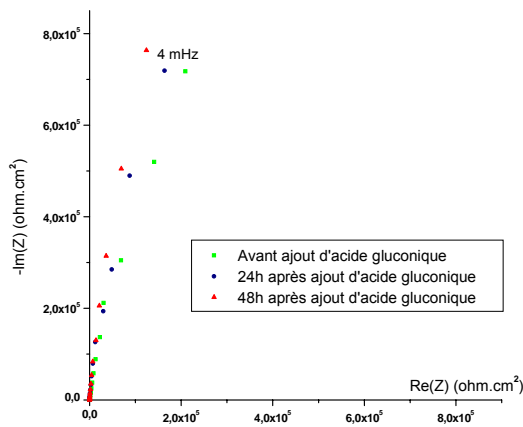


d- $\log |Im(Z)| = f(\log(\text{fréquence}))$

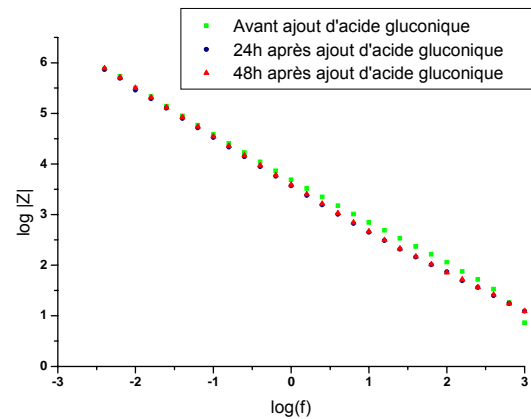
Figure 158 : diagrammes d'impédance électrochimique d'échantillons d'acier inoxydable 304L, avec correction de la chute ohmique, avant et après ajout de 1 mmol/L de H₂O₂ dans l'eau de rivière artificielle

5.6.2.2 Diagrammes d'impédance en présence d'acide gluconique

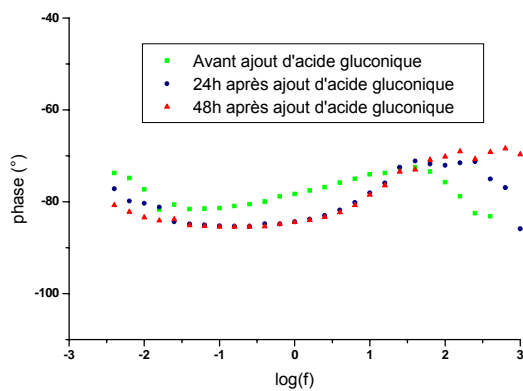
Les diagrammes d'impédance tracés sur l'acier inoxydable 304L avant et après ajout de 1 mmol/L d'acide gluconique dans l'eau de rivière artificielle sont présentés sur la figure 159. Le pH mesuré est d'environ 4,3. L'impédance n'est que très peu affectée par la présence de l'acide gluconique en solution.



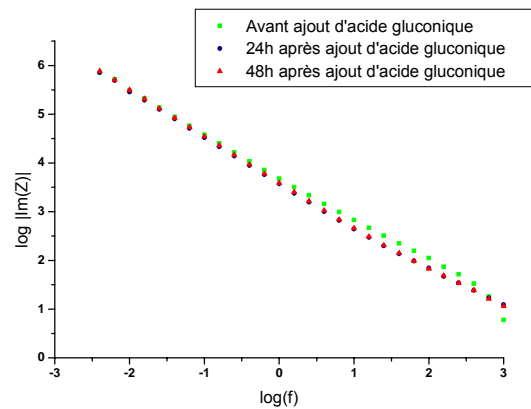
a- Diagramme de Nyquist



b- Diagramme de Bode en module



c- Diagramme de Bode en phase



d- $\log |Im(Z)| = f(\log(\text{fréquence}))$

Figure 159 : diagrammes d'impédance électrochimique d'échantillons d'acier inoxydable 304L, avec correction de la chute ohmique, après ajout de 1 mmol/L d'acide gluconique dans l'eau de rivière artificielle

5.6.2.3 Synthèse

La diminution de la résistance du film passif R_{fp} , constatée dans la solution « réactifs enzymatiques », n'est pas retrouvée dans une solution d'acide gluconique. Elle est par contre réelle lorsque du peroxyde d'hydrogène (à une concentration de l'ordre de la mmol/L) est introduit dans l'eau de rivière artificielle. Il semble donc que le peroxyde d'hydrogène soit responsable de la diminution de la résistance de la couche d'oxydes.

5.6.3 Discussion

Il a été montré par XPS que le film passif formé dans la solution « réactifs enzymatiques » est fortement enrichi en élément chrome au détriment de l'élément fer, alors que, au contraire, dans une solution de peroxyde d'hydrogène, la couche d'oxydes est enrichi en fer au détriment du chrome. La composition chimique de la couche d'oxydes n'est pas du tout la même dans ces deux solutions. Il semble toutefois que la variation de la résistance de la couche d'oxydes se fasse dans les deux cas dans le sens d'une diminution de ce paramètre. La valeur de R_{fp} ne peut pas être reliée simplement au rapport fer/chrome.

Les variations de R_{fp} peuvent expliquer les chutes brutales de E_{corr} constatées dans la solution « réactifs enzymatiques » et dans l'eau de rivière artificielle additionnée de peroxyde d'hydrogène. Le potentiel du métal en solution peut s'écrire sous la forme :

$$V = V_{interfacial} + (R_e + R_{fp})i$$

où i est le courant faradique, dans ce cas égal au courant de passivité i_{passif} . Les deux premiers termes étant à peu près constants, les chutes brutales du potentiel mesuré peuvent provenir d'une variation de potentiel $\Delta E_{fp} = \Delta R_{fp} \cdot i$ aux bornes du film passif. L'évolution du gradient de potentiel au sein de la couche d'oxydes pourrait expliquer les oscillations de E_{corr} entre des valeurs élevées, correspondant à une chute ohmique importante dans le film passif, et des valeurs faibles, correspondant à une chute ohmique beaucoup plus réduite.

L'effet de la GOD (et en particulier du peroxyde d'hydrogène) sur la résistance du film passif nécessiterait un certain temps avant d'être stable, d'où le passage de E_{corr} de valeurs élevées à des valeurs plus faibles pendant la phase transitoire de l'évolution de R_{fp} . Puis la résistance du film passif se stabiliserait à une valeur faible (le film passif étant beaucoup plus conducteur que dans son état initial), et le potentiel de corrosion libre prendrait sa valeur stationnaire aux alentours de 0 V/ECS. Les différentes phases de l'évolution de E_{corr} sont illustrées sur la figure 160. La tendance à l'augmentation est due à l'élévation (en valeur absolue) du courant cathodique à faible polarisation (en raison de la réduction du peroxyde d'hydrogène), tandis que la tendance à la diminution est due à l'évolution de la résistance de la couche d'oxydes.

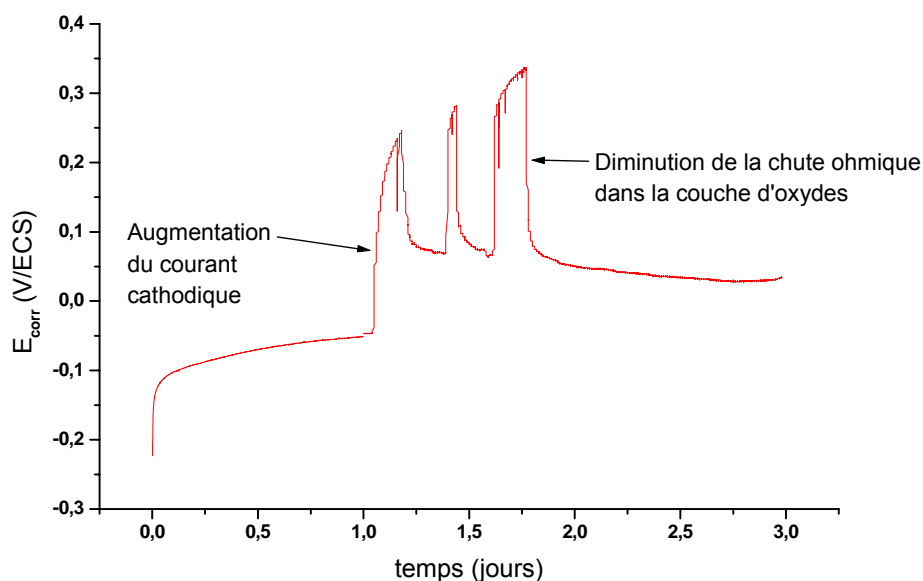


Figure 160 : évolution du potentiel de corrosion libre d'un échantillon d'acier 304L dans l'eau de rivière artificielle, avec introduction de 20 mmol/L glucose et de 100 u/L GOD après 24 heures d'immersion

L'introduction de GOD et de glucose entraîne une forte diminution de la résistance du film passif, en revanche, il apparaît qu'elle n'a pas d'influence notable sur la capacité du film. La spectrométrie de photoélectrons X a montré que le rapport fer/chrome diminue dans la solution « réactifs enzymatiques », mais que cette diminution ne s'accompagne pas d'une modification significative de l'épaisseur de la couche d'oxydes, ce qui est cohérent avec la constance de la valeur de la capacité.

5.7 Mise en évidence du mécanisme de l'augmentation de E_{corr} sur le site de Choisy-le-Roi

Lors de l'étude du comportement électrochimique des aciers inoxydables immergés en eau de rivière naturelle au chapitre 4, il a été montré que sur le site de Choisy-le-Roi, une espèce oxydante est synthétisée dans l'électrolyte à proximité de la surface au cours de l'immersion. Cet oxydant est réduit à des potentiels plus élevés que la valeur initiale de E_{corr} , ce qui provoque l'augmentation du potentiel de corrosion libre. Les analyses EDS et l'absence de palier de diffusion sur les courbes de polarisation cathodique prouvent que ce composé oxydant n'est pas un oxyde de manganèse. L'hypothèse alors émise a été la synthèse de peroxyde d'hydrogène par le biofilm. Il vient d'être démontré que le modèle de production enzymatique de H₂O₂, connu en eau de mer naturelle, est aussi capable de générer en eau de rivière artificielle une évolution de E_{corr} identique à celle mesurée en eau de rivière naturelle. Afin de valider la pertinence de ce mécanisme en eau de rivière naturelle, et en particulier ici au niveau du site de Choisy-le-Roi, il reste à mettre en évidence la présence de peroxyde d'hydrogène dans les biofilms.

5.7.1 Détermination de la présence de peroxyde d'hydrogène

Le mécanisme de l'augmentation du potentiel de corrosion libre lié à la réduction de molécules de peroxyde d'hydrogène synthétisées au sein même du biofilm a été présenté au

chapitre 1 (§1.2.1). Ce modèle est valable dans un grand nombre de cas d'augmentation de E_{corr} en eau de mer naturelle [3, 66, 68, 73]. Pour évaluer sa pertinence dans l'eau de rivière naturelle, une expérience a été mise en œuvre afin de révéler une éventuelle présence de peroxyde d'hydrogène dans les biofilms développés sur acier inoxydable en eau de Seine. Cette expérience s'appuie sur les travaux de Washizu *et al.* [66] Une bandelette analytique Merck® 1.10081.0001 permettant de détecter la présence de peroxyde d'hydrogène est mise en contact soit directement avec la surface d'un échantillon, soit avec un écouvillon recouvert d'un prélèvement du biofilm (par frottis).

Une photographie de cette expérience est visible sur la figure 162. La bandelette a été mise en contact avec un prélèvement de biofilm par écouvillonnage d'un échantillon d'acier 304L immergé depuis 3 mois sur le site de Choisy-le-Roi. Le virage au bleu de la zone réactionnelle de la bandelette permet d'affirmer que le biofilm contient du peroxyde d'hydrogène. Cette manipulation a été réalisée sur plusieurs échantillons et est reproductible quelle que soit la nuance d'acier inoxydable testée. Tous les biofilms formés sur acier inoxydable dans l'eau du site de Choisy-le-Roi contiennent du peroxyde d'hydrogène. La concentration trouvée est généralement proche de 10 mg/L de biofilm.

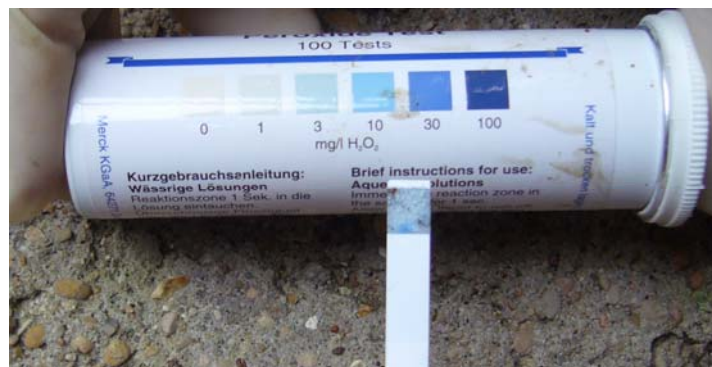


Figure 162 : photographie d'une bandelette analytique mise en contact avec un prélèvement de biofilm par écouvillonnage d'un échantillon d'acier inoxydable 304L immergé pendant 3 mois à Choisy-le-Roi

L'eau de Seine du site de Choisy-le-Roi a aussi été testée à l'aide de ces bandelettes analytiques. La figure 163 montre que l'eau de rivière naturelle ne contient pas de peroxyde d'hydrogène. Les molécules de H₂O₂ sont donc comprises dans le biofilm.

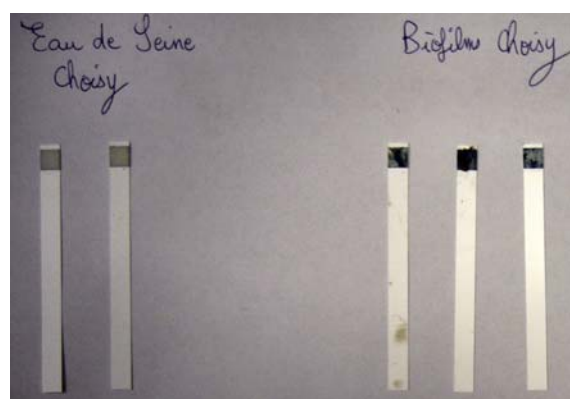


Figure 163 : photographie de bandelettes analytiques mises en contact avec l'eau de la Seine à Choisy-le-Roi ou avec des prélèvements de biofilms sur échantillons d'aciers inoxydables immergés dans la Seine sur ce même site

Cette expérience permet d'affirmer que les biofilms obtenus en eau de rivière naturelle sur acier inoxydable à Choisy-le-Roi contiennent du peroxyde d'hydrogène. La présence de cet

oxydant est en adéquation avec les valeurs élevées du potentiel de corrosion libre du platine, compris entre +650 et +770 mV/ECS.

Le peroxyde d'hydrogène est un très bon candidat à l'identification de l'espèce oxydante présente en solution à proximité de la surface métallique, dont la densité de courant maximale de réduction est visible entre -460 et -380 mV/ECS sur les courbes de polarisation cathodique au niveau du site de Choisy-le-Roi.

5.7.2 Effet d'un ajout de catalase sur le courant cathodique

L'effet d'un ajout d'une forte activité de catalase (supérieure à 5000 u/L) sur le courant cathodique a aussi été évalué. Des courbes de polarisation cathodique réalisées sur un échantillon d'acier inoxydable 316L immergé dans l'eau de Seine du site de Choisy-le-Roi avant et après ajout de catalase sont représentées sur la figure 164.

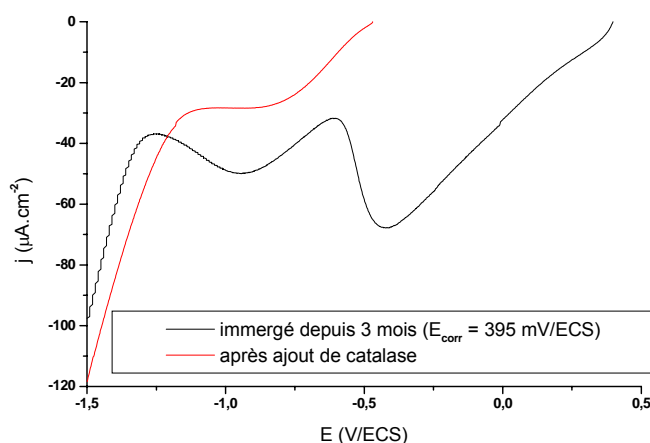


Figure 164 : courbes de polarisation cathodique réalisées sur un échantillon d'acier inoxydable 316L prélevé après 3 mois d'immersion dans la Seine sur le site de Choisy-le-Roi et réimmergé dans un bécher contenant de l'eau du site, avant et après ajout de catalase (vitesse de balayage : 5 mV/s, protocole « quasi *in situ* »)

La courbe tracée avant l'ajout de catalase a déjà été détaillée précédemment. Elle montre d'abord la réduction (entre -0,4 et 0,2 V/ECS) d'une nouvelle espèce oxydante, produite en solution durant l'immersion, puis la réduction de l'oxygène dissous entre -1,3 et -0,6 V/ECS.

Elle a la même allure que les courbes tracées dans la solution « réactifs enzymatiques ».

Après l'ajout de la catalase, la réduction qui se produit entre -0,4 et 0,2 V/ECS a complètement disparu. L'espèce oxydante a été dégradée par la catalase.

Il peut donc être conclu de cette expérience que le peroxyde d'hydrogène est l'espèce réduite entre -0,4 et 0,2 V/ECS dans l'eau de rivière naturelle du site de Choisy. L'augmentation du potentiel d'abandon sur ce site est due à la réduction de H₂O₂   de faibles surtensions cathodiques.

5.7.3 Synthèse

Les biofilms recouvrant les échantillons d'acier inoxydable immergés dans l'eau de Seine sur le site de Choisy-le-Roi contiennent une quantité non négligeable de peroxyde d'hydrogène. L'eau de rivière n'en contient pas, les molécules de H₂O₂ sont donc produites au sein du biofilm par le métabolisme des microorganismes qui le constituent. Les courbes intensité-

potentiel montrent qu'une réduction se produit à de faibles surtensions cathodiques après un certain temps d'immersion ; cette réduction n'est plus visible lorsque la catalase, une enzyme catalysant la dégradation du peroxyde d'hydrogène, est introduite dans la solution. Par conséquent, le modèle de l'augmentation de E_{corr} liée à la réduction du peroxyde d'hydrogène est tout à fait pertinent ici. La présence de H₂O₂ dans le biofilm a été démontrée. Sa réduction se fait à des potentiels supérieurs à la valeur initiale de E_{corr} , ce qui entraîne une hausse du potentiel d'abandon.

Sur le site de Choisy-le-Roi, les biofilms contiennent du peroxyde d'hydrogène. La réduction de ce composé oxydant à des potentiels plus élevés que la valeur initiale de E_{corr} provoque une augmentation du potentiel de corrosion libre.

Le modèle enzymatique (solution « réactifs enzymatiques ») reproduit correctement en eau de rivière artificielle les processus cathodiques observés en eau de rivière naturelle sur le site de Choisy-le-Roi.

5.8 Synthèse générale : modèle enzymatique de production de H₂O₂

Le modèle enzymatique de production d'un milieu oxydant (peroxyde d'hydrogène) et acide par l'enzyme glucose-oxydase permet de reproduire en eau de rivière artificielle l'évolution de E_{corr} et les modifications des processus cathodiques constatées en eau de rivière naturelle sur le site de Choisy-le-Roi.

➤ Evolution de E_{corr} :

Le modèle enzymatique permet d'obtenir en eau de rivière artificielle la forte augmentation du potentiel de corrosion libre due en eau naturelle à l'action du biofilm. Il permet d'accélérer le processus (pas de temps de latence lorsque les réactifs enzymatiques sont introduits en solution). En revanche, il engendre des instabilités de E_{corr} (en particulier pour la nuance 304L) qui semblent dues à une modification de la couche d'oxydes au contact du peroxyde d'hydrogène (diminution de la résistance du film passif).

➤ Modifications des processus cathodiques au cours de l'immersion

Le modèle enzymatique permet de reproduire parfaitement le comportement cathodique mesuré en eau de rivière naturelle sur le site de Choisy-le-Roi. En particulier, la réaction de réduction du peroxyde d'hydrogène à pH acide se fait à des potentiels plus élevés que la valeur initiale de E_{corr} , ce qui entraîne l'augmentation du potentiel d'abandon.

En revanche, le **comportement anodique**, l'**impédance électrochimique**, la **composition chimique et les propriétés de semi-conductivité du film passif** dans le modèle enzymatique peuvent présenter des différences avec les mesures en eau de rivière naturelle.

Le rôle du peroxyde d'hydrogène est double : en modifiant le courant cathodique par sa réduction à potentiel élevé, il entraîne l'élévation de E_{corr} [1, 73]; en modifiant la couche d'oxydes, il peut provoquer des instabilités du potentiel de corrosion libre [17, 47].

Chapitre 6 : Aptitude à la biocontamination de supports en acier inoxydable par des microorganismes isolés de l'eau de rivière naturelle - Influence sur le potentiel de corrosion libre

Les résultats détaillés dans le chapitre précédent montrent qu'un biofilm d'eau de rivière naturelle est capable de modifier suffisamment le courant cathodique à faible polarisation pour engendrer une augmentation du potentiel de corrosion libre, augmentation conséquente équivalant à une augmentation de la probabilité d'initiation de corrosion par piqûres des aciers inoxydables. Ce biofilm électrochimiquement actif doit dans une première étape adhérer à la surface des échantillons afin de pouvoir ensuite modifier la physico-chimie locale à l'interface matériau/électrolyte et provoquer l'augmentation du courant cathodique (en valeur absolue). Dans ce chapitre, l'adhésion de microorganismes provenant du milieu « eau de rivière naturelle » va être étudiée, afin de détailler les mécanismes mis en jeu lors de ce processus. Des microorganismes modèles isolés à partir du milieu naturel sont employés pour l'étude de la biocontamination de supports en acier inoxydable. L'impact de leur adhésion sur le potentiel de corrosion libre est évalué.

Ce chapitre se décompose en sept parties :

- Isolement de souches microbiennes « sauvages » et sélection de trois isolats modèles ;
- Caractérisation microbiologique des isolats ;
- Caractérisation physico-chimique surfacique des isolats ;
- Caractérisation physico-chimique de la surface des supports en acier inoxydable ;
- Adhésion des isolats sur supports en acier inoxydable en conditions statiques ;
- Justification des différents taux d'adhésion à l'aide des caractérisations physico-chimiques de surface ;
- Conséquence de la biocontamination sur le potentiel de corrosion libre.

6.1 Isolement et sélection de microorganismes provenant de biofilms formés en eau de rivière naturelle

Des souches microbiennes sauvages sont isolées à partir d'écouvillonnages de palplanches et de prélèvements de l'eau de Seine, de « croûte » arrachée de palplanches (feuillet de produits de corrosion) et de boue du site de Poses-Amfreville. Les isolements sont réalisés sur les milieux gélosés utilisés pour les dénombrements bactériens et détaillés en annexe n°9. Ils sont indiqués dans le tableau 37 selon la provenance de l'échantillon.

	Flore aérobie	Flore anaérobie	Entérobactéries	BSR	BTR
Milieu de culture	Plate Count Agar aérobie	Plate Count Agar anaérobie	Mac Conkey	Starkey	Magot
Eau 1	2	2	-	-	-
Eau 2	1	2	-	-	-
Croûte	7	6	1	-	-
Boue	4	7	1	6	5
Ecouvillon 1	3	6	-	-	-
Ecouvillon 2	4	2	2	5	4
Total	21	25	4	11	9
Total général	70				

Tableau 37 : nombre de souches isolées sur les différents milieux de culture gélosés en fonction de la provenance de l'échantillon. Prélèvements effectués sur le site de Poses-Amfreville.

Au total, 70 souches sauvages *a priori* différentes provenant du milieu « eau de rivière naturelle » sont isolées.

Devant la diversité et la complexité des biofilms obtenus sur les échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de rivière naturelle, il a été décidé de procéder à un choix afin de sélectionner quelques souches microbiennes sauvages pour la suite du travail, et en particulier pour l'étude de la bioadhésion et de son influence sur E_{corr} .

Le premier critère de choix est le caractère aérobic des souches. En effet, il a été prouvé que la présence d'oxygène est indispensable à l'augmentation du potentiel de corrosion libre [15], l'élévation du potentiel d'abandon étant due majoritairement au métabolisme de la fraction aérobic du biofilm.

Le deuxième critère de choix est le caractère sessile des isolats. Les modifications électrochimiques qui apparaissent au cours de l'immersion sont dues aux microorganismes sessiles faisant partie du biofilm, et non aux microorganismes planctoniques. Les isolats sessiles sont les souches microbiennes provenant des écouvillonnages de palplanches et des prélèvements de « croûte ».

Ces deux critères de choix permettent de diminuer le nombre de souches microbiennes considérées de 70 à 14 : 7 souches isolées à partir des prélèvements de « croûte » et 7 souches isolées à partir des écouvillonnages de palplanches (chiffres en rouge dans le tableau 37).

Enfin, les caractérisations physico-chimiques de surface des souches microbiennes (cf. §6.3) conduisent à sélectionner trois souches différentes, présentant des propriétés physico-chimiques très distinctes permettant de balayer le « spectre microbien » des isolats du milieu naturel. La biocontamination des aciers inoxydables et son influence sur le potentiel de corrosion libre sont étudiées à l'aide de ces trois isolats modèles.

6.2 Caractérisations microbiologiques des trois isolats

6.2.1 Tests d'orientation et identification des isolats

Les tests d'orientation classiques (test de Gram, oxydase, catalase) et des observations au microscope optique sont effectués sur les trois souches. Les souches notées 1 et 2 sont des bactéries de morphologie bacille, aérobies, Gram-, catalase négatives, oxydase positives. La souche notée 3 est une levure. Le système Biolog[®] a été utilisé pour identifier ces trois souches ; les plaques GN2 (spécifiques pour les bactéries aérobies à Gram négatif) ont permis d'identifier les deux espèces bactériennes et la plaque YT d'identifier la levure. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 38.

N° de la souche	1	2	3
Nature	Bactérie	Bactérie	Levure
Morphologie	Bacille	Bacille	
Espèce	<i>Brevundimonas diminuta</i>	<i>Photobacterium logei</i>	<i>Sporidiobolus johnsonii</i>
Gram	-	-	
Oxydase	+	+	

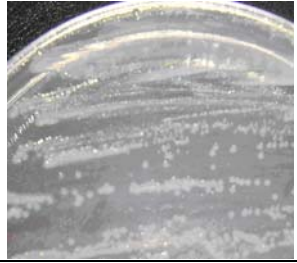
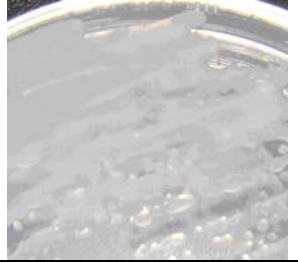
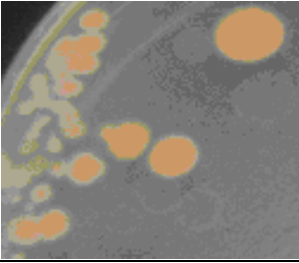
Catalase	-	-	
Diamètre moyen d'une colonie	1 mm	2 mm	5 mm
Aspect visuel des colonies	brillantes, bombées, couleur beige	brillantes, bombées, couleur beige pâle	couleur rouge orangé
Photographie des colonies			

Tableau 38 : identification et caractéristiques microbiologiques des isolats modèles cultivés sur milieu PCA-NaCl

L'annexe 4 indique quelques propriétés et utilisations de ces trois souches microbiennes. Les deux espèces bactériennes 1 et 2 sont (oxydase + ; catalase -), ce qui est le cas de figure le plus favorable au modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase » (§1.2.1). Dans ce modèle, l'augmentation de E_{corr} est liée à la présence de peroxyde d'hydrogène dans le biofilm. La production de ce composé est catalysée par une enzyme de type oxydase, tandis que la catalase (ou la peroxydase) catalyse sa dégradation. Le caractère (oxydase+ ; catalase-) des souches 1 et 2 est ainsi favorable à la production de H_2O_2 .

6.2.2 Courbes de croissance en milieu de culture

Les modalités de préparation des suspensions [259], et en particulier leur phase de croissance [260, 261], ont une forte influence sur les propriétés physico-chimiques de surface des microorganismes. Standardiser le protocole de préparation des suspensions permet de travailler sur des cellules microbiennes ayant toujours le même « état » physico-chimique de surface.

Pour cela, le développement des trois isolats est étudié en laboratoire. Le milieu de culture liquide employé pour la croissance des isolats est un bouillon nutritif (Becton Dickinson, USA) contenant 3 g/L d'extrait de bœuf et 5 g/L de peptone. Le milieu de culture est ensemencé puis mis à l'étuve à 20°C. La densité optique (DO) à 600 nm est mesurée régulièrement sur le troisième repiquage des trois isolats, ce qui permet de tracer des courbes de croissance avec et sans agitation (figure 165).

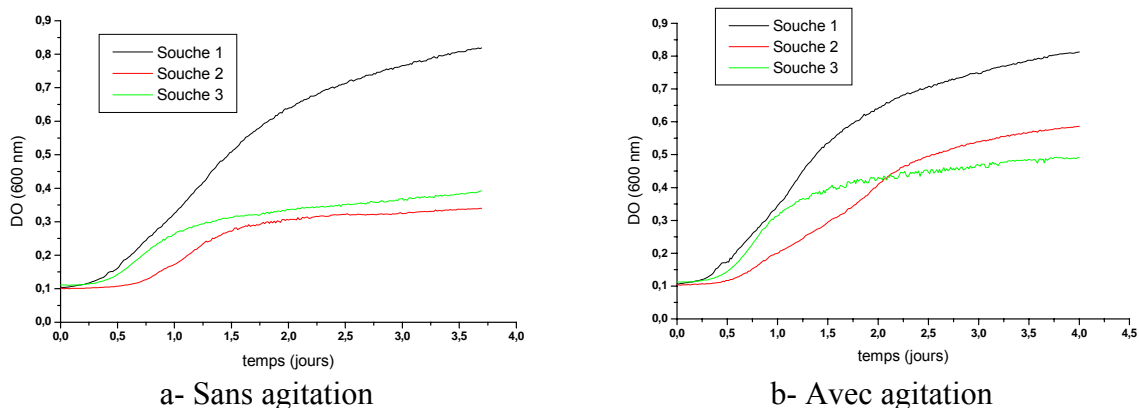


Figure 165 : courbes de croissance des trois isolats dans le milieu BN (troisième repiquage)

La souche 1 croît facilement en l'absence d'agitation. La phase stationnaire est atteinte après environ 4 jours, et la densité optique est alors de 0,8. La croissance est comparable lorsque le milieu est agité.

En l'absence d'agitation, après 4 jours de croissance, les densités optiques des deux autres isolats sont nettement plus faibles. L'agitation des flacons de culture permet d'augmenter la valeur de DO sur les plateaux stationnaires (figure –b) traduisant un développement plus important.

4 jours après le troisième repiquage, les suspensions ont atteint la phase stationnaire de leur développement. Sur la base de ces données et compte-tenu de l'importance des modalités de préparation des suspensions, il a été décidé d'utiliser le protocole de mise en culture suivant :

- Jour 1 : pipetage d'1 mL de suspension contenue dans un cryotube stocké à -20°C (solution de glycérol à 20%) et introduction dans un flacon contenant 200 mL de BN stérile. Mise du flacon à l'étuve à 20°C sur table d'agitation (premier repiquage).
- Jour 4 : pipetage d'1 mL de suspension dans le flacon, introduction dans un nouveau flacon contenant 200 mL de BN stérile, puis mise à l'étuve à 20°C sur table d'agitation (deuxième repiquage).
- Jour 8 : pipetage d'1 mL de suspension dans le flacon, introduction dans un nouveau flacon contenant 200 mL de BN stérile, puis mise à l'étuve à 20°C sur table d'agitation (troisième repiquage).
- Jour 11 : centrifugation (10 minutes à 7000g) des 200 mL de BNensemencé, puis récupération du culot et introduction dans un certain volume d'eau de rivière artificielle (0,3 g/L de NaCl), afin d'obtenir une suspension à la densité optique voulue.

Ce protocole de culture est mis en œuvre avant toutes les autres manipulations (caractérisations physico-chimiques, adhésion statique) afin de standardiser la procédure de préparation des suspensions microbiennes.

6.3 Caractérisations physico-chimiques de surface des trois isolats

La caractérisation des propriétés physico-chimiques de surface des microorganismes est essentielle pour comprendre les interactions bactérie-substrat au sein du liquide environnant pouvant aboutir à une adhésion. Le caractère hydrophile/hydrophobe, le caractère électron-donneur/électron-accepteur et la charge de surface des cellules sont déterminés par la technique MATS (Microbial Adhesion To Solvents) et par zétamétrie.

6.3.1 Hydrophilicité et caractère acide/base au sens de Lewis des microorganismes

Les caractères hydrophile/hydrophobe et acide/base au sens de Lewis des trois isolats microbiens sont déterminés à l'aide de la technique MATS. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 166.

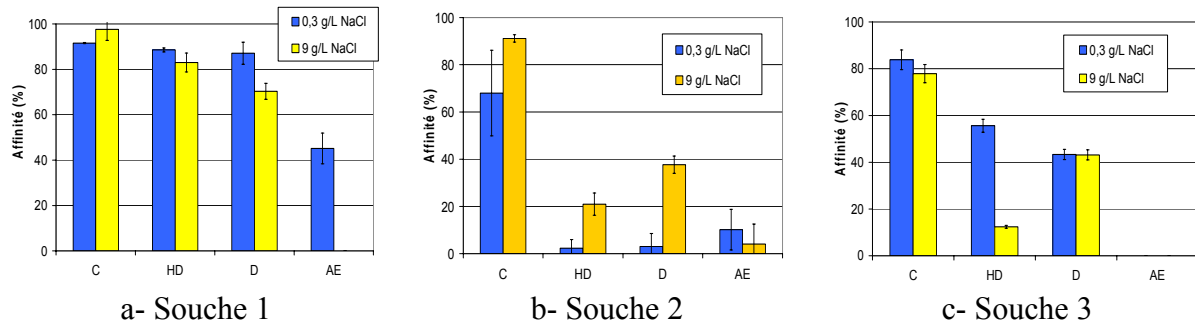


Figure 166 : MATS des 3 isolats en eau de rivière artificielle

La souche 1 a une forte affinité avec le chloroforme (acide de Lewis) et une faible affinité avec l'hexadécane (apolaire), ce qui montre qu'elle a un fort caractère électron-donneur. Son affinité avec l'acétate d'éthyle (base de Lewis) est très faible, son caractère électron-accepteur est très faible. La souche 1 a très peu d'affinité avec les solvants apolaires (hexadécane, décane), en particulier lorsque la force ionique est faible. Elle est donc très hydrophile.

La souche 2 a une forte affinité avec le chloroforme (acide de Lewis) et une affinité nulle avec l'acétate d'éthyle (base de Lewis), ce qui montre qu'elle a un fort caractère électron-donneur. Son affinité avec les solvants apolaires (hexadécane, décane) est plus faible que son affinité avec le chloroforme mais est toutefois non négligeable (en particulier à force ionique faible). Par conséquent, la souche 2 est plutôt hydrophile, mais l'est moins que la souche 1.

La souche 3 a une forte affinité avec l'hexadécane et le décane (apolaires), elle est donc hydrophobe.

6.3.2 Charge de surface des microorganismes

La charge de surface des trois isolats microbiens est déterminée par zétamétrie. Les résultats obtenus sont visibles sur la figure 167.

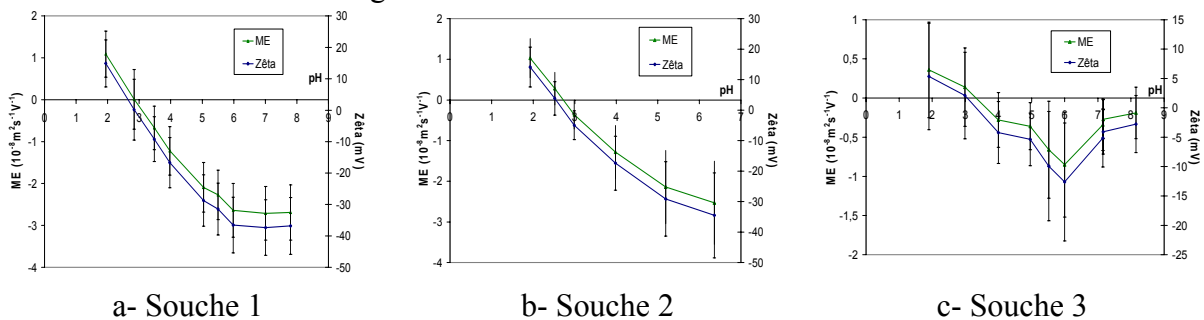


Figure 167 : mobilité électrophorétique et potentiel zêta des trois isolats en eau de rivière artificielle

La souche 1 a un point isoélectrique d'environ 2,8. Au pH de l'eau de rivière artificielle (environ 6), son potentiel zêta de surface est de -36 mV environ. Sa charge de surface est négative et assez élevée en valeur absolue.

La souche 2 a un point isoélectrique d'environ 2,6. Au pH de l'eau de rivière artificielle (environ 6), son potentiel zêta de surface est de -33 mV environ. Sa charge de surface est négative et assez élevée (en valeur absolue), mais légèrement plus faible que la charge de surface de la souche 1.

La souche 3 a un point isoélectrique d'environ 3,2. Au pH de l'eau de rivière artificielle (environ 6), son potentiel zêta de surface est de -12 mV environ. Sa charge de surface est négative et assez faible (en valeur absolue), largement inférieure à la charge de surface des souches 1 et 2.

6.3.3 Synthèse

Les caractérisations physico-chimiques de surface des trois isolats sont récapitulées dans le tableau 39.

N° de la souche	1	2	3
Hydrophile/hydrophobe	Très hydrophile	Hydrophile	Hydrophobe
Acide/base de Lewis	Base	Base	
Charge de surface	- (élevée)	- (élevée)	- (faible)

Tableau 39 : identification et propriétés physico-chimiques de surface des isolats utilisés dans l'étude de la bioadhésion sur acier inoxydable

- Les souches 1 et 2 ont un fort caractère électron-donneur.
- Les trois souches peuvent être classées de la plus hydrophile à la plus hydrophobe : souche 1 > souche 2 > souche 3.
Pour remarque, l'hydrophilie de surface des bactéries Gram- peut être conférée par les lipopolysaccharides présents dans la paroi des cellules [262].
- Les trois souches peuvent être classées de la plus chargée à la moins chargée (en valeur absolue, ces charges étant négatives) : souche 1 > souche 2 > souche 3. La différence de charge entre les souches 1 et 2 est très faible. La levure a de loin la charge de surface la plus faible.

6.4 Caractérisations physico-chimiques de surface des supports

Comme la surface des cellules microbiennes, la surface des aciers inoxydables est caractérisée par son hydrophilicité, son caractère acide/base au sens de Lewis et sa charge globale de surface. La mesure du caractère accepteur/donneur d'électrons et de l'hydrophilie/hydrophobie est réalisée par goniométrie par la mesure d'angles de contact avec différents solvants, et la charge globale de surface est déterminée par la mesure du potentiel zêta.

- Les données énergétiques obtenues pour les trois nuances sont présentées en détail au chapitre 3 et sont rappelées dans le cas du protocole de préparation utilisé (« ultrasons alcool ») dans le tableau 40.

Pour rappel, les surfaces sont basiques au sens de Lewis (elle présentent un fort caractère électron-donneur) et moyennement hydrophobes.

Nuance	θ eau	θ diiodométhane	θ formamide	γ_s^{LW}	γ_s^-	γ_s^+	γ_s^{AB}	γ_s
304L	58,7 $\pm 4,5$	52,4 $\pm 2,6$	47,9 $\pm 5,7$	32,9 $\pm 1,5$	22,8 $\pm 7,5$	0,8 $\pm 0,7$	8,3 $\pm 4,9$	41,2 $\pm 5,1$
316L	66,1 $\pm 9,1$	56,8 $\pm 5,1$	60,0 $\pm 10,5$	30,4 $\pm 2,9$	22,2 $\pm 15,8$	0,1 $\pm 0,6$	3 $\pm 9,9$	33,4 $\pm 10,3$
254SMO	66,1 $\pm 5,3$	45,1 $\pm 2,2$	50,3 $\pm 8,8$	37 $\pm 1,2$	15,3 $\pm 8,4$	0,4 $\pm 0,7$	4,6 $\pm 5,7$	41,6 $\pm 5,8$

Tableau 40 : mesure des angles de contact de l'eau, du diiodométhane et du formamide ($^\circ$) et valeurs des caractéristiques énergétiques de surface ($mJ.m^{-2}$) pour des échantillons d'acier inoxydable ayant subi le traitement de surface « ultrasons alcool »

- Par ailleurs, les mesures de potentiel d'écoulement réalisées sur des échantillons d'acier 304L ont conduit à la détermination d'un potentiel zêta de $-23,5 mV \pm 3,5 mV$.

Quelle que soit la nuance considérée, les surfaces des échantillons d'acier inoxydable sont moyennement hydrophobes et ont un caractère électron-donneur, ainsi qu'un potentiel zêta négatif.

6.5 Adhésion des isolats sur supports en acier inoxydable en conditions statiques

La biocontamination des supports en acier inoxydable par les trois isolats sélectionnés est mesurée directement par des expériences d'adhésion en conditions statiques. Les deux milieux d'étude sont :

- l'eau de rivière artificielle (0,3 g/L de NaCl) ;
- le milieu de culture des souches (bouillon nutritif).

L'adhésion de chaque souche est réalisée séparément. Une suspension obtenue par mélange volume à volume d'un repiquage de chaque souche est aussi utilisée, afin d'examiner l'adhésion d'un consortium microbien. Les 4 conditions microbiologiques testées sont ainsi :

- Souche 1 seule ;
- Souche 2 seule ;
- Souche 3 seule ;
- Consortium microbien « mélange » des trois isolats.

Dans toutes les manipulations, la durée d'adhésion est de 24 heures.

6.5.1 Adhésion statique en eau de rivière artificielle

6.5.1.1 Adhésion des trois souches microbiennes aérobies

Les photographies rassemblées sur la figure 168 sont représentatives des surfaces d'acier inoxydable mises en contact pendant 24 heures avec les suspensions microbiennes en eau de rivière artificielle.

La souche 1 adhère assez fortement. Les cellules sont fixées individuellement sur le support. La souche 2 adhère aussi assez fortement; les cellules sont généralement fixées individuellement, mais elles peuvent aussi développer des structures en réseaux, ce qui indique une interaction bactérie-support faible. En effet, lorsque l'interaction cellule-métal est faible, les rinçages peuvent arracher certaines bactéries adhérentes, tandis que d'autres cellules peuvent se regrouper en amas ou en réseaux. La souche 3 adhère aussi fortement et de manière individualisée; le taux de recouvrement semble important, toutefois la taille caractéristique des levures étant nettement plus élevée que celle des bactéries, le nombre de cellules adhérentes pourrait être plus faible.

Des taux de recouvrement de surface sont calculés par traitement d'image. Les résultats obtenus sont présentés par souche microbienne (-a à -c) et par acier inoxydable (-d à -f) sur la figure 169 sous la forme de graphiques « boîtes à moustaches ». Une analyse de variance est effectuée pour déterminer des différences statistiquement significatives entre les taux de recouvrement moyens dans les différentes conditions expérimentales.

Les différences statistiquement significatives entre les différents taux de recouvrement sont les suivantes :

- Sur les trois nuances d'acier inoxydable, la souche 3 adhère plus que les souches 1 et 2.
- Sur l'acier 316L, la souche 2 adhère plus que la souche 1.
- Les trois nuances d'acier inoxydable peuvent être classées en fonction de leur adhésivité vis-à-vis de la souche 1. L'ordre peut s'écrire, de l'acier ayant la plus forte adhésivité à l'acier ayant la plus faible adhésivité : 254SMO > 316L > 304L.
- Les trois nuances d'acier inoxydable peuvent être classées en fonction de leur adhésivité vis-à-vis de la souche 3. L'ordre peut s'écrire, de l'acier ayant la plus forte adhésivité à l'acier ayant la plus faible adhésivité : 316L > 254SMO > 304L.

La souche 1 semble être un modèle correct de souche sauvage provenant de l'eau de rivière naturelle du point de vue de ses propriétés d'adhésion. En effet, son taux de recouvrement des surfaces augmente avec le pourcentage de molybdène. Ceci est en accord avec les dénombrements de flore sessile effectués sur le site de Choisy-le-Roi (§4.3.2), où les flores totales aérobie et anaérobie ainsi que le nombre de BSR augmentent avec le pourcentage de molybdène (254SMO > 316L > 304L). La teneur en molybdène de l'acier inoxydable pourrait avoir un effet sur sa biocontamination.

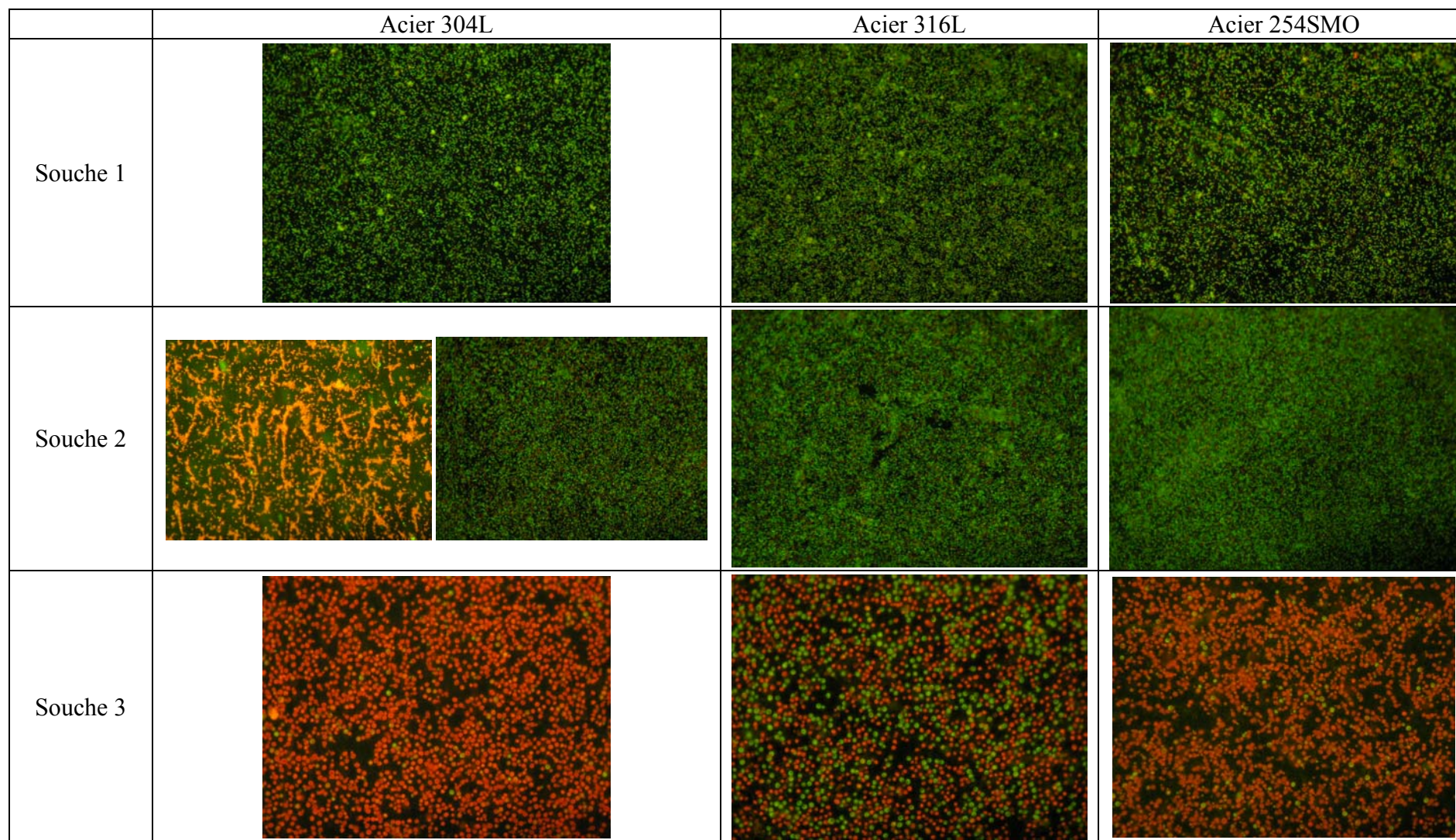


Figure 168 : images représentatives (obtenues par microscopie en épifluorescence) de surfaces d'acier inoxydable après 24 heures de contact avec différentes suspensions microbiennes en eau de rivière artificielle (grossissement X 400)

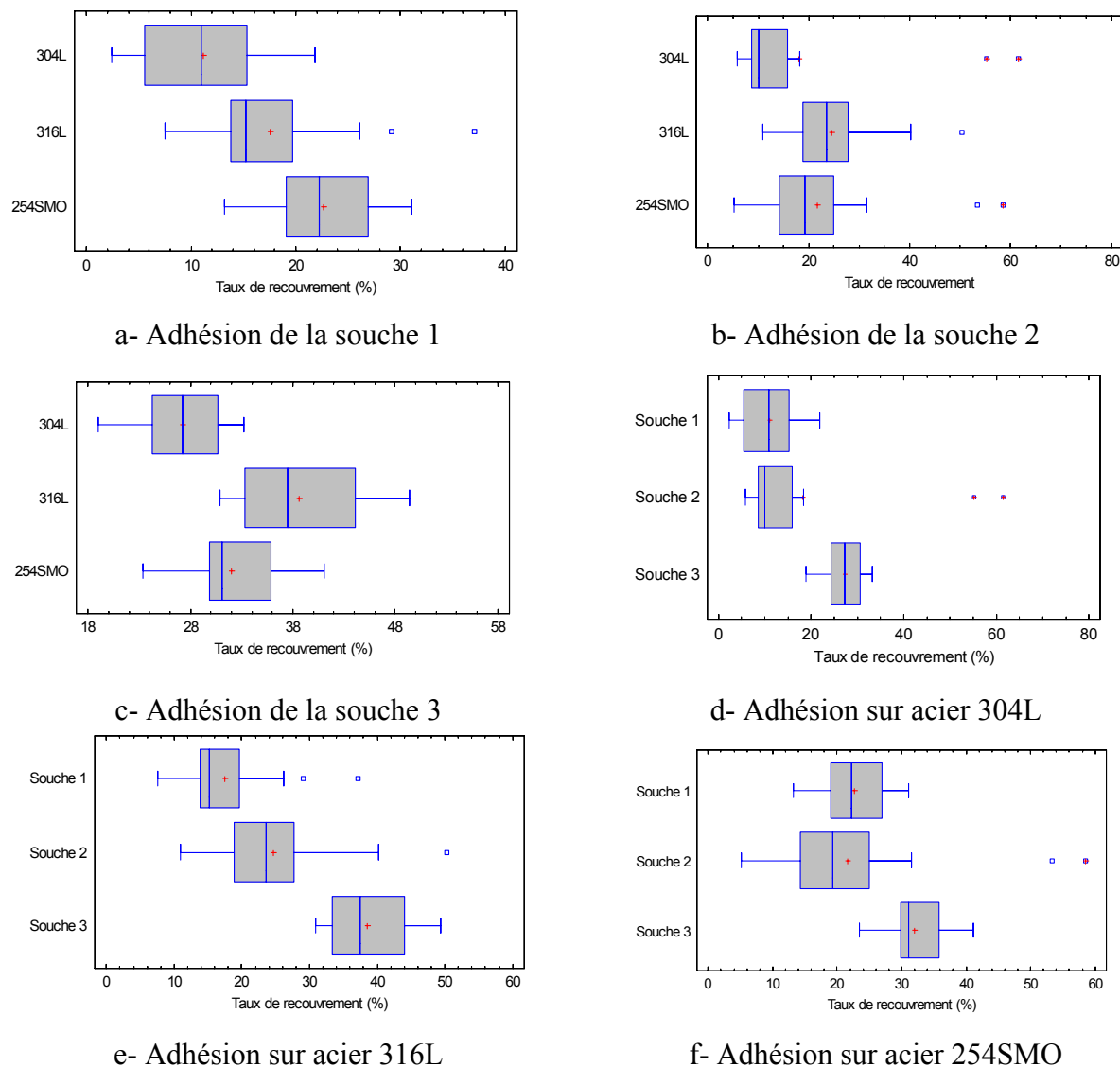


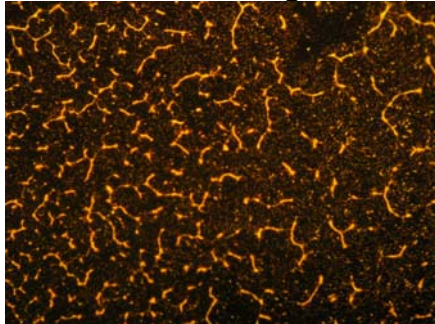
Figure 169 : taux de recouvrement (pourcentage de surface recouverte) des surfaces d'acier inoxydable après 24 heures de contact avec les différentes suspensions microbiennes dans l'eau de rivière artificielle

6.5.1.2 Adhésion d'un consortium microbien

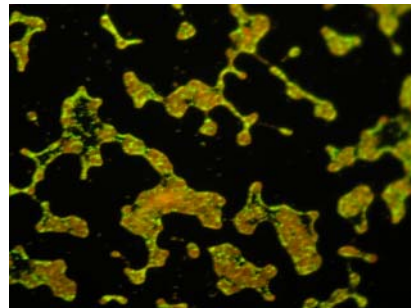
Les photographies de la figure 170 ont été acquises sur les surfaces d'acier inoxydable après 24 heures d'immersion dans une suspension du consortium microbien souche 1/souche 2/souche 3 en eau de rivière artificielle. Les surfaces peuvent présenter deux aspects différents, ce qui est bien illustré par les images -c et -e : soit les cellules adhèrent quantitativement et de manière individualisée (partie inférieure des deux images), soit les cellules se compactent et forment des structures en réseaux, en amas, en « îlots » (partie supérieure des images). Un même échantillon peut présenter ces deux faciès de colonisation en des zones distinctes. Ceci pourrait être dû à des variations spatiales de la déshydratation de la surface.

Les cellules des souches 1 et 2 (bactéries) sont aisément différenciables des cellules de la souche 3 (levures), en particulier sur les images b, d, e et f, où les levures apparaissent de taille importante et présentent une coloration rouge, alors que les bactéries sont de petite taille

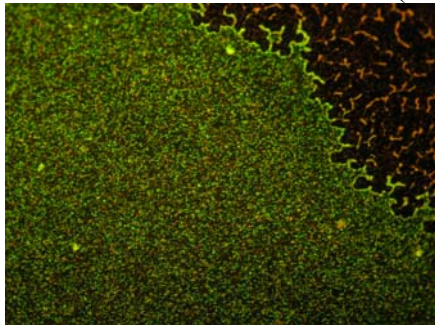
et colorées en vert. La différence de focalisation indique que les bactéries sont au contact direct de la paroi du substrat, alors que la plupart des levures sont situées au-dessus de la première couche de microorganismes, formée principalement de bactéries.



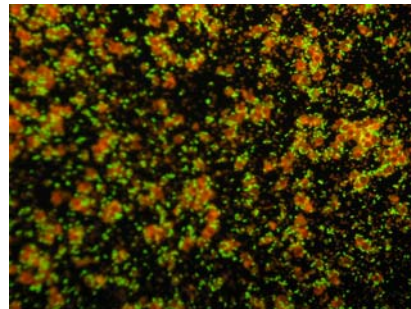
a- Adhésion consortium sur 304L (X100)



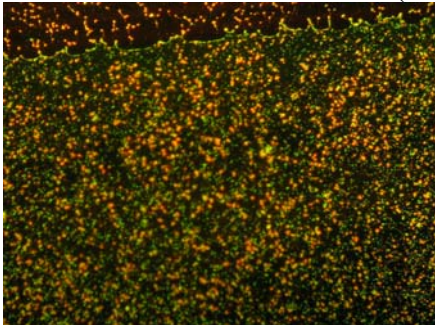
b- Adhésion consortium sur 304L (X400)



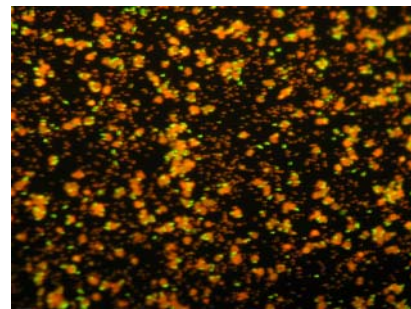
c- Adhésion consortium sur 316L (X100)



d- Adhésion consortium sur 316L (X400)



e- Adhésion consortium sur 254SMO (X100)



f- Adhésion consortium sur 254SMO (X400)

Figure 170 : images représentatives (obtenues par microscopie en épifluorescence) de surfaces d'acier inoxydable après 24 heures de contact avec une suspension d'un consortium microbien en eau de rivière artificielle

6.5.2 Adhésion statique en bouillon nutritif

6.5.2.1 Adhésion des trois souches microbiennes aérobies

Les photographies visibles sur la figure 171 sont représentatives des surfaces d'acier inoxydable mises en contact pendant 24 heures avec les suspensions microbiennes (en bouillon nutritif, noté BN). Les suspensions ont été dénombrées en début et en fin d'adhésion, après 24 heures d'immersion (tableau 41). En fin d'adhésion, toutes les suspensions microbiennes contiennent plus de 10^7 UFC/mL.

	Souche 1	Souche 2	Souche 3	Consortium
Dénombrement en début d'adhésion	$> 10^7$ UFC/mL	$2,5 \cdot 10^6$ UFC/mL	$1,5 \cdot 10^3$ UFC/mL	$8,6 \cdot 10^5$ UFC/mL
Dénombrement en fin d'adhésion (24h)	$> 10^7$ UFC/mL	$> 10^7$ UFC/mL	$> 10^7$ UFC/mL	10^7 UFC/mL

Tableau 41 : dénombrements bactériens du milieu de culture en début et en fin d'adhésion

La souche 1 adhère sous la forme de nombreux amas diffus. Très peu de cellules isolées sont présentes à la surface des matériaux. La souche 2 adhère sous la forme de réseaux, présentant aussi quelques gros amas ; toutefois, de nombreuses cellules isolées adhèrent sur les supports. Enfin, la souche 3 adhère de manière totalement individualisée. Les faciès de colonisation sont proches de ceux observés en eau de rivière artificielle, à l'exception des amas diffus formés par la souche 1, dont l'adhésion était plus individualisée dans l'eau de rivière artificielle.

Des taux de recouvrement de surface ont été calculés par traitement d'image. Les résultats obtenus sont présentés par souche microbienne (-a à -c) et par acier inoxydable (-d à -f) sur la figure 172 sous la forme de graphiques « boîtes à moustaches ». Une analyse de variance a été réalisée pour déterminer des différences statistiquement significatives entre les taux de recouvrement moyens des différentes conditions expérimentales.

Les différences statistiquement significatives entre les différents taux de recouvrement sont les suivantes :

- Sur les trois nuances d'acier inoxydable, la souche 2 est celle qui adhère le moins.
- La souche 1 adhère plus sur l'acier 254SMO que sur l'acier 316L.
- La souche 2 adhère plus sur l'acier 316L que sur l'acier 254SMO.

L'effet de la teneur en molybdène de l'acier sur l'adhésion de la souche 1 est retrouvé. La biocontamination de la surface par la souche 1 est plus importante lorsque le pourcentage en molybdène est plus élevé.

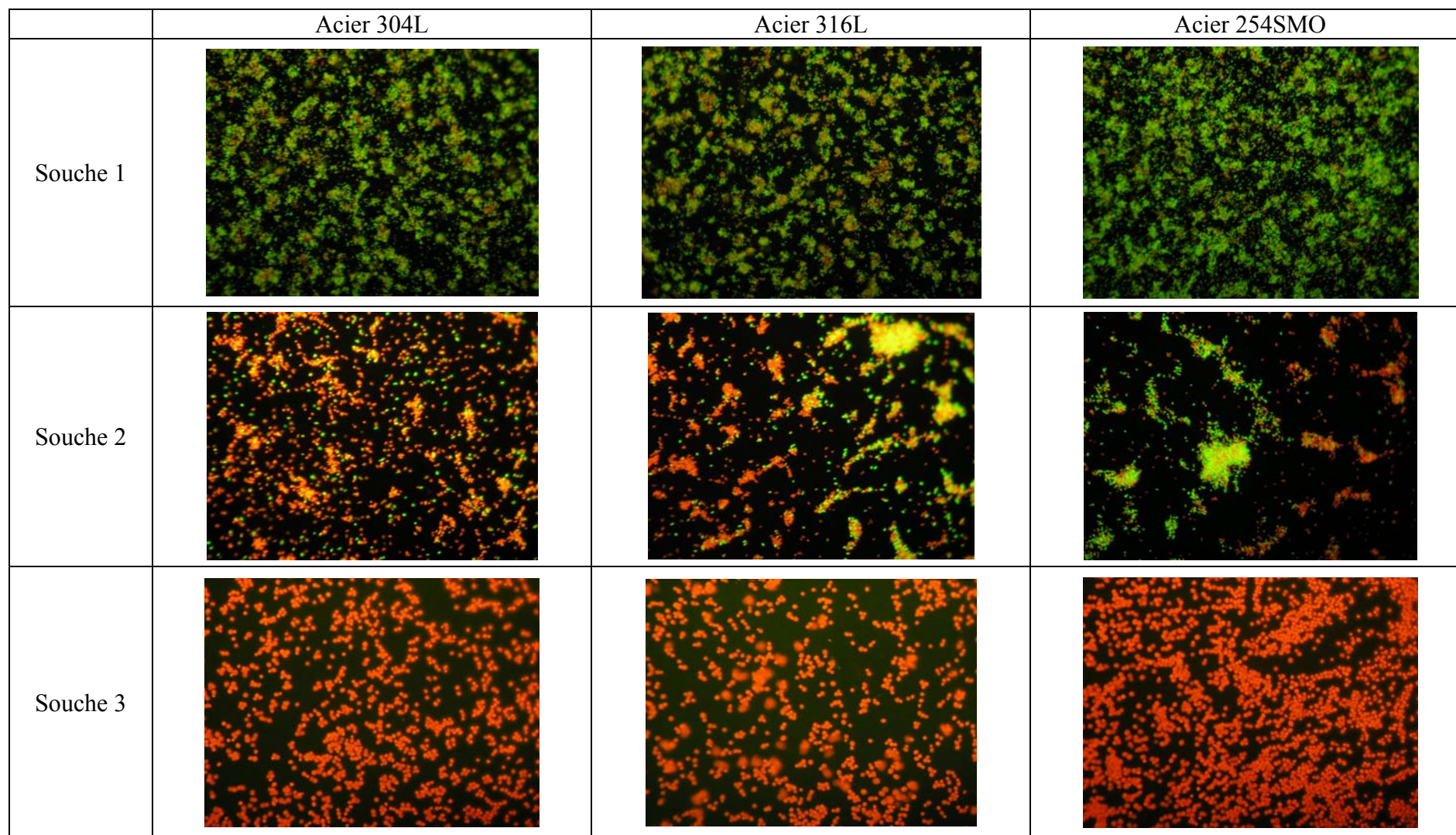


Figure 171 : images représentatives (obtenues par microscopie en épifluorescence) de surfaces d'acier inoxydable après 24 heures de contact avec différentes suspensions microbiennes en bouillon nutritif (grossissement X 400)

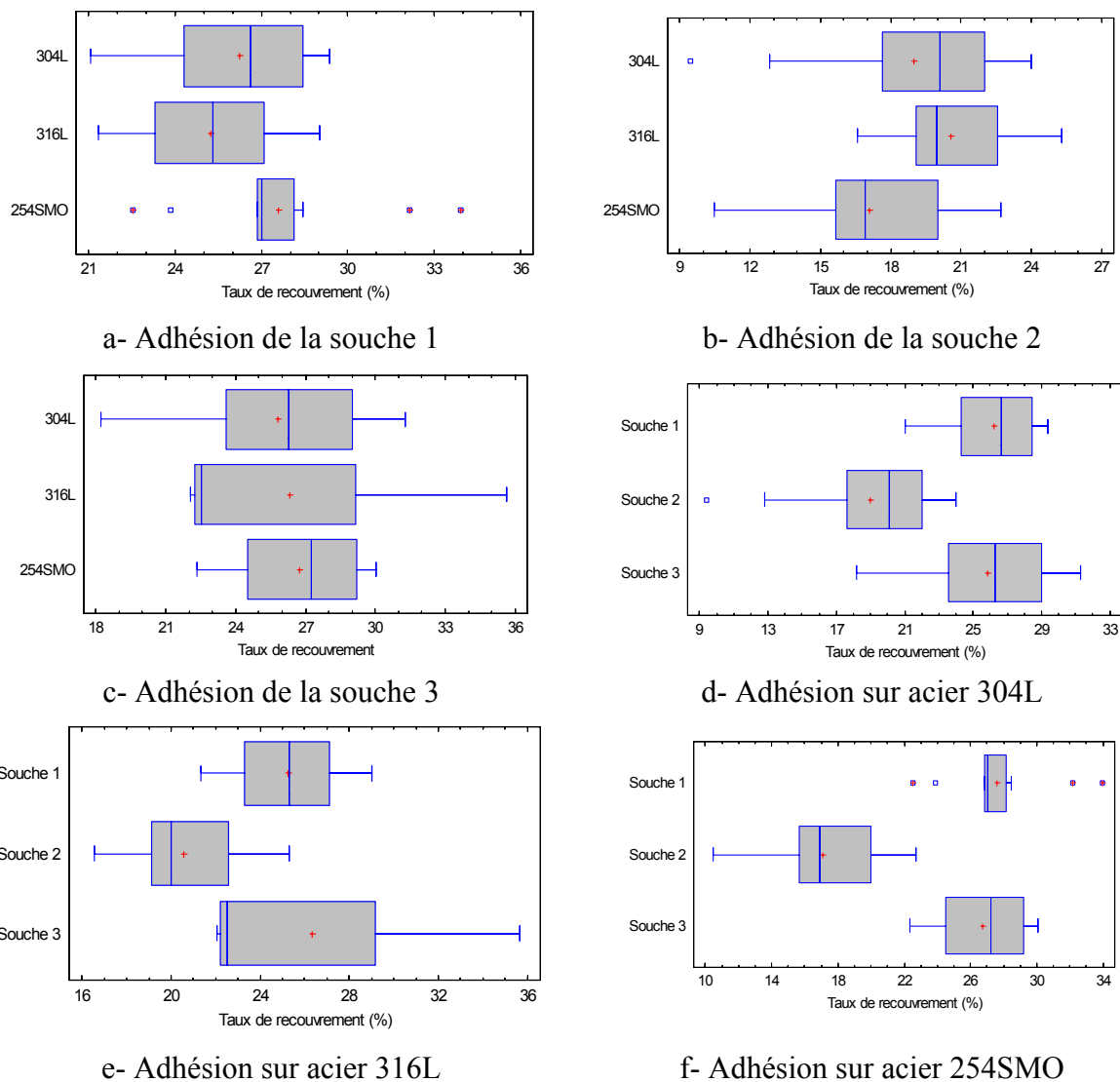
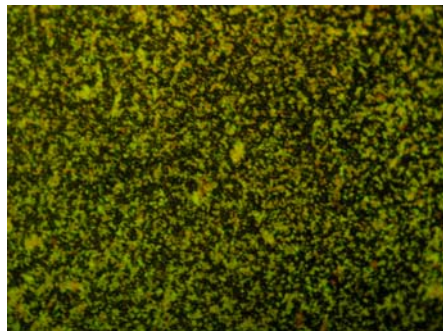


Figure 172 : taux de recouvrement (pourcentage de surface recouverte) des surfaces d'acier inoxydable après 24 heures de contact avec les différentes suspensions microbiennes en bouillon nutritif

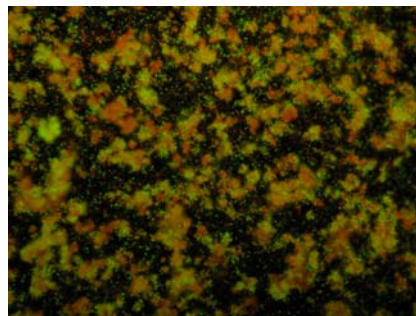
6.5.2.2 Adhésion d'un consortium microbien

Les photographies de la figure 173 ont été acquises sur les surfaces d'acier inoxydable après 24 heures d'immersion dans une suspension du consortium microbien souche 1/souche 2/souche 3 en bouillon nutritif.

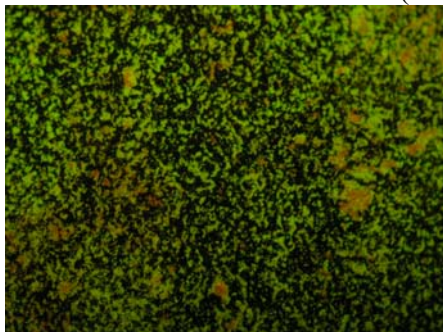
Le faciès de colonisation est proche de celui de la souche 1 en bouillon nutritif : de nombreuses cellules adhérentes sont regroupées en amas, en îlots. Des cellules isolées sont toutefois visibles à la surface des échantillons. Les levures de la souche 3 sont visibles sur certaines photographies (figure 173–f par exemple). La différence de focalisation indique que les cellules en contact direct avec le support sont majoritairement les bactéries (souches 1 et 2), alors que les levures semblent n'être présentes qu'au-dessus de la première couche de bactéries adhérentes.



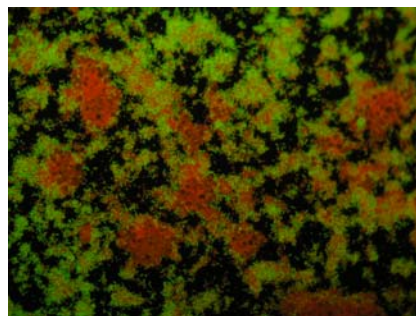
a- Adhésion consortium sur 304L (X100)



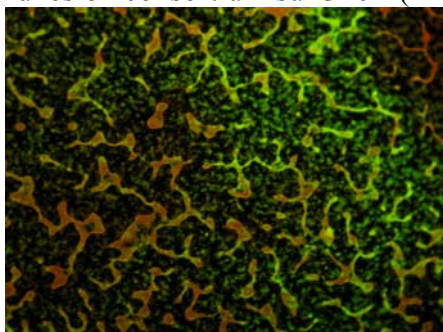
b- Adhésion consortium sur 304L (X400)



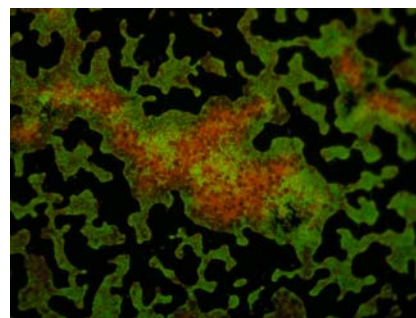
c- Adhésion consortium sur 316L (X100)



d- Adhésion consortium sur 316L (X400)



e-Adhésion consortium sur 254SMO (X100)



f- Adhésion consortium sur 254SMO (X400)

Figure 173 : images représentatives (obtenues par microscopie en épifluorescence) de surfaces d'acier inoxydable après 24 heures de contact avec une suspension d'un consortium microbien en bouillon nutritif BN

6.5.3 Synthèse

Les résultats expérimentaux obtenus par expérience d'adhésion en conditions statiques sont résumés dans le tableau 42, qui compare les taux de recouvrement de surface en fonction de la souche microbienne sélectionnée et de la nuance d'acier inoxydable support.

	Acier 304L	Acier 316L	Acier 254SMO	Souche 1	Souche 2	Souche 3
Eau de rivière artificielle	3 > 1 3 > 2	3 > 2 > 1	3 > 1 3 > 2	254SMO > 316L > 304L	304L ≈ 316L ≈ 254SMO	316L > 254SMO > 304L
BN	1 > 2 3 > 2	1 > 2 3 > 2	1 > 2 3 > 2	254SMO > 316L	316L > 254SMO	304L ≈ 316L ≈ 254SMO

Tableau 43 : comparaison des taux de recouvrement de surfaces en acier inoxydable après 24 heures de contact avec les suspensions des trois souches microbiennes dans deux milieux différents

Sur une même nuance d'acier inoxydable, les taux de recouvrement des 3 isolats ne sont pas équivalents. Des différences d'adhésion notables sont relevées.

Avec un même isolat, les taux de recouvrement des trois nuances ne sont pas non plus équivalents. Toutefois, aucune tendance générale commune aux trois souches microbiennes ne peut être dégagée. La teneur en molybdène pourrait jouer un rôle, en particulier au niveau des taux de recouvrement de surface par la souche 1 (effet bénéfique du molybdène). Toutefois, comme il a été rappelé plus haut, la présence d'une couche organique adsorbée à la surface des échantillons est inévitable et peut masquer un éventuel effet de la composition chimique sur la colonisation des différentes nuances.

Par ailleurs, les expériences d'adhésion d'un consortium bactérien constitué des trois souches microbiennes ont montré que la première couche adhérente est formée majoritairement de bactéries (souches 1 et 2). Les levures (souche 3) sont aussi capables d'adhérer, elles sont effectivement retrouvées au-dessus de la première couche adhérente. L'adhésion des levures semble se faire après celle des bactéries.

6.6 Discussion

Les différences de taux d'adhésion entre les diverses conditions expérimentales sont interprétables à l'aide des caractérisations physico-chimiques de la surface des cellules microbiennes et des supports en acier inoxydable.

En eau de rivière artificielle :

- La surface des supports est moyennement hydrophobe. La souche 3 est très hydrophobe, alors que les souches 1 et 2 sont plutôt hydrophiles. Les interactions électrodynamiques sont plus favorables à l'adhésion de la souche 3, ce qui justifie le fort taux d'adhésion relevé pour cet isolat. La souche 3 est effectivement l'isolat qui adhère le mieux dans ce milieu.
- La différence d'adhésion entre la souche 1 et la souche 2 est plutôt minime ; c'est sur l'acier 316L qu'elle est la plus importante, et la souche 2 adhère légèrement mieux que la souche 1. Ceci est en accord avec les charges de surface des microorganismes. En effet, la souche 1 a une charge négative plus forte en valeur absolue que la souche 2. Or la surface des supports est aussi chargée négativement. Les interactions électrostatiques sont donc plus répulsives pour la souche 1 que pour la souche 2, qui adhère effectivement plutôt mieux que la souche 1.

Dans le bouillon nutritif, la souche 3 est aussi celle qui adhère le plus. Cette forte aptitude à la biocontamination est conférée aux cellules par leur fort caractère hydrophobe de surface. En revanche, les expériences d'adhésion statique montrent que la souche 1 adhère plus quantitativement que la souche 2, ce qui est l'inverse des prévisions théoriques. L'effet de la charge de surface semble être fortement diminué dans le bouillon nutritif. Comme en eau de rivière artificielle, aucune tendance générale ne permet de caractériser une différence significative d'adhésivité entre les trois nuances d'acier inoxydable.

Par ailleurs, les expériences d'adhésion statique du consortium microbien montrent que la première couche de microorganismes adhérents, en contact direct avec l'acier, est formée

majoritairement des bactéries des souches 1 et 2, alors que les levures ne sont trouvées qu'au-dessus de cette première couche. Pourtant, parmi les trois souches étudiées, la souche 3 est celle qui adhère le plus. Cette différence entre le comportement du consortium microbien et le comportement des souches isolées provient de la différence de taille entre les bactéries et les levures. La taille caractéristique des bactéries est en effet bien inférieure à la taille caractéristique des levures ; les cellules bactériennes plus petites sont plus proches de la surface du support, alors que leur taille importante limite le déplacement des levures. Les dimensions des levures semblent produire une gêne stérique qui retarde leur adhésion.

La biocontamination d'un matériau se fait en deux étapes successives :

- étape de transport de matière ;
- étape d'interaction physico-chimique avec la surface.

Les résultats obtenus montrent que le phénomène de transport de matière est une étape-clé de la biocontamination d'une surface. L'apport de matière organique et de composés minéraux se fait par mouvement du fluide (sédimentation, écoulement, convection, mouvement brownien). Le transport de cellules vivantes peut aussi se faire grâce à leur mobilité propre (flagelles). Dans le cas de l'adhésion du consortium comprenant des bactéries et des levures, ce sont les bactéries (faibles dimensions) qui adhèrent en premier, malgré leurs propriétés physico-chimiques moins favorables à l'adhésion que celles des levures (dimensions plus élevées). Si l'étude des caractéristiques physico-chimiques de surface des cellules est indispensable à la compréhension des différences d'adhésion, le transport de matière doit aussi être pris en compte dans une étude de la biocontamination.

6.7 Evolution du potentiel de corrosion libre en présence des isolats

L'étude de l'adhésion des trois isolats sur les supports en acier inoxydable a montré qu'un biofilm se forme à la surface du matériau dans toutes les conditions expérimentales testées. En particulier, lorsqu'un échantillon d'acier inoxydable est introduit dans un milieu de culture (BN) contenant les trois microorganismes, sa surface est d'abord colonisée par les bactéries (souches 1 et 2), puis les levures se greffent sur le biofilm. Un écosystème microbien se forme ainsi sur la paroi du substrat.

Il a été montré que les deux bactéries sont oxydase-positives et catalase-négatives, cas de figure le plus favorable à la production de H_2O_2 au sein du biofilm. Ces deux souches du milieu naturel sont susceptibles de générer du peroxyde d'hydrogène à proximité de la surface du métal, et donc de provoquer une augmentation du potentiel de corrosion libre des aciers inoxydables.

Le potentiel d'abandon d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans une suspension du consortium microbien (en bouillon nutritif) a été suivi au cours du temps. Les résultats sont représentés sur la figure 174, ainsi que les valeurs de E_{corr} d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans du BN stérile.

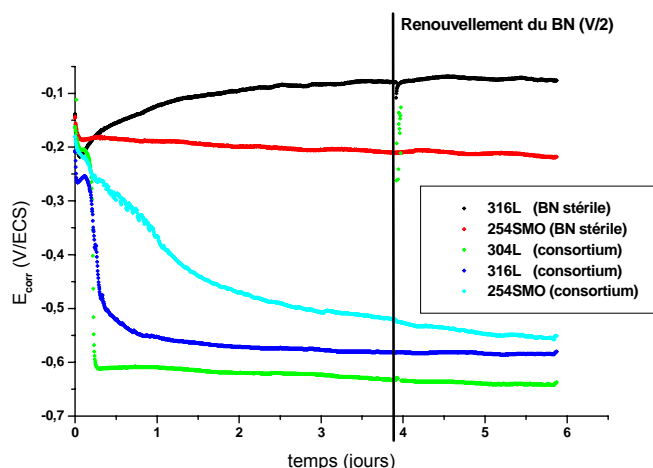


Figure 174 : suivi du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans du bouillon nutritif soit stérile, soit ensemencé par les trois isolats à $t = 0$, avec renouvellement du BN après 4 jours d'immersion environ

Le potentiel de corrosion libre des échantillon immergés dans le BN stérile est stable au cours du temps. Il est compris entre -220 et -80 mV/ECS. En revanche, le potentiel de corrosion libre des échantillons immergés dans le BN ensemencé avec les souches 1, 2 et 3 diminue au cours du temps jusqu'à atteindre une valeur stationnaire comprise entre -640 et -520 mV/ECS après 4 jours d'immersion. Ces valeurs de potentiel d'abandon sont très faibles et caractérisent un milieu appauvri en oxygène dissous. Cette diminution de la concentration en oxygène est due à la respiration des souches microbiennes aérobies. Le renouvellement du milieu de culture (la moitié du volume total) après 4 jours d'expérimentation ne modifie pas les valeurs de E_{corr} .

La même expérience a été réalisée avec ajout d'une solution de glucose stérile dans le réacteur après 6 jours d'immersion. Le suivi du potentiel de corrosion libre des différents échantillons est visible sur la figure 175, ainsi que les valeurs de E_{corr} d'un échantillon d'acier 304L immergé dans un réacteur contenant du BN stérile.

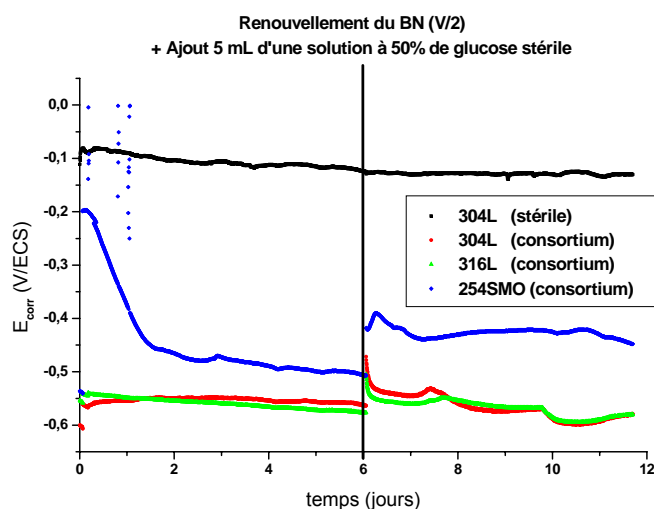


Figure 175 : suivi du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans du bouillon nutritif soit stérile, soit ensemencé par les trois isolats à $t = 0$, avec renouvellement du BN et ajout d'une solution de glucose stérile après 6 jours d'immersion

Comme dans la manipulation précédente, l'échantillon immergé dans le milieu de culture stérile a un potentiel de corrosion libre stationnaire d'environ -130 mV/ECS. Les potentiels d'abandon des échantillons d'acier inoxydable immergés dans le BNensemencé sont très faibles, prenant des valeurs stationnaires comprises entre -580 et -480 mV/ECS après 4 jours d'immersion. Ces valeurs sont caractéristiques d'un milieu appauvri en oxygène dissous. Le renouvellement de la moitié du volume total du BN et l'ajout d'une solution de glucose stérile entraînent dans un premier temps une légère augmentation de E_{corr} (pouvant atteindre une centaine de mV), puis le potentiel d'abandon diminue et reprend une valeur comprise entre -600 et -450 mV/ECS.

De telles valeurs témoignent d'une forte diminution de la concentration en oxygène dissous.

Une expérience d'immersion d'échantillons d'acier inoxydable dans du BNensemencé a été réalisée sous bullage d'air stérile (passant par plusieurs filtres successifs ayant des pores de diamètre 0,2 μm) afin de pallier l'appauvrissement en oxygène dissous dû à la respiration des microorganismes aérobies. L'évolution du potentiel de corrosion libre au cours du temps a été mesurée et est représentée sur la figure 176.

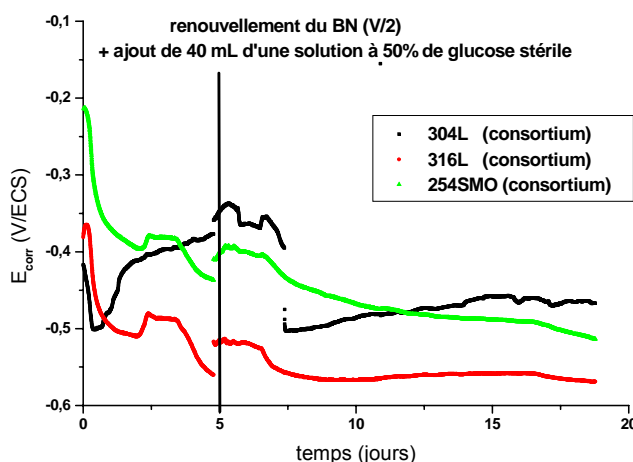


Figure 176 : suivi du potentiel de corrosion libre d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans du bouillon nutritif ensemencé par les trois isolats à $t = 0$, sous bullage d'air stérile dans le milieu de culture, avec renouvellement du BN et ajout d'une solution de glucose stérile après 5 jours d'immersion

Malgré l'apport régulier en oxygène, le potentiel de corrosion libre des échantillons diminue au cours du temps. Après 15 jours d'immersion dans le BNensemencé, E_{corr} est compris entre -560 et -450 mV/ECS. Le flux d'air stérile est vraisemblablement insuffisant pour compenser la consommation d'oxygène par la respiration des microorganismes.

6.8 Synthèse

Trois souches microbiennes aérobies sessiles (une levure et deux bactéries) ont été isolées à partir du milieu « eau de rivière naturelle ». L'étude de la biocontamination de supports en acier inoxydable par ces trois isolats a été effectuée.

➤ **Adhésion des trois isolats :**

La levure (souche 3) est le microorganisme qui adhère en plus grande quantité sur tous les supports en acier inoxydable, ce qui est en accord avec l'hydrophobicité de surface du matériau et des cellules.

La légère différence d'adhésion des deux bactéries en eau de rivière artificielle est expliquée par leurs charges de surface. Les interactions électrostatiques sont plus répulsives pour la souche 1 que pour la souche 2. En revanche, leur adhésion dans le milieu de culture (BN) ne correspond pas aux caractérisations physico-chimiques ; l'effet des charges de surface semble être masqué, ce qui pourrait être dû à un affaiblissement des interactions électrostatiques.

➤ **Transport de matière :**

La biocontamination d'une surface se fait en deux étapes : une première étape de transport de matière à la surface, et une étape d'interaction physico-chimique entre la surface des cellules et celle du support. Le transport de matière est une étape préliminaire indispensable à la colonisation de la surface.

L'importance des phénomènes de transport est ici mise en évidence par l'étude de l'adhésion d'un consortium microbien, mettant en jeu deux espèces bactériennes et une levure. La levure a des caractéristiques physico-chimiques de surface (en particulier une hydrophobicité) très favorable à son adhésion ; elle adhère effectivement en plus grande quantité que les deux autres microorganismes, lorsque l'adhésion se fait de manière isolée. En revanche, lorsqu'un échantillon d'acier inoxydable est introduit dans une suspension mélangeant les trois isolats, les microorganismes qui adhèrent les premiers sont les bactéries, qui ont une taille plus réduite et dont le transport est facilité. Les levures, capables de développer de fortes interactions avec le support, sont « handicapées » par leur volume élevé. L'adhésion du consortium est régulée en premier lieu par le transport de matière.

➤ **Influence du biofilm (consortium) sur le potentiel de corrosion libre :**

L'augmentation du potentiel de corrosion libre au cours du temps, systématique sur des échantillons d'acier inoxydable immergés en eau de rivière naturelle, n'a pas été retrouvée dans les suspensions des trois isolats microbiens (dont deux bactéries oxydase +, catalase -). Les trois microorganismes isolés du milieu « eau de rivière naturelle » ne sont pas capables de provoquer une augmentation de E_{corr} significative dans les expériences de laboratoire.

Discussion générale
Conclusions et Perspectives

Ce chapitre va se focaliser autour de plusieurs grands points abordés successivement.

➤ **Mécanismes de l'augmentation de E_{corr} en eau de rivière naturelle**

Un dispositif original d'exposition d'échantillons métalliques et de mesure de leur potentiel d'abandon, spécialement conçu et usiné pour cette étude, a permis de caractériser *in situ* le comportement électrochimique des aciers inoxydables immergés dans la Seine.

Il a été démontré que les aciers inoxydables voient leur potentiel de corrosion libre augmenter au contact de l'eau de rivière naturelle, après un certain temps de latence. Cette élévation de E_{corr} est systématique, quelle que soit la nuance de l'alliage, quel que soit le lieu d'exposition et quelle que soit la saison.

L'évolution du comportement anodique n'a pas d'influence notable sur le potentiel d'abandon, c'est l'évolution des processus cathodiques qui entraîne la hausse de E_{corr} . Sur les deux sites sélectionnés, une nouvelle réduction apparaît durant l'immersion. Dans les deux cas, cette réduction se produit à des potentiels plus élevés que la valeur initiale du potentiel de corrosion libre, ce qui provoque son augmentation. Cependant, l'espèce oxydante synthétisée n'est pas la même sur les deux sites.

Sur le site de Choisy-le-Roi, du peroxyde d'hydrogène se forme dans l'électrolyte à proximité de la surface sous l'influence du biofilm. La réduction du H_2O_2 implique la hausse de E_{corr} . Le mécanisme reliant l'évolution de E_{corr} à la production de H_2O_2 dans le biofilm est reconnu et fréquemment mis en évidence en eau de mer naturelle. Ce travail montre que ce mécanisme peut aussi expliquer certains phénomènes de biocorrosion en eau de rivière naturelle.

Sur le site de Flins, du manganèse oxydé est déposé (en faible quantité) sur la surface des échantillons. Sa réduction à des valeurs de potentiel élevées entraîne l'augmentation de E_{corr} . Le mécanisme reliant l'évolution de E_{corr} à la biominéralisation d'oxydes de manganèse a déjà été identifié dans de nombreuses expérimentations pratiquées en eau de rivière naturelle. Il s'applique dans le cas du site de Flins.

Cette étude démontre la pluralité des mécanismes aboutissant à une même augmentation de E_{corr} , c'est-à-dire à une même augmentation de la probabilité d'amorçage de la corrosion par piqûres. La littérature oppose souvent le mécanisme lié à la synthèse de H_2O_2 et le mécanisme de biodéposition des oxydes de manganèse. Les résultats expérimentaux montrent que ces deux mécanismes peuvent se produire dans un même cours d'eau, en deux points d'exposition différents. Ces mécanismes ne sont pas antagonistes mais complémentaires. Ils reposent tous les deux sur la formation d'un composé oxydant dans le biofilm à proximité de la surface. L'autre dénominateur commun est le rôle joué par les enzymes extracellulaires secrétées par les microorganismes dans leur milieu extérieur. En effet, la concentration en peroxyde d'hydrogène dans le biofilm dépend de la présence et de la teneur des oxydases (telle que la glucose-oxydase) catalysant sa formation et des enzymes catalysant sa décomposition (catalase, peroxydase). De la même façon, la précipitation et la quantité de matière des oxydes de manganèse déposés à la surface dépendent (au moins pour partie) de la teneur en certaines enzymes catalysant l'oxydation de Mn(II) (laccases, manganèse-peroxydase). Dans les deux cas, les enzymes impliquées sont directement à l'origine de l'augmentation de E_{corr} .

Ces deux mécanismes ne sont pas exclusifs et pourraient se dérouler de manière simultanée. Le peroxyde d'hydrogène pourrait même introduire un couplage compétitif entre les deux processus : la catalyse de l'oxydation de Mn(II) en Mn(III) par la Mn-peroxydase ne se fait effectivement qu'en présence de H_2O_2 (équation (31)). La concentration en peroxyde

d'hydrogène est donc aussi affectée par l'oxydation du Mn(II) en Mn(III) : les deux processus interagissent.

Les deux mécanismes enzymatiques peuvent être trouvés à la fois en eau de rivière naturelle (démontré dans cette étude) et en eau de mer naturelle. En effet, le processus de biominéralisation des oxydes de manganèse par les microorganismes mangano-oxydants semble aussi s'appliquer à certains cas d'augmentation de E_{corr} en eau de mer naturelle. Plusieurs travaux expérimentaux ont mis en évidence la présence de bactéries mangano-oxydantes et de dépôts d'oxydes de manganèse à la surface d'échantillons en acier inoxydable immergés en eau de mer naturelle et ayant un potentiel de corrosion libre élevé [263, 264]. Aucun des deux mécanismes n'est spécifique à un type d'eau naturelle.

Pour conclure, dans tous les milieux aqueux naturels, les modifications du comportement électrochimique des aciers inoxydables générées par le biofilm pourraient provenir essentiellement de son activité enzymatique.

➤ **Temps de latence avant augmentation de E_{corr}**

Il peut être remarqué que la courbe $E_{\text{corr}}(t)$ en eau de rivière naturelle a la même allure qu'une courbe de croissance microbienne. Le temps de latence avant augmentation dépend dans les deux cas de la température du milieu. Après la phase de latence, la grandeur considérée (potentiel ou concentration microbienne) augmente exponentiellement, jusqu'à atteindre une phase de saturation où elle prend une valeur constante.

Wei *et al* [13] ont montré qu'en eau de mer naturelle les évolutions de E_{corr} et de la concentration en bactéries sessiles sont liées. Les deux paramètres augmentent fortement durant les premières 24 heures, puis l'augmentation ralentit jusqu'à stabilisation. Selon l'auteur, la hausse du potentiel d'abandon est importante lors de la phase d'adhésion pionnière de la première strate de microorganismes mais s'amenuise lorsque les microorganismes du biofilm entrent dans leur phase de reproduction. Dans cette étude, le temps de latence est nul, ce qui est relativement fréquent lors d'expositions en eau de mer naturelle (cf. figure 1).

En eau de rivière naturelle, les points communs de la courbe $E_{\text{corr}}(t)$ et d'une courbe de croissance microbienne semblent indiquer que le potentiel d'abandon et la concentration en microorganismes sessiles (ou le taux de recouvrement de la surface) pourraient être directement liés.

➤ **Hétérogénéité et diversité du biofilm**

Ce travail a montré que les biofilms se développant sur support en acier inoxydable en eau de rivière naturelle sont discontinus et très hétérogènes. Cette hétérogénéité est un élément moteur du développement d'une corrosion du matériau sous-jacent, par exemple par la formation de cellules de concentration (d'oxygène, d'ions métalliques...).

Ces biofilms sont constitués de macromolécules et de nombreux genres biologiques : bactéries, levures, algues et micro-algues, champignons, protozoaires... Leur biodiversité paraît constituer un sujet d'étude intéressant. Très souvent, les travaux de recherche en biocorrosion se focalisent uniquement sur le rôle joué par les bactéries et leur métabolisme. En réalité, la Corrosion Induite par les Microorganismes résulte de la contamination de la surface par un consortium microbien complexe.

➤ **Pertinence du modèle d'adhésion utilisé en eau de rivière artificielle**

A partir de prélèvements du milieu naturel, des isollements de souches sauvages sessiles ont permis de travailler en laboratoire avec un consortium microbien présentant, bien qu'à un degré de complexité moindre que les biofilms d'eau naturelle, une certaine biodiversité (2 espèces bactériennes, 1 espèce de levure). L'étude de la biocontamination de supports en acier inoxydable par ce consortium a mis en valeur l'importance de la première étape de formation d'un biofilm, la phase du transport de matière.

Durant cette étape, le devenir de chaque microorganisme est davantage fonction de ses dimensions caractéristiques que de ses caractéristiques physico-chimiques de surface. Les microorganismes de plus petite taille sont facilement transportés jusqu'à la surface du matériau, où des interactions physico-chimiques se mettent en place, provoquant l'adhésion de la cellule. Les microorganismes de plus grande taille subissent un effet de gêne stérique et mettent plus de temps pour parvenir à la paroi métallique. Le biofilm est ainsi formé de différentes strates correspondant à des tailles de microorganismes différentes.

Par ailleurs, il a été constaté en eau de rivière naturelle que le pourcentage de molybdène de l'acier inoxydable pourrait avoir une influence positive sur sa biocontamination. Cet « effet molybdène » a été retrouvé avec un isolat bactérien : la souche 1 adhère en plus grande quantité à la surface d'un acier inoxydable lorsque sa teneur en molybdène est plus élevée.

Le modèle d'adhésion utilisé semble reproduire assez fidèlement la biocontamination des aciers inoxydables en eau de rivière naturelle.

➤ **Evolution de la couche passive au contact de l'eau de rivière naturelle**

Les nuances d'acier inoxydable 304L et 254SMO ont en eau de rivière naturelle des compositions chimiques de film passif très différentes (site de Choisy-le-Roi). La couche d'oxydes recouvrant l'acier 304L est constituée majoritairement de chrome, alors que l'élément prédominant de la couche d'oxydes de l'acier 254SMO est le fer (comme lors d'une immersion eau de mer naturelle). Cette différence pourrait être *a priori* attribuée à la différence de composition des deux matrices métalliques.

Les caractérisations de films passifs formés dans les différentes solutions du modèle de production enzymatique de H₂O₂ (« oxydases/catalase-peroxydase ») ont montré qu'à pH acide, la couche d'oxydes est enrichie en chrome, alors que l'influence du peroxyde d'hydrogène seul se traduit par un accroissement de la teneur en fer. La présence de H₂O₂ dans les biofilms se développant sur le site de Choisy-le-Roi a été démontrée. D'après des mesures rapides effectuées à l'aide d'une micro-électrode de pH (non détaillées dans ce document), il semblerait que ces biofilms présentent aussi une certaine acidité.

Or les propriétés physico-chimiques d'un biofilm sont très hétérogènes et varient fortement dans les trois directions de l'espace. Des gradients de [H₂O₂] et de pH internes au biofilm peuvent engendrer des hétérogénéités de la composition chimique du film passif dans le plan de la surface. Ainsi, la différence notable de composition des films passifs des nuances 304L et 254SMO pourrait en réalité provenir d'une distribution spatiale de composition et non d'un effet lié aux éléments d'alliage. Sur un même échantillon, la composition chimique du film passif pourrait varier fortement dans le plan de la surface.

Ceci est en concordance avec les résultats de polarisation anodique réalisée en eau de rivière naturelle sur le site de Choisy-le-Roi (site de prélèvement des coupons analysés en XPS), qui sont identiques pour les deux nuances.

➤ **Difficulté à reproduire l'augmentation de E_{corr} en laboratoire**

Les résultats expérimentaux du chapitre 5 ont montré que l'immersion d'échantillons d'acier inoxydable dans un milieu contenant plusieurs isolats microbiens provenant de la flore sessile se développant en eau de rivière naturelle ne génère pas d'accroissement significatif du potentiel de corrosion libre. Ceci illustre la difficulté de transposer en laboratoire les phénomènes à l'origine de l'élévation de E_{corr} dans les eaux naturelles.

Ainsi, lorsqu'un coupon d'acier inoxydable est immergé en laboratoire dans un bécher contenant un prélèvement d'eau de rivière naturelle, son potentiel d'abandon n'augmente généralement pas au cours du temps. Le renouvellement régulier de l'eau dans le bécher (flux de matière), ainsi que l'oxygénation continue du milieu, pourraient peut-être rapprocher les conditions de laboratoire des conditions sur site naturel.

Conclusions et perspectives

L'augmentation du potentiel de corrosion libre E_{corr} des aciers inoxydables immergés en eau de mer naturelle est un fait avéré. Cette élévation est provoquée par la colonisation de la surface par un ensemble de macromolécules et de microorganismes formant le biofilm. Elle représente une augmentation de la probabilité d'amorçage de la corrosion par piqûres. L'explication la plus couramment proposée est liée à l'action de certaines enzymes secrétées dans le biofilm. En particulier, certaines oxydases pourraient catalyser la réaction de production de peroxyde d'hydrogène tout en acidifiant le milieu. La combinaison d'un milieu oxydant (H_2O_2) et acide aurait pour conséquence l'augmentation du potentiel d'abandon.

L'évolution du potentiel de corrosion libre est en revanche plus controversée lorsque l'immersion se fait dans des eaux naturelles à plus faible teneur en ions chlorures (rivières, lacs, lagunes...). L'objectif de ce travail a été de préciser cette évolution en eau de rivière naturelle, puis d'étudier les différents mécanismes conduisant aux variations du potentiel.

Un dispositif expérimental original a permis de mesurer en continu le potentiel de corrosion libre d'échantillons métalliques immergés dans l'eau de la Seine en différents lieux d'exposition. Il a été démontré que le potentiel augmente au cours du temps après un certain temps de latence, quelle que soit la saison, quel que soit le site d'immersion, quelle que soit la nuance d'acier inoxydable considérée. L'augmentation de E_{corr} est systématique en eau de rivière naturelle. La température est un facteur accélérateur du phénomène : le temps de latence diminue lorsque la température de l'eau augmente. L'éclairement semble aussi jouer un rôle sur l'évolution du potentiel, ce qui serait dû aux variations du métabolisme des microorganismes photosynthétiques et/ou bioluminescents en fonction de l'intensité lumineuse reçue.

Le comportement anodique évolue faiblement au contact de l'eau de rivière naturelle, ce qui est vraisemblablement dû à l'évolution de la composition chimique du film passif. Les variations des teneurs relatives en chrome et en fer au sein de la couche d'oxydes semblent différer d'une nuance à l'autre (enrichissement relatif en chrome pour l'acier 304L, enrichissement relatif en fer pour l'acier 254SMO), toutefois ceci pourrait être dû à une hétérogénéité spatiale de la composition dans le plan de la surface. Si les évolutions de la couche passive sont différentes d'une nuance à l'autre, les évolutions de E_{corr} sont identiques. L'augmentation du potentiel n'est pas liée aux légères variations du comportement anodique.

Les processus cathodiques sont fortement modifiés au cours de l'immersion. Sur les deux sites d'exposition testés, une nouvelle réduction se produisant à des potentiels plus élevés que la valeur initiale de E_{corr} apparaît. La réduction d'un nouvel oxydant entraîne l'élévation du potentiel de corrosion libre. Cependant, le composé oxydant synthétisé durant l'exposition n'est pas le même sur les deux sites : il s'agit dans un cas de peroxyde d'hydrogène (Choisy-le-Roi) et dans l'autre de manganèse oxydé (Flins). L'augmentation du potentiel d'abandon est donc due sur un site à la réduction de peroxyde d'hydrogène synthétisé dans le biofilm, et sur l'autre site à la biodéposition d'oxydes de manganèse à la surface des matériaux. Deux mécanismes différents peuvent se produire dans un même cours d'eau, en deux points d'immersion distincts, et générer une même élévation de E_{corr} .

Les phénomènes de bioadhésion ont été étudiés à l'aide de trois souches microbiennes sauvages (deux bacilles bactériens, une levure) isolées à partir de prélèvements de flore sessile d'eau de rivière naturelle. La biocontamination est dans un premier temps contrôlée par une étape de transport de matière, qui régule la colonisation en fonction de la taille des microorganismes : les cellules de petite taille (bactéries par exemple) migrent plus rapidement vers la surface que les cellules de grande taille (levures par exemple). Après l'étape de transport de matière, l'adhésion est contrôlée par des interactions physico-chimiques (électrostatiques, Lifshitz-Van der Waals, acide/base de Lewis). L'adhésion des différents isolats est conforme aux caractérisations physico-chimiques de la surface des cellules et des supports en acier inoxydable. La contamination des surfaces par un consortium microbien regroupant les trois isolats ne génère pas d'augmentation du potentiel de corrosion libre. L'obtention d'un biofilm électrochimiquement actif en laboratoire n'est pas chose facile.

Un modèle enzymatique de production de peroxyde d'hydrogène, développé pour simuler en eau de mer artificielle l'influence exercée par le biofilm sur le comportement électrochimique des aciers inoxydables immergés en eau de mer naturelle, a été transposé au cas des eaux à faible teneur en Cl^- . L'obtention d'un milieu oxydant (H_2O_2) et acide (acide gluconique) par ajout de l'enzyme glucose-oxydase (GOD) et de son substrat (D-glucose) dans une eau de rivière artificielle permet de simuler parfaitement les processus cathodiques observés en eau de rivière naturelle sur le site de Choisy-le-Roi, où l'augmentation de E_{corr} a été reliée à la réduction du peroxyde d'hydrogène présent dans le biofilm. L'augmentation du potentiel de corrosion libre est aussi simulée convenablement, à l'exception d'un phénomène de chutes brutales de potentiel, observé lors des essais effectués avec la nuance la moins résistante à la corrosion (304L) dans la solution de GOD. Ces fortes instabilités de E_{corr} , pouvant abaisser considérablement sa valeur moyenne finale à 48 heures, pourraient provenir d'un effet de l'enzyme et/ou de H_2O_2 sur la conductivité du film passif. La présence de ces deux composés en solution entraîne en effet une diminution importante de la résistance de la couche d'oxydes. La variation de la chute ohmique dans le film passif pourrait expliquer les instabilités du potentiel de corrosion libre. Si le modèle enzymatique « oxydases/catalase-peroxydase » de production de peroxyde d'hydrogène peut reproduire dans certaines conditions la composition chimique du film passif, il ne reproduit en revanche pas les propriétés de semi-conductivité.

Ce travail a permis de dégager trois grandes voies possibles d'innovation pour les recherches futures sur le phénomène de biocorrosion en milieu aqueux non stérile.

L'observation de la surface d'échantillons d'acier inoxydable immergés dans la Seine a mis en évidence une biodiversité importante des biofilms. En particulier, les biofilms formés en eau de rivière naturelle contiennent une grande quantité de diatomées. Ce type de microorganismes utilise des enzymes pour assurer son métabolisme, parmi lesquelles certaines oxydases catalysant la production de peroxyde d'hydrogène. Les algues et microalgues pourraient ainsi avoir une influence non négligeable sur le comportement électrochimique des aciers inoxydables. Les études de biocorrosion ne doivent pas se limiter au rôle joué par les bactéries mais au contraire s'élargir à l'influence des autres microorganismes.

Les différents types de microorganismes contenus dans le biofilm produisent généralement une forte quantité de polymères extracellulaires, amplifiant l'hétérogénéité du milieu et pouvant conduire à des accélérations de vitesse de corrosion. Il serait intéressant d'étudier l'effet d'autres enzymes mais aussi d'autres métabolites tels que les biosurfactants, qui, par leur forte adsorption, modifient les échanges entre métal et environnement.

La production enzymatique de peroxyde d'hydrogène et ses conséquences sur les matériaux ont été étudiées en eau de mer et en eau de rivière, en revanche, la production enzymatique (catalysée par certaines laccases et la manganèse-peroxydase) des oxydes de manganèse et son influence sur la tenue à la corrosion des aciers inoxydables n'ont, à la connaissance de l'auteur de ce manuscrit, jamais été étudiées.

Enfin, le rôle de l'éclairement dans l'évolution du potentiel de corrosion libre reste un sujet d'investigation. L'utilisation de microorganismes photosynthétiques et/ou bioluminescents en laboratoire pourrait permettre d'aller plus loin dans la compréhension de l'influence qu'exerce l'éclairement de la surface sur le potentiel de corrosion libre.

Annexes

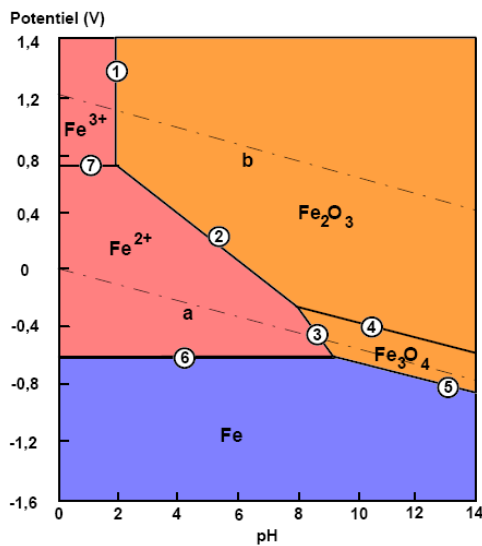
Annexe n°1 : la corrosion aqueuse

La définition de la corrosion dans les normes française et européenne de « Corrosion des métaux et alliages » (NF EN ISO 8044, avril 2000) est : « interaction physico-chimique entre un métal et son milieu environnant entraînant des modifications dans les propriétés du métal et souvent une dégradation fonctionnelle du métal lui-même, de son environnement ou du système technique constitué par les deux facteurs ».

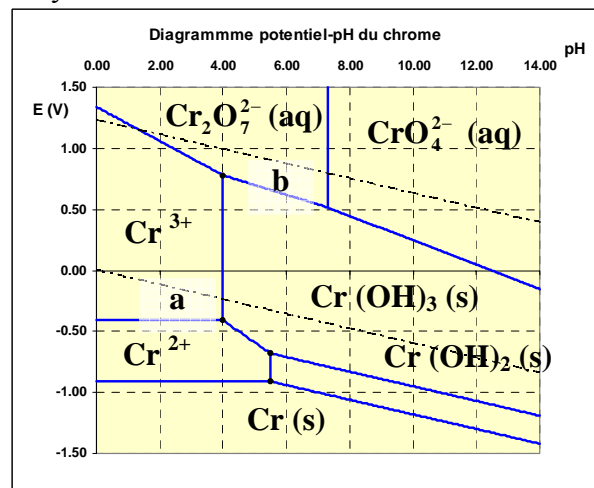
La corrosion aqueuse concerne la dissolution des métaux dans un électrolyte par voie électrochimique. Elle est régie par deux principes : la thermodynamique qui permet de définir des potentiels électrochimiques et la cinétique des réactions électrochimiques liée à la loi de Faraday, qui permet de relier la vitesse de corrosion (nombre d'électrons libérés par le départ des cations métalliques en solution) à l'intensité du courant.

1 Stabilité thermodynamique du fer en milieu aqueux

Le diagramme potentiel-pH (ou diagramme de Pourbaix) simplifié du fer est donné en figure 1. Seuls deux oxydes solides ont été pris en compte pour la construction de ce diagramme. Il s'agit de l'hématite Fe_2O_3 et de la magnétite Fe_3O_4 . La zone en bleu est le domaine d'immunité, où le fer est à l'état métallique (non oxydé). La zone en rouge est la zone de corrosion, où l'espèce prédominante est un cation métallique dissous. La zone en orange est le domaine de passivité, où le fer est principalement sous forme d'un oxyde solide. Certains oxydes formés lors de la corrosion d'un métal peuvent avoir un rôle protecteur vis-à-vis du métal sous-jacent. Le métal est alors dit passivable, car le film d'oxydes (appelé couche passive) qui le recouvre le rend passif vis-à-vis de la corrosion. Cette propriété est particulièrement connue dans le cas des aciers inoxydables.



a- Fer



b- Chrome

Figure 1 : diagrammes potentiel-pH simplifiés du fer et du chrome (25°C, concentration des espèces dissoutes 10^{-6} mol/L) [204, 269]

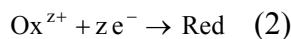
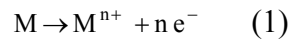
Les aciers inoxydables ont une forte teneur en chrome. La couche d'oxydes qui se développe sur un tel matériau contient généralement des oxy-hydroxydes de fer et des oxy-hydroxydes de chrome. Un diagramme E-pH simplifié du chrome est donné en figure 1.

Les diagrammes de Pourbaix sont tracés à partir de calculs thermodynamiques. Ils indiquent les espèces présentes à l'équilibre thermodynamique, mais ne fournissent aucune indication

sur les vitesses des réactions. Une réaction peut être possible thermodynamiquement tout en étant très lente, ce qui peut la rendre négligeable. L'étude cinétique de la corrosion est donc indispensable.

2 La corrosion aqueuse

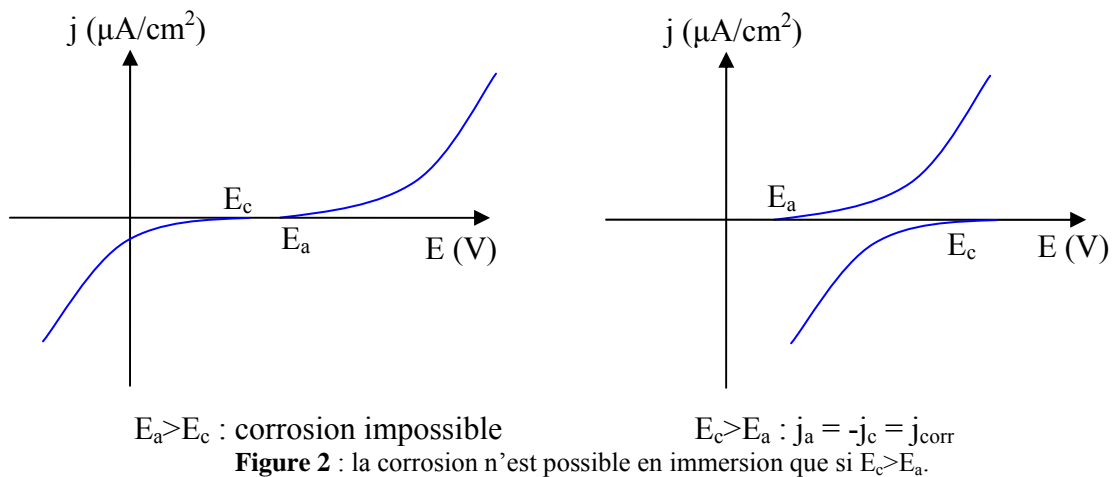
La corrosion d'un métal met en jeu deux réactions électrochimiques différentes. A l'anode se déroule l'oxydation du métal (1). Pour qu'une réaction d'oxydation des atomes métalliques puisse avoir lieu, il faut qu'il y ait une réduction (2) sur la surface d'un oxydant présent dans l'électrolyte, afin que les électrons générés soient consommés. Les deux demi-équations électroniques correspondantes peuvent s'écrire :



M désigne un atome métallique, M^{n+} l'ion correspondant, Ox^{z+} une espèce oxydante disponible dans l'électrolyte, et Red sa forme réduite.

Le site où a lieu la réduction (2) d'une espèce oxydante présente en solution est appelé cathode. Les réactions anodique d'oxydation et cathodique de réduction ont un potentiel d'équilibre électrochimique E_a et E_c .

Les électrons générés à l'anode par l'oxydation des atomes métalliques migrent au sein du métal en direction de la cathode, où ils sont consommés par la réduction. Le courant généré à l'anode I_a (en ampères) doit donc être égal au courant consommé à la cathode I_c . En rapportant à l'aire du métal en contact avec l'électrolyte, la densité de courant anodique j_a (en ampère.m⁻²) doit être égale à la densité de courant cathodique j_c . Par conséquent, la corrosion nécessite qu'il existe une valeur de potentiel pouvant être prise par la surface du matériau et à laquelle les deux demi-équations électroniques soient possibles et égales en terme de nombre d'électrons échangés. Lors de l'immersion d'un métal, il y aura corrosion seulement si $E_c > E_a$ (figure 2).



La valeur de potentiel où le courant anodique I_a est égal en valeur absolue au courant cathodique I_c est appelée potentiel de corrosion libre E_{corr} , ou potentiel d'abandon, ou potentiel mixte, ou potentiel de circuit ouvert. La valeur absolue égale des courants anodique et cathodique est appelée courant de corrosion I_{corr} (j_{corr} pour la densité de courant de corrosion).

La courbe intensité-potential expérimentale est l'addition des courants anodique et cathodique algébriques (figure 3).

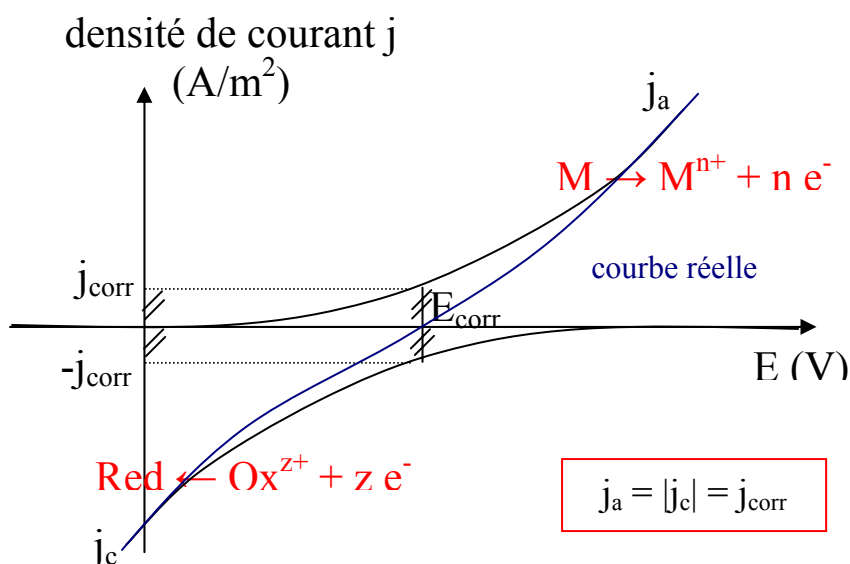


Figure 3 : définition du potentiel de corrosion libre E_{corr} et de la densité de courant de corrosion j_{corr}

2.1 Cinétique de la corrosion aqueuse

La thermodynamique permet de savoir si la corrosion est possible ou non. En revanche, elle ne donne pas d'informations sur la vitesse de dissolution du métal. La vitesse d'une réaction électrochimique dépend de la « facilité » du transfert d'électrons à l'interface matériau/électrolyte, ainsi que de l'apport en espèce oxydante au niveau de cette interface. Le processus de corrosion est contrôlé par l'étape cinétiquement limitante, c'est-à-dire la réaction la plus lente. La corrosion peut ainsi être soit contrôlée par le transfert de charge, soit par le transport de matière.

2.1.1 Contrôle par le transfert de charge

La concentration $[Ox^{z+}]$ à l'interface est supposée constante. La consommation de l'espèce oxydante à la cathode n'engendre pas de variation significative de la concentration interfaciale. L'agitation du milieu, affectant uniquement la diffusion de Ox^{z+} dans la solution, n'a alors pas d'influence sur la cinétique globale de la réaction. La courbe intensité-potentiel a l'allure de la figure 3.

Le courant global est alors exprimé par la relation de Butler-Volmer (3), valable lorsque la diffusion n'est pas limitante :

$$I = I_{\text{corr}} \left(\exp\left(\frac{2,3(E - E_{\text{corr}})}{b_a}\right) - \exp\left(\frac{2,3(E_{\text{corr}} - E)}{b_c}\right) \right) \quad (3)$$

b_a et b_c sont appelés coefficients de Tafel anodique et cathodique. Ils sont calculés à partir de la mesure expérimentale de la pente de $\log(I) = f(E)$ aux fortes polarisations anodique et cathodique.

A partir de cette équation, il est possible de calculer le courant de corrosion par la méthode dite de Tafel. La méthode des droites de Tafel est basée sur l'extrapolation de la courbe intensité-potentiel. A des valeurs de potentiel suffisamment éloignées du potentiel de

corrosion libre E_{corr} , la courbe I-E est superposée aux courbes théoriques anodique (potentiels supérieurs à E_{corr}) et cathodique (potentiels inférieurs à E_{corr}).

D'après l'équation de Butler-Volmer, en coordonnées semi-logarithmiques, l'asymptote à la courbe aux potentiels « très anodiques » et l'asymptote à la courbe aux potentiels « très cathodiques » se coupent en le point de coordonnées $(E_{\text{corr}} ; \log I_{\text{corr}})$. Le tracé de ces asymptotes, appelées droites de Tafel, permet de déterminer le courant de corrosion I_{corr} (figure 4).

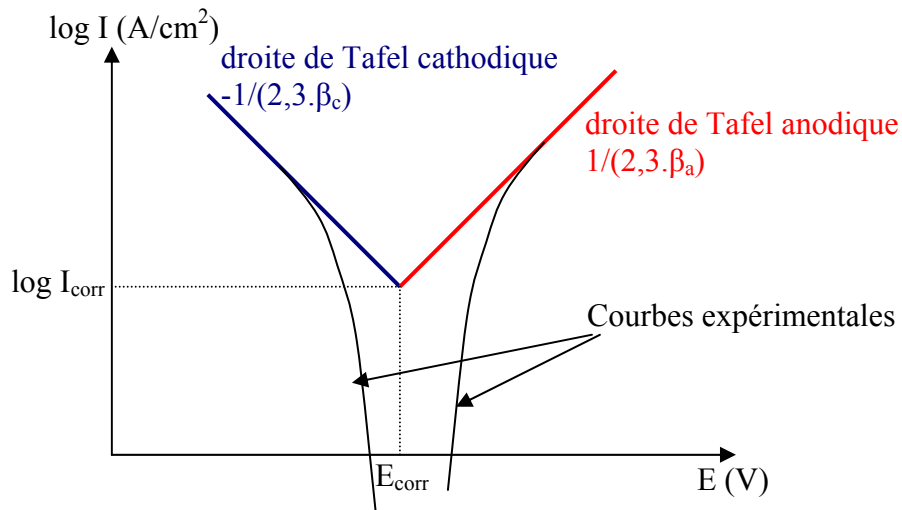


Figure 4 : détermination du courant de corrosion I_{corr} par la méthode des droites de Tafel

Les potentiels imposés au métal doivent être importants afin d'être suffisamment éloigné de E_{corr} . De tels potentiels peuvent modifier l'état de surface du matériau et donc affecter la valeur du courant de corrosion. De plus, il faut avoir des conditions simples pour ne pas avoir plusieurs réactions en même temps. Ce sont les limites de la méthode des droites de Tafel.

2.1.2 Contrôle par le transport de matière

La limitation par la diffusion de l'espèce oxydante en solution est trouvée fréquemment en milieu aéré. En conditions aérobies, l'espèce oxydante réduite à la cathode est généralement le dioxygène dissous. La consommation de O_2 peut être tellement rapide que l'apport de matière par diffusion depuis le cœur de l'électrolyte ne compense pas totalement la perte de quantité de matière. La concentration en O_2 à l'interface diminue.

Le courant est alors limité par la diffusion. Un plateau de courant, souvent appelé palier de diffusion, apparaît sur la courbe intensité-potential (figure 5). La valeur du courant de corrosion est en général déterminée par la valeur du courant sur le palier de diffusion. Elle est proportionnelle à la concentration en oxygène dissous :

$$I_{\text{corr}} = I_{\text{diffusion}} = \frac{nF \cdot [O_2] \cdot D(O_2)}{\delta} \quad (4)$$

n est le nombre d'électrons mis en jeu dans la demi-équation électronique de dissolution du métal (1). F est la constante de Faraday, égale à 96465 C, la charge d'une mole d'électrons. $D(O_2)$ est le coefficient de diffusion de O_2 . δ est l'épaisseur de la couche de diffusion.

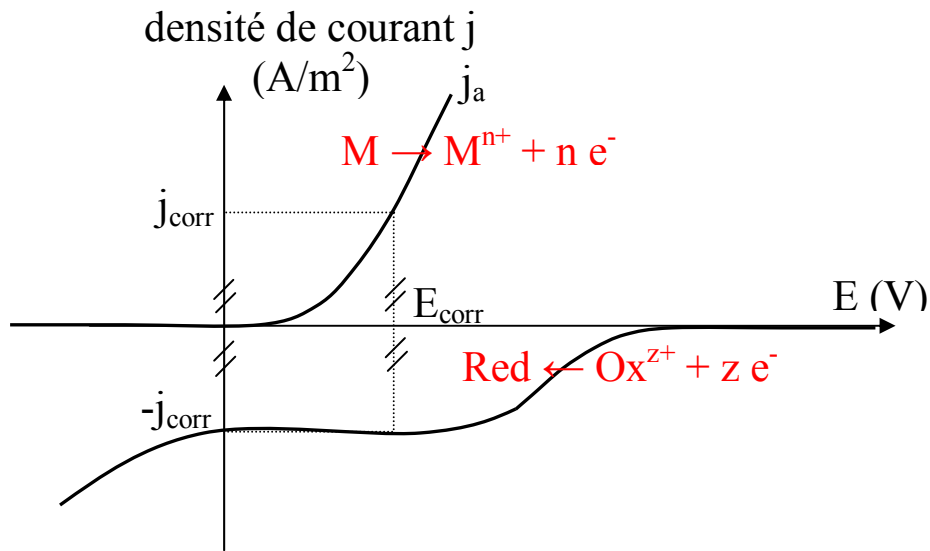


Figure 5 : courbe intensité-potentiel d'une électrode dans le cas d'un contrôle cinétique par le transport de matière de l'espèce oxydante en solution (O_2 en milieu aéré)

2.2 Les différentes formes de corrosion

2.2.1 Corrosion généralisée ou uniforme

La corrosion uniforme est l'oxydation simultanée et à la même vitesse des atomes constitutifs de la surface du matériau. Les ions formés passent en solution et peuvent ensuite éventuellement précipiter pour donner des produits de corrosion. L'épaisseur de l'échantillon diminue de façon homogène sur toute la surface.

Les sites où ont lieu les oxydations des atomes métalliques sont appelés anodes. Les sites où ont lieu les réductions des espèces oxydantes présentes dans l'électrolyte sont appelés cathode. Lorsque ces deux types de sites sont très proches les uns des autres et répartis aléatoirement au cours du temps sur la surface métallique, alors celle-ci se dissout globalement à la même vitesse. La corrosion est dite généralisée.

Dans ces conditions, la vitesse de corrosion V_{corr} (généralement exprimée en unité de masse de métal dissoute par unité de temps, ou en unité de longueur - correspondant à l'épaisseur dissoute - par unité de temps) peut être estimée par gravimétrie (perte de masse de l'échantillon) ou par la méthode des droites de Tafel, en utilisant la loi de Faraday, qui relie la vitesse de corrosion au courant de corrosion :

$$V_{\text{corr}} = I_{\text{corr}} \cdot \frac{t \cdot M}{n \cdot F \cdot \rho} \quad (5)$$

où M est la masse molaire de l'acier, ρ la masse volumique du métal et n le nombre d'électrons produits dans la demi-équation électronique anodique de dissolution du métal (1).

2.2.2 Corrosion localisée

A l'inverse de la corrosion généralisée, l'emplacement des sites anodiques et cathodiques ne varie pas au cours du temps. Si l'aire des sites anodiques, où a lieu la dissolution du métal, est beaucoup plus faible que l'aire des sites cathodiques, la densité de courant de dissolution peut atteindre des valeurs très élevées, et le métal se dégrade localement à très grande vitesse. Les

matériaux passifs, tels que les aciers inoxydables, sont généralement dégradés par corrosion localisée.

Plusieurs formes de corrosion localisée peuvent être observées ; elles résultent la plupart du temps d'une hétérogénéité, comme par exemple :

- La corrosion par aération différentielle, due à un gradient de concentration en oxygène dissous ;
- La corrosion intergranulaire, s'attaquant aux joints de grains (zones désordonnées séparant des grains d'orientations cristallographiques différentes) ;
- Les corrosions sous contrainte, par érosion et par cavitation sont dues à des contraintes mécaniques locales.

Seules les corrosions par piqûres et par effet de crevasse, observables au cours de ce travail, seront décrites plus particulièrement.

2.2.2.1 Corrosion par piqûres

La corrosion par piqûres est capable d'altérer les métaux passifs. Elle se produit principalement dans les milieux contenant des ions chlorures Cl^- (plus généralement des ions halogénures), espèces de petite taille et très mobiles en raison de leur forte électronégativité. Une rupture locale du film passif apparaît au niveau d'hétérogénéités de surface du matériau (par exemple sur les inclusions non-métalliques, type MnS , dans les aciers inoxydables) [74, 270]. Si cette rupture n'est pas « réparée », une petite cavité appelée piqûre se forme et peut se propager très en profondeur (figure 6).

En fonction du matériau et du milieu considérés, les piqûres peuvent prendre différentes morphologies, avoir différentes dimensions (de quelques μm à quelques mm)...

La formation de piqûres se fait en deux étapes : la première, dite de nucléation ou d'amorçage, correspond à la rupture du film passif ; la deuxième, dite de propagation, consiste en la croissance des piqûres, dans quelque direction que ce soit. Trois grands types de mécanismes ont été développés pour rendre compte du phénomène de nucléation des piqûres : [81, 189]

- Mécanisme de pénétration : avant la nucléation, les anions agressifs (type Cl^-) pénètrent dans la couche passive, diffusent à travers les oxydes surfaciques et parviennent jusqu'au métal, dont ils provoquent la dissolution. Le franchissement de l'interface électrolyte/film passif par les anions se fait sous l'influence d'un champ électrique. La nucléation des piqûres n'apparaît que lorsque les anions ont pénétré jusqu'au métal. Ce mécanisme se fait sans rupture physique du film passif [161, 272, 273]. Toutefois, les techniques d'analyse de surface ont montré que les ions Cl^- ne sont présents dans le film passif que dans la couche externe, ce qui semble infirmer le mécanisme de pénétration des anions agressifs [189].
- Mécanisme de rupture mécanique du film passif : le film en contact avec un électrolyte agressif subit des contraintes mécaniques et se déforme (par formation de porosités, entre autres) jusqu'à être localement détruit. Les anions agressifs de l'électrolyte sont alors en contact direct avec le métal à l'intérieur de la cavité [274-276].
- Mécanisme d'adsorption : les anions agressifs s'adsorbent à la surface du film passif et forment des complexes avec les cations métalliques, ce qui a pour conséquence d'augmenter la dissolution de la couche d'oxydes. L'épaisseur du film passif diminue localement jusqu'à disparaître totalement. Les anions sont alors en contact direct avec le métal. Dans ce modèle, l'« agressivité » d'un anion dépend de sa capacité à

complexer les cations métalliques [269, 277-279]. Cependant, pour de nombreux matériaux, la nucléation des piqûres se fait au niveau de l'interface métal/couche d'oxydes, sans dissolution du film passif au-dessus des piqûres, ce qui tend à contredire le mécanisme d'amincissement du film [189].

A l'intérieur de la piqûre, qui est une zone confinée, l'hydrolyse des produits de corrosion conduit à une acidification du milieu et à une augmentation de la concentration en Cl^- . Ces conditions favorisent la dissolution du métal. Le reste de la surface constitue la cathode. Le ratio surface cathodique/surface anodique est très élevé, par conséquent la densité de courant anodique peut atteindre des valeurs très fortes, entraînant une dissolution rapide du métal.

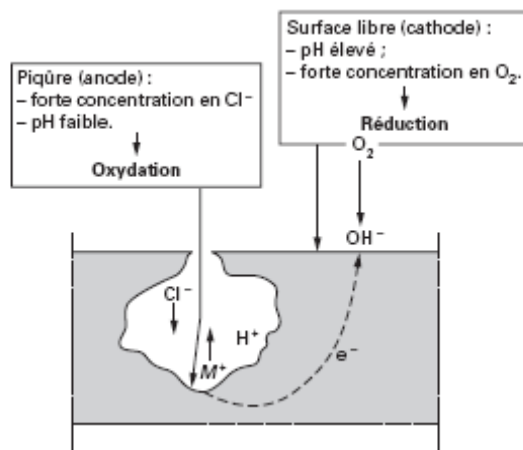


Figure 6 : principe de la corrosion par piqûres [143]

Les premières piqûres apparaissent lorsque le potentiel du métal dépasse une valeur critique appelée potentiel de piqûre E_{piq} (ou potentiel d'apparition de piqûres, ou potentiel de germination de piqûres, ou par traduction littérale de l'anglais potentiel de « piqûration »).

La figure 7 représente un balayage en potentiel aller-retour depuis une valeur de E_{corr} dans le domaine passif jusqu'à des valeurs assez élevées. Le potentiel de piqûre E_{piq} et le potentiel de repassivation E_{rep} (ou potentiel de protection E_{pr}) sont mesurés expérimentalement grâce au tracé de cette courbe. Le potentiel de repassivation est le potentiel en-dessous duquel aucune piqûre ne peut se développer.

Trois périodes peuvent être distinguées au cours du balayage potentiodynamique :

- Lorsque le potentiel est inférieur à E_{rep} , le métal est dans le domaine passif, le courant de dissolution est très faible.
- Lorsque le potentiel devient supérieur à E_{rep} , le courant augmente relativement doucement et présente des instabilités, qui correspondent à la formation et la repassivation de piqûres dites métastables.
- Lorsque le potentiel est supérieur à E_{piq} , le courant augmente brutalement, des piqûres stables se développent à la surface du matériau.

Lorsque le sens du balayage est inversé, les piqûres se repassivent. Le courant au retour est plus élevé qu'à l'aller en raison de la repassivation plus difficile des piqûres. Cet hystérésis est caractéristique de la corrosion par piqûres. Le potentiel de repassivation E_{rep} est mesuré lors du retour du balayage en potentiel.

En fonction de la cinétique de la réaction cathodique, le métal se trouvera soit dans le domaine passif, soit dans le domaine de transpassivité où le métal sera sujet à la corrosion par piqûres (figure 7).

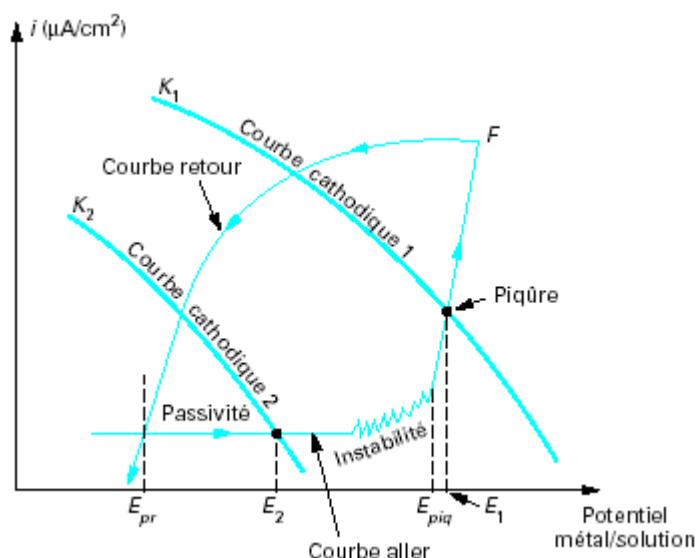


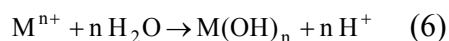
Figure 7 : balayage potentiodynamique sur un métal passif en milieu chloruré [143]

E_{piq} diminue lorsque la concentration en chlorures et/ou la température augmente.

La corrosion par piqûres est une forme de corrosion particulièrement pernicieuse, car une perforation peut être très profonde et très dangereuse pour la structure métallique sans pour autant présenter lors d'une simple observation une surface dégradée très importante.

2.2.2.2 Corrosion caverneuse ou corrosion par effet de crevasse

Cette forme de corrosion se développe dans les zones confinées où la migration des espèces de l'intérieur vers l'extérieur et de l'extérieur vers l'intérieur est très limitée. Le faible flux convectif ne permet pas de renouveler les espèces contenues dans l'électrolyte présent dans la cavité. La zone confinée peut dans un premier temps présenter des sites cathodiques : O_2 est alors réduit dans la cavité. Une fois que tout l'oxygène a été consommé, la surface du métal dans la cavité devient totalement anodique, alors que le restant de la surface métallique, qui a un bon accès à l'oxygène dissous, devient la cathode. Le comportement devient typique d'une cellule d'aération différentielle. Les cations produits par l'oxydation du métal s'accumulent dans la cavité et sont hydrolysés selon l'équation (6), ce qui a pour conséquent d'abaisser considérablement le pH à l'intérieur de la zone confinée.



La neutralité électrique de l'électrolyte compris dans la cavité est assurée par migration des anions Cl^- dans la zone confinée. Dans cette zone, il y a appauvrissement en O_2 , diminution du pH et augmentation de la concentration en chlorures. Toutes les conditions sont réunies pour déstabiliser le film passif et engendrer la corrosion du métal sous-jacent (figure 8).

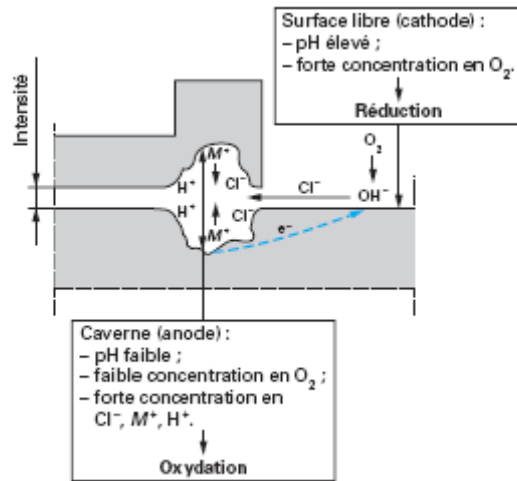


Figure 8 : principe de la corrosion par effet de crevasse [143]

Ainsi, la corrosion caverneuse se produit selon un mécanisme à trois étapes :

- incubation : H_3O^+ , M^{n+} et Cl^- s'accumulent dans la caverne, tandis que O_2 y est consommé.
- rupture de la passivité dans la caverne, en raison du pH très acide.
- propagation rapide de l'attaque.

Annexe n°2 : les aciers inoxydables

1 Description des aciers inoxydables

Les aciers inoxydables sont des alliages à base de fer et de chrome, contenant au moins 12 % de chrome. De nombreux autres éléments peuvent être présents dans l'alliage, tels que le carbone, le nickel, l'azote, le molybdène, le cuivre, le silicium... Ces éléments d'alliage sont soit en insertion dans le réseau cristallin (C,N), soit en substitution (éléments métalliques). Entre la température ambiante et sa température de fusion, le fer présente trois variétés cristallines (voir diagramme d'équilibre Fe-C, figure 1-a) :

- De la température ambiante à 906°C : ferrite ou fer α , de structure cristalline cubique centrée ;
- De 906°C à 1400°C : austénite ou fer γ , de structure cristalline cubique à faces centrées ;
- De 1400°C à 1538°C : fer δ , de structure cristalline cubique centrée.

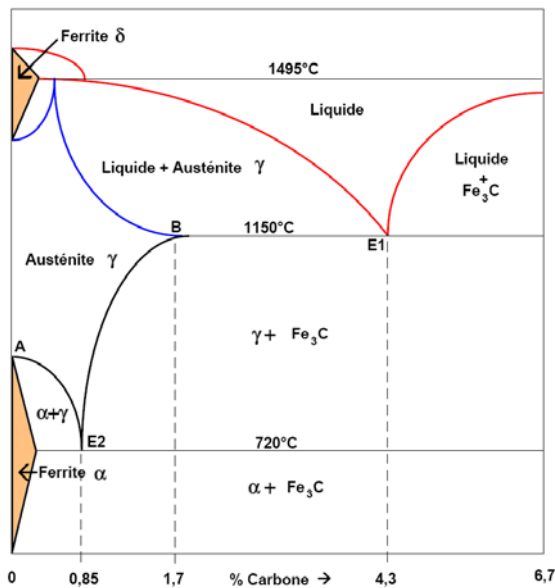
Les éléments d'alliage peuvent favoriser la phase α , ils sont alors dits alphagènes, ou la phase γ , ils sont alors dits gammagènes.

En particulier, la teneur en chrome modifie le domaine d'existence de la phase γ et est par conséquent déterminante pour la structure de l'acier inoxydable (voir diagramme de phases du système Fe-Cr, figure 1-b). A faible teneur en chrome (< 11 %), selon le traitement thermique subi, l'acier peut se trouver soit dans la boucle γ et être austénitique, soit être dans le domaine de stabilité de la phase α et être ferritique. A une teneur en chrome comprise entre 11 et 13 %, les phases α et γ coexistent. Enfin, pour des teneurs en chrome supérieures à 13 %, l'acier inoxydable ne peut être que ferritique.

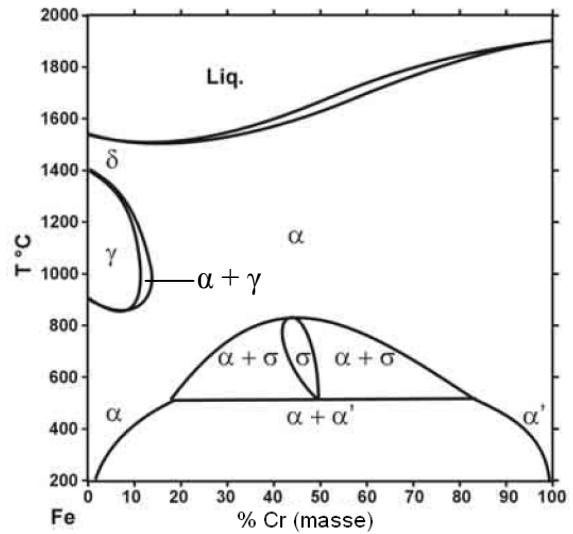
En fonction de leur structure cristalline, les aciers inoxydables sont classifiés en quatre grandes catégories :

- Les aciers ferritiques contiennent du fer α ou δ et ont une structure cubique centrée. Leur composition est à toute température à l'extérieur de la boucle γ . Lorsque la teneur en chrome est particulièrement importante, l'acier est qualifié de superferritique. Les aciers ferritiques offrent une très bonne résistance à la corrosion sous contrainte.
- Les aciers austénitiques contiennent du fer γ et ont une structure cubique à faces centrées. La structure austénitique γ est obtenue grâce au nickel, qui est un élément gammagène. Ils sont de loin les plus nombreux, en raison de leur résistance à la corrosion élevée et de leurs bonnes caractéristiques mécaniques, et sont facilement soudables.
- Les aciers austéno-ferritiques (ou duplex) sont faits d'agrégats de grains ferritiques et de grains austénitiques. Ils ont des propriétés intermédiaires entre les ferritiques et les austénitiques. Leur aptitude à la passivation est remarquable, en raison de leur teneur en chrome et en molybdène élevée. Ils sont généralement très résistants à la corrosion intergranulaire.
- Les aciers martensitiques sont le résultat d'une trempe d'une phase austénitique γ . Ils ne sont donc pas visibles dans le diagramme d'équilibre Fe-C, qui n'indiquent que les phases à l'équilibre, obtenues à des vitesses de refroidissement faibles. Ils ont une structure tétragonale et des propriétés de dureté et de résistance mécanique élevées. Ils sont en revanche assez sensibles à la corrosion sous contrainte et à la fragilisation par l'hydrogène.

Le molybdène est un élément d'alliage primordial pour augmenter la résistance à la corrosion en eau de mer naturelle.



a- Diagramme d'équilibre Fe-C métastable



b- Diagramme de phases du système Fe-Cr

Figure 1 : diagrammes de phases des systèmes a- Fe-C b- Fe-Cr [204, 280]

2 Utilisation des aciers inoxydables

Ces matériaux ont été développés industriellement à partir de 1920. Ils sont utilisés dans quasiment tous les domaines, depuis le biomédical jusqu'à l'industrie automobile en passant par le BTP, l'industrie agro-alimentaire... Les principaux secteurs d'utilisation, ainsi que les types d'aciers inoxydables employés, sont résumés dans le tableau 1, qui n'a pas bien entendu pour vocation d'être exhaustif.

Application	Nuances d'aciers inoxydables
Industrie chimique	Aciers austénitiques et duplex
Industrie alimentaire	Aciers austénitiques et martensitiques pour les outils coupants
Bâtiment	Aciers ferritiques à l'intérieur d'une construction, aciers austénitiques à l'extérieur
Production d'énergie	Aciers ferritiques (production de vapeur, pompes,), martensitiques (armatures, ressorts, éléments de turbines), austénitiques (cuves, gainages, tubes)
Protection de l'environnement	Aciers austénitiques (cheminées industrielles et rejets toxiques)
Industrie du transport	Aciers ferritiques (pièces intérieures, tubulures d'échappement), austénitiques (conteneurs) et martensitiques (structures de transport à bandes)
Biomédical	Aciers austénitiques

Tableau 1 : domaines d'utilisation des aciers inoxydables [281]

Annexe n°3 : les semi-conducteurs

Dans un solide, les atomes sont organisés en un réseau tridimensionnel, caractérisé par une distance inter atomique qui correspond à l'équilibre du solide cristallin [282]. Cette distance inter atomique étant très faible (de l'ordre de quelques Å), les électrons d'un atome interagissent avec ceux des atomes voisins, chaque électron donnant ainsi naissance à autant de niveaux d'énergie distincts que d'atomes voisins.

Compte tenu du très grand nombre d'atomes nécessaires pour créer un cristal, la séparation entre deux niveaux d'énergie successifs devient extrêmement faible, les niveaux d'énergie deviennent des bandes d'énergie.

Les niveaux énergétiques accessibles aux électrons d'un atome étant discrets, le modèle de bandes décrit le solide cristallin comme une alternance d'intervalles d'énergie remplis de niveaux énergétiques (bandes permises) séparés par des intervalles d'énergie vides de tout niveau électronique (bandes interdites). Au zéro absolu, les électrons remplissent les bandes permises à partir des énergies les plus basses.

Dans un conducteur métallique, la dernière bande permise occupée ne l'est que partiellement, de sorte que les électrons peuvent facilement se déplacer dans les niveaux vides plus élevés et circuler dans le solide.

Dans un semi-conducteur ou un isolant, la dernière bande permise occupée est pleine. Elle est appelée bande de valence BV, son niveau énergétique le plus élevé est appelé E_v . La bande permise d'énergie immédiatement supérieure est appelée bande de conduction BC, son niveau énergétique le plus bas est appelé E_c . Pour qu'il y ait conduction électrique, il faut qu'un électron de la bande de valence puisse venir occuper un état vide dans la bande de conduction, c'est-à-dire absorber une énergie thermique ou lumineuse au moins égale à la largeur de bande interdite (appelée gap), $E_g = E_c - E_v$.

Plus la valeur de E_g sera élevée, plus la probabilité qu'un électron occupe un état énergétique dans la bande de conduction sera faible et plus la conductivité électronique sera faible. Lorsque E_g est très inférieur à l'énergie thermique $k_B T$ (k_B : constante de Boltzmann), ou lorsqu'il y a recouvrement de la BV et de la BC, le matériau est considéré comme conducteur électrique. Lorsque $E_g > 6$ eV, l'énergie thermique kT est trop faible à température ambiante pour générer suffisamment de porteurs de charge ; le matériau est un isolant électrique. Les matériaux ayant un gap « intermédiaire » ne sont pas conducteurs au zéro absolu, mais lorsque la température augmente le nombre de porteurs de charges devient suffisant pour assurer la conduction électrique. Ces matériaux sont dits semi-conducteurs. Le schéma de la figure 1 représente les bandes de valence et de conduction pour les trois types de matériaux.

La classification du matériau est fonction de la valeur de E_g , et peut être différente selon les domaines de recherche. La valeur de 6 eV mentionnée ci-dessus est la valeur classique considérée en photoélectrochimie, mais elle peut différer dans d'autres domaines d'application des semi-conducteurs.

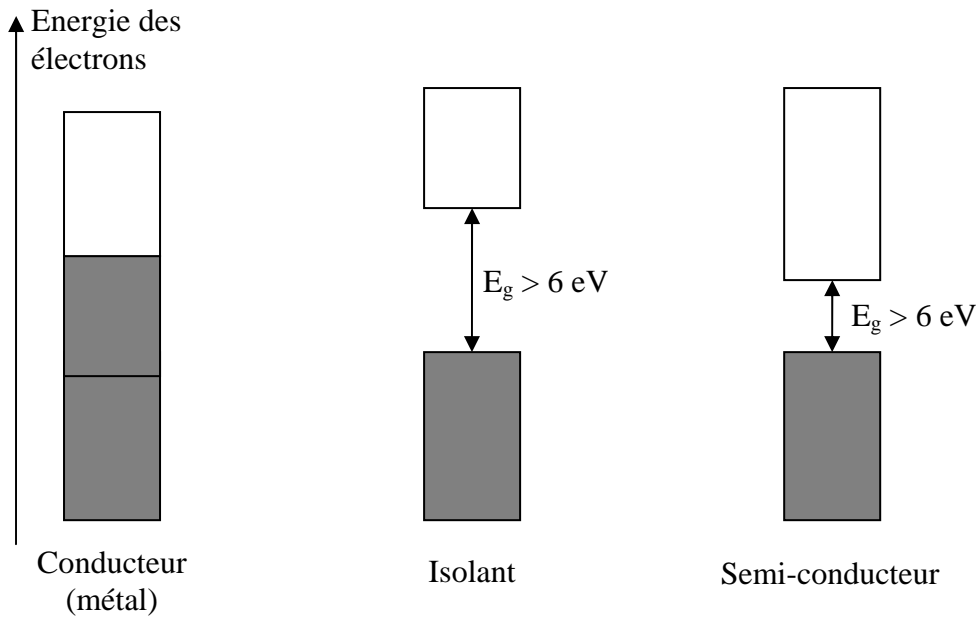


Figure 1 : schéma des bandes électroniques pour les trois types de matériaux (BV en gris et BC en blanc)

Lorsque le semi-conducteur est un cristal parfait, il est dit semi-conducteur intrinsèque. Pour chaque électron de valence passant dans la bande de conduction, il se crée un trou d'électron dans la bande de valence. Les concentrations n en électrons et p en trous d'électrons sont alors égales. Le potentiel électrochimique des électrons dans le matériau appelé niveau de Fermi, d'énergie E_f se trouve au milieu de la bande interdite. La conductivité électronique d'un semi-conducteur intrinsèque est alors très faible.

La conductivité d'un semi-conducteur peut être augmentée, de manière délibérée ou non, de deux façons :

- soit par introduction d'éléments de valence différente (dopage),
- soit par création d'un écart à la stoechiométrie.

Le matériau est alors appelé semi-conducteur extrinsèque.

Dans les deux cas, un semi-conducteur peut être soit de type n , dans ce cas les porteurs de charge majoritaires sont les électrons chargés négativement, soit de type p , auquel cas les porteurs de charge majoritaires sont les lacunes de la BV (« trous ») chargées positivement.

Un semi-conducteur de type n se caractérise par la présence d'états électroniques donneurs dans la bande interdite, d'énergie E_d proche de l'énergie E_c . Un semi-conducteur de type p se caractérise par la présence d'états électroniques accepteurs dans la bande interdite d'énergie E_a proche de E_v .

La courbure des bandes de conduction ou de valence est modifiée par la présence de dopants au sein du matériau. Le potentiel de bandes plates U_{fb} est défini comme la tension à appliquer pour redresser la BC ou la BV.

Annexe n°4 : Bactéries et levures

1 Les bactéries

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes, caractérisés par l'absence d'un noyau et d'organites cellulaires (mitochondries, chloroplastes). Leur taille caractéristique est le micromètre, la plupart d'entre elles ayant des dimensions comprises entre 0,5 et 5 μm . Leur matériel génétique est constitué d'un unique chromosome circulaire d'une longueur d'environ 1 mm et de petites molécules d'ADN circulaires appelées plasmides. Les bactéries sont entourées d'une paroi externe, séparée de leur membrane cytoplasmique par un espace appelé espace périplasmique.

Les bactéries peuvent vivre dans pratiquement toutes les niches environnementales de la biosphère. Elles sont capables d'utiliser une très large gamme de sources de carbone et d'énergie. Leur approvisionnement en carbone et en énergie permet de séparer les bactéries en deux groupes :

- Les autotrophes ont la capacité de croître uniquement à partir de matière minérale, leur source de carbone étant le CO_2 . Leur source d'énergie peut être la lumière solaire (photosynthèse) ou l'oxydation de composés minéraux (chimiosynthèse).
- Les hétérotrophes utilisent la matière organique comme source de carbone. La source d'énergie peut être là aussi soit de nature photosynthétique, soit de nature chimiosynthétique.

Le rapport d'une espèce bactérienne à l'oxygène permet de séparer les bactéries en quatre groupes :

- Les bactéries aérobies strictes ont besoin d'oxygène pour vivre et se développer.
- Les bactéries aéro-anaérobies facultatives peuvent se passer d'oxygène même si la présence de O_2 est favorable à leur développement.
- Les bactéries micro-aérophiles se développent dans des milieux ayant une teneur en dioxygène dissous très faible.
- Les bactéries anaérobies strictes ne survivent pas en présence de O_2 .

Certaines bactéries possèdent des structures extracellulaires comme les flagelles ou les pili (appelés aussi cils ou fimbriae).

Les flagelles sont des structures protéiniques qui se développent à partir de la membrane cytoplasmique et qui permettent aux bactéries de se mouvoir. Les bactéries hétérotrophes peuvent utiliser leurs flagelles pour se diriger vers des zones riches en substances organiques (nutriments) grâce au phénomène appelé chimiotactisme.

Les pili sont des structures protéiques utiles pour l'adhésion des bactéries aux interfaces et aux surfaces. Ce type de structure peut être impliqué dans les processus de bioadhésion.

Certaines bactéries produisent une couche externe dense et rigide, qui apparaît comme une gaine autour de la bactérie. Elles sont dites engainées. Certaines souches bactériennes impliquées dans le phénomène de corrosion microbienne possèdent cette propriété.

La morphologie des bactéries est assez variée. La figure 1 décrit les différentes formes existantes.

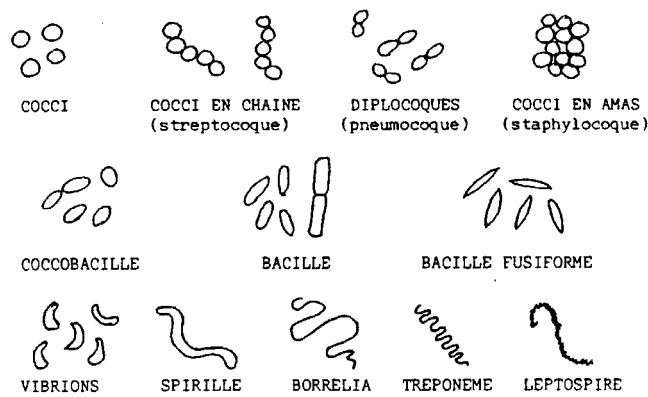


Figure 1 : diversité des formes au sein des bactéries

2 Les levures

Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires capables de fermenter des matières organiques. Ce sont des microorganismes eucaryotes, qui se multiplient soit par bourgeonnement, soit par scissiparité.

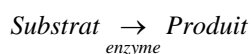
3 Isolats microbiens prélevés sur support métallique en eau de rivière naturelle

- La souche notée 1 est un bacille bactérien appelé *Brevundimonas diminuta*, Gram-, catalase -, oxydase +. Ce bacille a été récemment reclassé dans le genre *Pseudomonas* et porte aussi la dénomination *Pseudomonas diminuta*. Cette bactérie de petite taille est utilisée dans l'industrie pour tester l'efficacité des filtres antibactériens (diamètre de pore 0,2 µm) permettant de stériliser une solution par filtration [283].
- La souche notée 2 est un bacille bactérien appelé *Photobacterium logei*, Gram-, catalase-, oxydase +, mobilité +. Ce bacille a été récemment reclassé dans le genre *Vibrio* et porte aussi la dénomination *Vibrio logei*. Cette bactérie bioluminescente est capable de coloniser les organismes lumineux (certains calmars par exemple) et de développer une symbiose avec son hôte eucaryote [284]. Elle peut jouer un rôle dans la communication : elle permet alors d'attirer les proies et de repousser certains prédateurs [285]. Elle est souvent trouvée dans les eaux naturelles, en particulier en eau de mer [286, 287]. La luminescence de cette bactérie est influencée par la température de culture ; elle est en particulier réduite lorsque la température est supérieure à 20°C [288].
- La souche notée 3 est une levure appelée *Sporidiobolus johnsonii*. Le genre *Sporidiobolus* fait partie de la classe des Basidiomycètes. Les colonies sur milieu solide sont colorées (de rosées à rouges) par la présence de pigments caroténoïdes. Cette levure est aérobic stricte et n'effectue pas de fermentation. Elle est parfois utilisée pour sa synthèse de lactones [289].

Annexe n°5 : les enzymes

Une enzyme est une protéine ayant une fonction de catalyseur : elle est capable d'accélérer la vitesse d'une réaction chimique et se retrouve inchangée à la fin de la réaction. Elle abaisse l'énergie d'activation de la réaction. Les enzymes sont des catalyseurs à haute spécificité, c'est-à-dire qu'une enzyme donnée ne peut catalyser qu'une seule réaction chimique bien précise.

Une enzyme est une protéine, sa structure tridimensionnelle est primordiale pour la fonction qu'elle remplit. Certaines zones de l'enzyme ont des caractéristiques chimiques spécifiques et sont capables de se lier à un des réactifs de la réaction chimique catalysée. Ces zones sont les sites actifs. Le (ou les) réactif(s) qui se fixe(nt) sur un site actif est le substrat de l'enzyme.



La spécificité d'une enzyme pour son substrat est parfois appelée « système de reconnaissance clé-serrure ». Le site actif et le substrat ont des affinités morphologiques et physicochimiques telles que seule une molécule de substrat pourra s'adsorber sur le site actif lui correspondant. Prenons le cas d'une réaction chimique au cours de laquelle une molécule notée A se lie à une molécule notée B pour former la molécule A-B : $A+B \rightarrow A-B$, catalysée par l'enzyme E. L'enzyme E comporte 2 sites actifs, l'un avec une forte affinité pour le substrat A et l'autre avec une forte affinité pour le substrat B. Dans un premier temps, les deux molécules A et B s'adsorbent sur leur site actif respectif. Ensuite, les deux molécules réagissent ensemble alors qu'elles sont complexées avec l'enzyme : une liaison chimique se crée et forme le produit A-B. Enfin, la molécule A-B nouvellement formée se désorbe de l'enzyme. L'enzyme est alors renouvelée, la molécule est à son état initial, elle peut recommencer toute l'opération de catalyse avec deux autres molécules A et B.

Le site actif de certaines enzymes (appelées apoenzymes) ne peut être fonctionnel que si une molécule bien particulière (appelée cofacteur) vient s'y fixer. Le cofacteur peut être un ion métallique (cuivre, zinc, manganèse, fer...) ou une petite molécule organique (le cofacteur est alors appelé coenzyme), comme par exemple certaines vitamines.

Une enzyme est dite dénaturée lorsque elle est tellement déformée que son site actif ne présente plus de complémentarité avec le substrat. La modification du site actif la rend inactive, l'enzyme ne peut plus remplir sa fonction de catalyseur. La dénaturation peut être provoquée par une élévation de température, des variations de pH, une élévation de la force ionique de l'électrolyte, certains solvants organiques...

Les enzymes jouent un rôle capital à l'intérieur des cellules en catalysant les réactions du métabolisme cellulaire. Elles peuvent aussi être exportées en dehors de la cellule et se retrouver dans le milieu environnant. C'est le cas des enzymes exocellulaires trouvées au sein des biofilms développés en eaux naturelles.

L'activité d'une enzyme est généralement exprimée en unité internationale (elle peut aussi être exprimée en katal kat). Une unité d'enzyme est la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation de 1 μmol de substrat par minute.

Annexe n°6 : microscopie électronique à balayage et micro-analyse X

1 Principe de la MEB

La Microscopie Electronique à Balayage consiste à balayer la surface d'un échantillon par un faisceau concentré d'électrons ayant généralement une énergie comprise entre 1 et 40 keV. En raison des interactions électrons-matière, la surface réémet des particules dont la détection et l'analyse permettent de caractériser la topographie et la composition chimique de la surface de l'échantillon.

Lorsque le faisceau d'électrons frappe la surface, les électrons incidents (aussi appelés électrons primaires) peuvent avoir plusieurs comportements :

- L'électron primaire peut céder une partie de son énergie à un électron de valence de l'atome ayant une faible énergie de liaison. Cet électron est alors éjecté, et l'atome s'ionise. Ces électrons émis par la surface sont appelés électrons secondaires, ils ont une énergie faible (en général proche de 50 eV). Le libre parcours moyen d'un électron dans un solide a pour ordre de grandeur le nm. Les électrons secondaires sont par conséquent émis dans les couches superficielles de la surface, généralement dans les 10 premiers nanomètres. Le nombre d'électrons émis varie en fonction du relief de la surface, ce qui implique qu'une cartographie de ces électrons permet de connaître la topographie de l'échantillon.
- Certains électrons primaires subissent des chocs élastiques ou quasi-élastiques avec des atomes du solide. Ils ne perdent qu'une très faible quantité d'énergie et sont réémis dans une direction proche de la direction incidente. Ces électrons sont appelés électrons rétrodiffusés. Leur énergie est beaucoup plus élevée (proche de l'énergie des électrons primaires, donc pouvant atteindre plusieurs dizaines de keV) que l'énergie des électrons secondaires, ce qui permet de séparer les deux types d'électrons. De plus, la forte énergie des électrons rétrodiffusés leur permet de provenir de couches plus profondes que les électrons secondaires (environ des 100-200 nm superficiels). Par ailleurs, le nombre d'électrons rétrodiffusés par les atomes lourds (nombre atomique Z élevé) est plus important que le nombre d'électrons rétrodiffusés par les atomes légers (nombre atomique Z faible).
- Les électrons primaires peuvent exciter les atomes du solide et provoquer l'éjection d'électrons de cœur. L'atome est alors dans un état excité. Un électron d'une couche supérieure subit une transition électronique pour venir combler la lacune créée par l'éjection de l'électron de cœur. Cette transition électronique correspond à une perte d'énergie, qui peut se faire soit par émission d'un photon dans le domaine des X (utilisé dans la technique d'analyse EDS), soit par émission d'un électron (appelé électron Auger). Ce phénomène est expliqué plus en détail dans la description de la Spectroscopie de Photoélectrons (XPS) en annexe n°7.

Les électrons secondaires et les électrons rétrodiffusés sont collectés par des détecteurs d'électrons. L'image en électrons est alors formée sur l'écran de visualisation. Ces images permettent d'observer l'aspect, la topographie et éventuellement le contraste de phase (rétrodiffusés) de la surface de l'échantillon.

2 Principe de l'analyse EDS (Energy Dispersive Spectroscopy)

Les photons émis lors de la désexcitation des atomes par transition électronique ont une énergie égale à la différence d'énergie entre la couche périphérique d'où provient l'électron comblant la lacune et la couche de cœur où se trouve la lacune. Cette énergie de transition électronique est caractéristique de l'atome émetteur. Il peut y avoir plusieurs transitions électroniques possibles, donc un type d'atome peut émettre plusieurs types de photons. Les différentes transitions sont désignées par la notation de Siegbahn (tableau 1).

Niveau de basse énergie	Niveau de haute énergie	Nom de la raie
1s ₀	2p _{3/2}	Kα ₁
	2p _{1/2}	Kα ₂
	3p _{3/2}	Kβ ₁
2p _{3/2}	3d _{5/2}	Lα ₁
2p _{1/2}	3d _{3/2}	Lβ ₁
3d _{5/2}	5p _{3/2}	Mα ₁

Tableau 1 : notation de Siegbahn des différentes transitions électroniques

Les photons X émis sont détectés par des cristaux semi-conducteurs, qui transforment le signal en paire électrons-trous, à la suite de quoi le signal est converti en tension. L'analyse du signal permet de compter le nombre de photons émis par chaque type de transition électronique. La représentation du nombre de photons en fonction de leur énergie (appelée spectre EDS) permet de caractériser la composition chimique élémentaire de la surface de l'échantillon.

Annexe n°7 : spectroscopie de photo-électrons (XPS)

1 Principe de la spectroscopie de photo-électrons

La technique de spectrométrie de photoélectrons (en anglais, XPS : X-Ray Photoelectron Spectroscopy) est basée sur l'utilisation de l'effet photoélectrique. Elle consiste à irradier sous vide un échantillon par un faisceau de photons incident, dans le domaine des rayons X. Les photons pénètrent à l'intérieur du solide, puis interagissent avec les atomes de l'échantillon. Une des interactions photons-matière est l'effet photoélectrique, c'est-à-dire l'ionisation des atomes par éjection d'électrons. Les électrons émis sont triés en fonction de leur énergie cinétique par un détecteur/analyseur. La mesure de leur énergie cinétique permet de calculer leur énergie de liaison. En effet, la conservation de l'énergie permet d'écrire l'équation (4) :

$$h\nu = E_C + E_{\text{liaison}}(n, l) \Leftrightarrow E_{\text{liaison}} = h\nu - E_C \quad (4)$$

où $h\nu$ est l'énergie du faisceau de photons incident, E_C l'énergie cinétique de l'électron émis et $E_{\text{liaison}}(n, l)$ l'énergie de liaison de l'électron émis, dépendant de l'orbitale atomique d'où il provient et donc des deux premiers nombres quantiques n et l .

E_{liaison} peut aussi être définie comme l'énergie d'ionisation de l'atome. Cette valeur d'énergie est caractéristique de l'atome émetteur et de l'orbitale atomique de l'électron. Sa détermination permet d'identifier les éléments et de connaître (entre autres) leur degré d'oxydation.

2 Epaisseur analysée

La probabilité d'interaction entre les électrons et les atomes est supérieure à la probabilité d'interaction entre les photons et la matière. Les libres parcours moyens respectifs ont pour ordre de grandeur le nm (électrons) et le μm (photons). Les photons pénètrent de quelques μm à l'intérieur du solide, générant des photoélectrons dans cette épaisseur. Seuls les électrons émis dans les premiers nanomètres quittent la surface sans perdre d'énergie : ils sont à l'origine des pics observés sur un spectre XPS. En revanche, les électrons photogénérés plus en profondeur perdent de l'énergie cinétique par choc inélastique lors de leur migration vers la surface ; ils forment le bruit de fond.

Il a été montré que 63% du signal photoélectrique provient du premier λ et que 95% du signal provient d'une épaisseur d'environ $3\lambda \cdot \sin\theta$, où λ est le libre parcours moyen des électrons (qui dépend de l'énergie cinétique du photoélectron et est généralement inférieur à 5 nm) et θ leur angle d'éjection par rapport au plan de la surface. L'épaisseur analysée est donc d'environ 15 nm au maximum. La technique XPS est donc parfaitement adaptée à la caractérisation de fines couches d'oxydes, tels les films passifs des aciers inoxydables.

De plus, la méthode dite de « l'angle résolu », en diminuant l'angle entre le plan de la surface et le détecteur jusqu'à une valeur connue inférieure à 90° , permet de diminuer l'épaisseur analysée et de caractériser l'extrême surface de la couche d'oxydes.

3 Spectre XPS

Un spectre XPS représente le nombre de photoélectrons émis (en coups par seconde) en fonction de leur énergie de liaison (en eV). Les différents pics obtenus sont caractérisés par :

Leur énergie : cette valeur permet d'identifier l'atome émetteur et de remonter à son état d'oxydation. Elle permet d'identifier les espèces chimiques et de procéder dans certains cas à une séparation entre les oxydes et les hydroxydes de même valence.

- Leur largeur à mi-hauteur : elle dépend de la largeur naturelle de la raie excitatrice, de la résolution du spectromètre et de l'état chimique de l'élément considéré.
- Leur intensité : cette valeur dépend du flux de photons X, de facteurs expérimentaux, mais aussi du facteur de sensibilité et de la concentration de l'élément étudié. Elle permet de faire une quantification de manière relative (afin d'éliminer les paramètres expérimentaux) des différents éléments présents.

La première étape d'une analyse XPS est d'acquérir le spectre général de la surface, de 0 à 1300 eV, avec un pas en énergie assez important (1 eV) et une résolution énergétique faible. Ce spectre permet de connaître les différents éléments présents. Ensuite, le spectre est acquis autour du pic le plus intense pour chaque élément, avec un pas en énergie plus faible (0,1 eV) et dans des conditions d'acquisition favorisant la résolution au détriment de l'intensité. Il faut ensuite procéder au traitement de chaque pic individuel relatif à un élément : soustraction de la ligne de base, recomposition du spectre et/ou calcul de l'aire du pic.

La plupart des pics photoélectriques sont symétriques, toutefois, dans le cas des métaux purs, ils peuvent être très asymétriques, car lorsque les photoélectrons migrent vers la surface, ils peuvent donner une partie de leur énergie aux électrons de la bande de valence qui passent dans la bande de conduction.

Différents types de pics « satellites » se superposent aux pics photoélectriques proprement dits. En particulier, des électrons Auger peuvent être émis et former des pics sur un spectre XPS. En effet, après l'émission d'un électron par effet photoélectrique, une couche inférieure se retrouve avec une lacune électronique. Une transition électronique peut avoir lieu entre une couche supérieure et cette couche incomplète : un électron d'une couche supérieure occupe alors l'orbitale interne vacante. Un électron de la couche supérieure concernée est ensuite émis pour dissiper l'excès d'énergie engendré par la transition électronique (figure 1). Ce deuxième électron est un électron Auger.

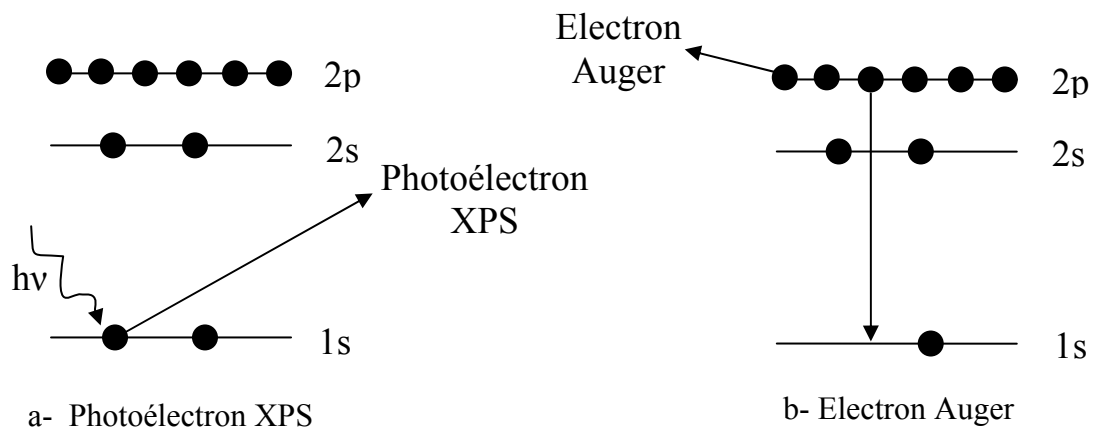


Figure 1 : principe de l'émission d'un photoélectron et d'un électron Auger

Les électrons Auger forment des groupements de pics complexes. Les 4 principales séries Auger sont KLL, LMM, MNN et NOO, la première lettre désignant la couche présentant la

lacune initiale et les deux dernières lettres la couche présentant la lacune finale. L'énergie d'un pic Auger dépend uniquement de l'orbitale de départ et de l'orbitale d'arrivée de la transition électronique. Les pics Auger peuvent être séparés des pics photoélectriques en modifiant l'énergie $h\nu$ des photons incidents : l'énergie cinétique des photoélectrons variera alors que les pics Auger resteront inchangés.

D'autres types de pics parasites peuvent être mentionnés : pics « satellites » X, correspondant à d'autres raies de la source X, pics « shake-up », dus à une perte d'énergie par transition électronique des photoélectrons avant leur émission...

Annexe n°8 : photoélectrochimie

1 L'interface semi-conducteur/électrolyte à l'obscurité

Lors de la mise en contact d'un semi-conducteur (SC) avec un électrolyte, un transfert de charge s'opère et aboutit à l'égalisation des niveaux de Fermi des deux phases. Cette mise à l'équilibre se traduit généralement par une modification des profils énergétiques dans chaque phase et par un appauvrissement ou un enrichissement de la concentration en porteurs majoritaires dans le semi-conducteur au voisinage de sa surface, dans la zone de charge d'espace. Cette dernière peut s'étendre sur une profondeur W , de l'ordre de quelques nanomètres à quelques centaines de nanomètres. La charge électrique contenue dans cette région, la charge d'espace, notée Q_{sc} est égale mais de signe opposé à la charge développée dans l'électrolyte au voisinage de la surface et localisée essentiellement dans la couche de Helmholtz (quelques angströms d'épaisseur).

Le sens du transfert de charges entre le semi-conducteur et l'électrolyte dépend de la position relative des niveaux de Fermi des deux phases, E_F (SC) et $E_{F,el}$ (électrolyte), avant leur mise en contact. Si les niveaux de Fermi sont identiques, il n'y a pas de transfert de charges, pas d'excès de charge dans la région de charge d'espace, donc pas de gradient de potentiel dans le semi-conducteur, ce dernier est dit en situation de bande plate; le potentiel de l'électrode semi-conductrice, par rapport à une référence de potentiel dans l'électrolyte, est alors appelé potentiel de bande plate, noté U_{fb} .

Dans le cas contraire, des porteurs majoritaires sont transférés du semi-conducteur vers l'électrolyte si $E_F > E_{F,el}$ (et inversement), créant un appauvrissement (inversement un enrichissement) en porteurs majoritaires dans la zone de charge d'espace, et, en conséquence, un gradient de potentiel dans cette région se traduisant par la courbure des bandes du semi-conducteur.

Les situations d'appauvrissement, d'enrichissement et de bande plate peuvent par conséquent être obtenues par l'application d'un potentiel adéquat à l'électrode semi-conductrice.

La situation intéressante en photoélectrochimie est le cas où le semi-conducteur est en situation d'appauvrissement en porteurs majoritaires. En effet, en situation d'enrichissement, le courant d'obscurité est quasiment égal au courant stationnaire, et la faible contribution du photocourant est difficile à détecter. En revanche, en situation d'appauvrissement, le courant d'obscurité est faible et il est alors plus simple expérimentalement de dissocier les deux composantes du courant stationnaire : le courant d'obscurité et le photocourant. La figure 1 présente les différentes situations possibles pour des semi-conducteurs de type n et p.

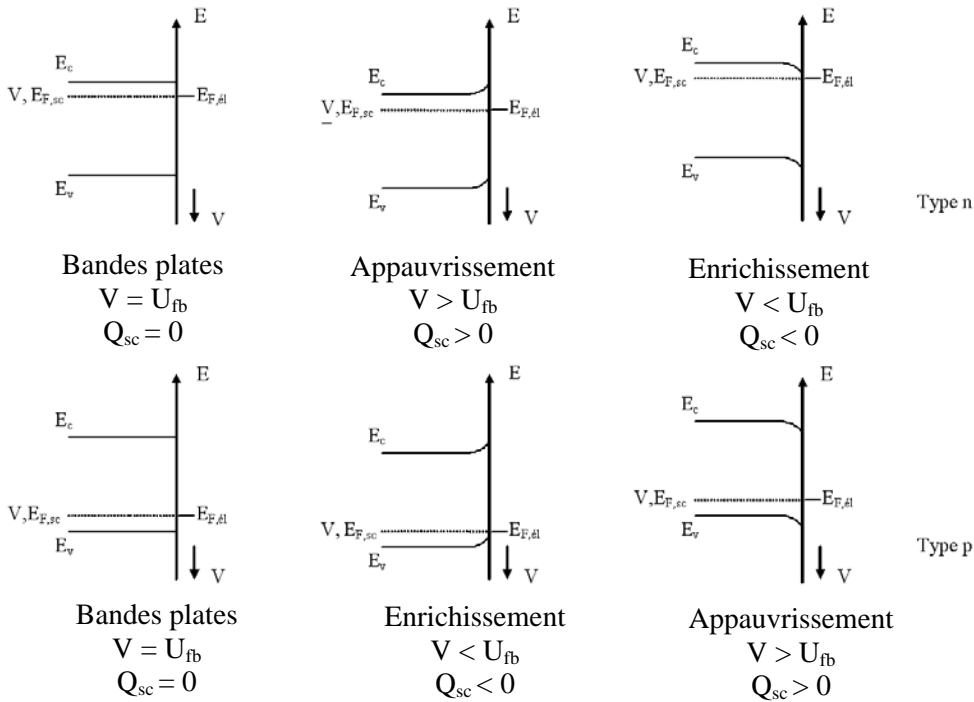


Figure 1 : interface semi-conducteur/électrolyte à l'obscurité pour un semi-conducteur de type n et p (d'après [223])

2 L'interface semi-conducteur/électrolyte sous lumière

➤ Description qualitative

Lorsqu'un semi-conducteur est éclairé par des photons d'énergie supérieure au gap ($h\nu > E_g$), il y a passage d'électrons de la bande de valence vers la bande de conduction. Ces électrons laissent ainsi des trous dans la bande de valence. On peut alors parler de création de paires électron-trou :



La tendance naturelle sera la disparition de cette paire par un processus de recombinaison. Toutefois, sous l'action du champ électrique créé par le gradient de potentiel dans la zone de charge d'espace, les électrons et les trous photogénérés se déplaceront en sens inverse dans la bande de conduction et la bande de valence. Cette séparation sera d'autant plus rapide et la durée avant la recombinaison d'autant plus grande que le gradient de potentiel dans la zone de charge d'espace sera important.

Considérons le cas d'un circuit fermé où l'électrode semi-conductrice est contrôlée en potentiel par rapport à une référence dans l'électrolyte. En présence d'un couple redox convenable au sein de l'électrolyte, il est possible de polariser l'électrode de manière à la placer en situation d'appauvrissement. Le champ électrique régnant au sein de la zone de charge d'espace permet alors de séparer les paires électron-trou photogénérées. Les porteurs majoritaires sont drainés vers le sein de l'électrode (et donc vers le circuit extérieur), alors que les porteurs minoritaires migrent vers la surface de l'électrode où ils pourront être transférés à l'électrolyte via des niveaux redox accessibles. Les porteurs majoritaires génèrent un photocourant, noté I_{ph} , anodique pour un semi-conducteur type n ou cathodique pour un semi-conducteur type p. La figure 2 présente un résumé de ces deux situations.

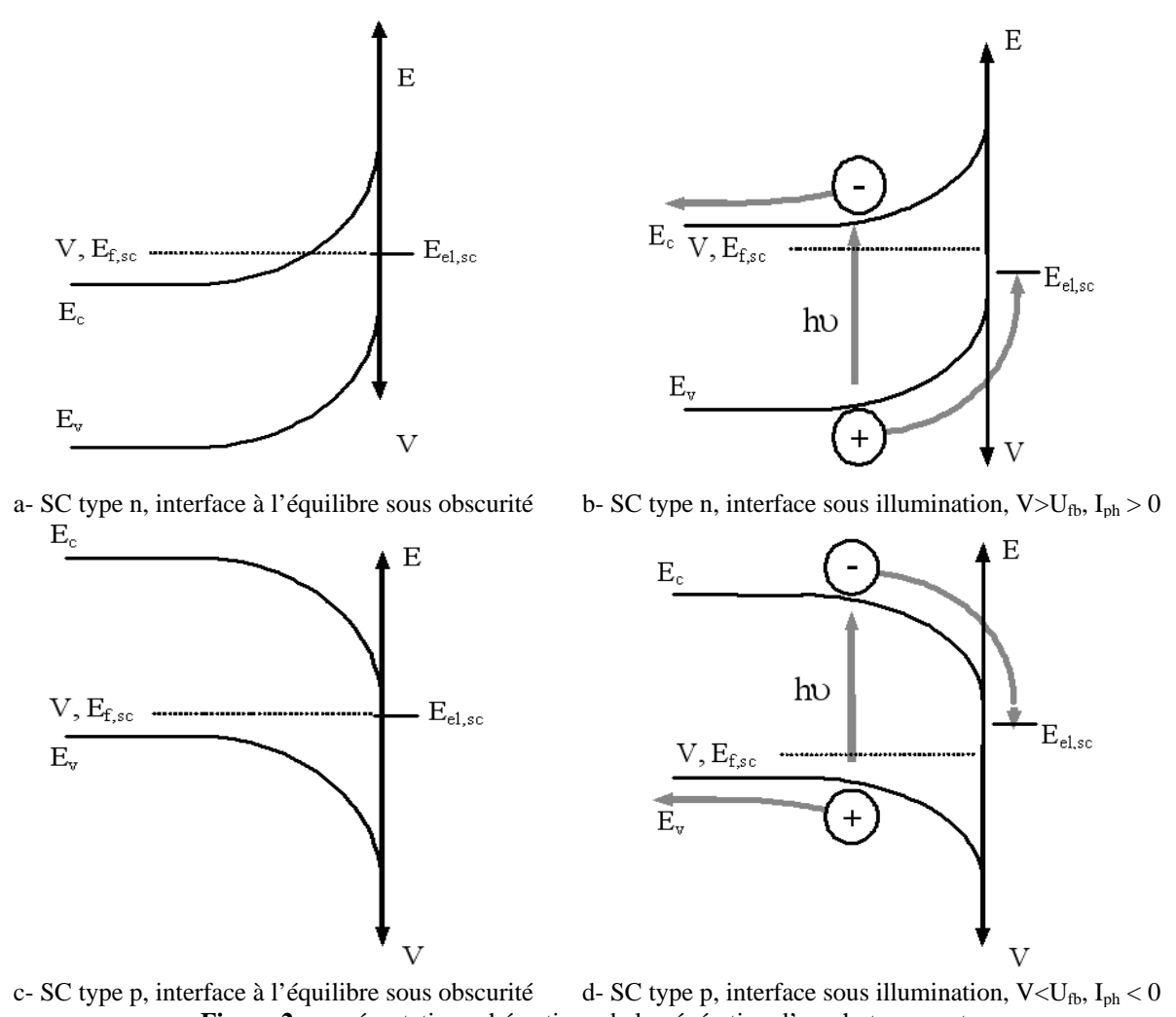


Figure 2 : représentation schématique de la génération d'un photocourant pour des interfaces électrolyte/SC type n et p (d'après [223])

En principe, le photocourant apparaît dès que $V > U_{fb}$ (respectivement $V < U_{fb}$) pour un semi-conducteur de type n (respectivement pour un semi-conducteur de type p). Mais, en pratique, le photocourant ne devient mesurable qu'à un potentiel plus anodique (respectivement cathodique) pour un semi-conducteur de type n (respectivement pour un semi-conducteur de type p).

➤ *Expression du photocourant*

L'expression analytique du photocourant pour une interface semi-conducteur/électrolyte idéale, c'est-à-dire en ne tenant pas compte d'éventuels phénomènes de recombinaison (dans la région de charge d'espace ou en surface) et de glissements de bandes, peut être linéarisée lorsque la profondeur de pénétration α_λ^{-1} est grande devant W_{SC} et L . Elle s'écrit alors [290, 291] :

$$I_{ph} = eJ_0 \cdot \alpha_\lambda \cdot W_{SC} = eJ_0 \cdot \alpha_\lambda \cdot \sqrt{\frac{2\epsilon\epsilon_0}{Ne}} \cdot \sqrt{V - U_{fb}}$$

où e est la charge élémentaire de l'électron, J_0 le flux de photons incidents, α_λ le coefficient d'absorption de la lumière pour la longueur d'onde λ , L la longueur de diffusion des porteurs

électroniques minoritaires, $W_{SC} = \sqrt{\frac{2\epsilon\epsilon_0}{Ne}} \cdot \sqrt{V - U_{fb}}$, la profondeur de la région de charge d'espace, et N la concentration en porteurs majoritaires.

➤ *Influence du potentiel appliqué*

Si on trace des photocaractéristiques en potentiel $I_{ph}(V)$, en lumière monochromatique, α_λ est constant, et la courbe $I_{ph}^2 = f(V)$ est une droite dont l'extrapolation à $I_{ph}^2 = 0$ fournit la valeur de U_{fb} . Cependant, compte tenu des hypothèses faites pour obtenir l'équation, la linéarité de $I_{ph}^2(V)$ n'est que très rarement observée expérimentalement, et la valeur du potentiel d'apparition du photocourant est généralement prise comme valeur de U_{fb} .

➤ *Influence de l'énergie du faisceau monochromatique incident*

Le coefficient d'absorption α_λ d'un matériau cristallin varie avec l'énergie du photon incident selon l'équation 3 :

$$\alpha_\lambda = A \cdot \frac{(h\nu - E_g)^n}{h\nu}$$

où $n = 0,5$ dans le cas de transitions directes permises de la bande de valence à la bande de conduction, $n = 2$ dans le cas de transitions indirectes permises de la bande de valence à la bande de conduction.

Si on trace des photocaractéristiques en énergie $I_{ph}=f(h\nu)$, à un potentiel fixé, V, on peut tirer de l'équation :

$$\left(I_{ph} \cdot h\nu\right)^{\frac{1}{n}} = \text{constante} \cdot (h\nu - E_g)$$

Il est alors possible, si le graphe $\left(I_{ph} \cdot h\nu\right)^{\frac{1}{n}} = f(h\nu)$ obtenu est linéaire d'obtenir par extrapolation à $\left(I_{ph} \cdot h\nu\right)^{\frac{1}{n}} = 0$ la valeur de E_g , et de déterminer la nature de la transition observée, directe ou indirecte, caractéristique du matériau.

Annexe n°9 : les différents milieux de culture utilisés

Dans cette annexe sont indiqués les protocoles de préparation des différents milieux de culture utilisés, tels qu'ils sont préparés au laboratoire Corrodys de Cherbourg. Ces milieux ont été utilisés à la fois pour l'isolement de souches microbiennes aérobies à partir du milieu « eau de rivière naturelle » du site de Poses-Amfreville et pour le dénombrement des souches microbiennes présentes dans les différents types de prélèvement du milieu naturel.

- Flore bactérienne totale (aérobie et anaérobie) : milieu gélosé PCA (Plate Count Agar)

Ajouter 22,5 g du milieu déshydraté (composition indiquée dans le tableau 1) dans 1 L d'eau distillée. Passer à l'autoclave (15 minutes à 121°C). Le pH du milieu est de $7 \pm 0,2$ à 25°C.

	Peptone de caséine	Extrait de levure	D-(+)-glucose	Agar-agar
Masse (g/L)	5	2,5	1	14

Tableau 1 : composition du milieu PCA déshydraté

Le milieu noté « PCA-NaCl » est obtenu par ajout de 0,3 g/L de NaCl dans le milieu PCA.

- Bactéries Sulfato-Réductrices (BSR) : milieu de Starkey [219]

La composition du milieu de Starkey est donnée dans le tableau 2. La composition de la solution d'oligo-éléments entrant dans la formulation du milieu de Starkey est indiquée dans le tableau 3.

Produit/Solution	Masse/Volume
Chlorure d'ammonium anhydre	1 g
Sulfate de magnésium, heptahydraté	2 g
Sulfate de sodium anhydre	4 g
Solution aqueuse à 60 % de lactate de sodium	4,5 g
Solution d'oligo-éléments	1 mL
Monohydrogénophosphate de potassium	0,5 g
Acide ascorbique	0,1 g
Extrait de levures	1 g
Eau distillée	1 L

Tableau 2 : composition du milieu de Starkey pour le dénombrement des BSR

Produit/Solution	Masse/Volume
Acide chlorhydrique	53,5 mL
Magnésie calcinée	10,75 g
Carbonate de calcium	1 g
Citrate de fer III	6 g
Sulfate de zinc heptohydraté	1,44 g
Sulfate de manganèse monohydraté	1,12 g
Sulfate de cuivre pentahydraté	0,25 g
Sulfate de cobalt heptahydraté	0,9 g
Acide borique	0,06 g

Molybdate de sodium dihydraté	0,06 g
Chlorure de nickel hexahydraté	0,1 g
Sélénite de sodium pentahydraté	0,06 g
Eau distillée	500 mL

Tableau 3 : composition de la solution d'oligo-éléments entrant dans la formulation du milieu de Starkey

➤ Bactéries Thiosulfato-Réductrices (BTR) : milieu de Magot [220]

La composition du milieu de Magot est donnée dans le tableau 4. La composition de la solution d'oligo-éléments entrant dans la formulation du milieu de Magot est indiquée dans le tableau 5.

Produit/Solution	Masse/Volume
Eau distillée	946 mL
Extrait de levure	1 g
Na ₂ S ₂ O ₃ , 5 H ₂ O	3,6 g
KCl	0,3 g
NH ₄ Cl	0,3 g
KH ₂ PO ₄	0,2 g
CaCl ₂ , 2 H ₂ O	0,15 g
SL12 (solution d'oligo-éléments)	1 mL
NaCl	9 g
MgCl ₂	2 g
Acétate de sodium	1,64 g

Tableau 4 : composition du milieu de Magot pour le dénombrement des BTR

Produit/Solution	Masse/Volume
Eau distillée	1 L
EDTA	3 g
FeSO ₄ , 7H ₂ O	1,1 g
CaCl ₂ , 6H ₂ O	190 mg
MnCl ₂ , 2H ₂ O	50 mg
ZnCl ₂	42 mg
NiCl ₂ , 6H ₂ O	24 mg
Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O	18 mg
H ₃ BO ₃	300 mg
CuCl ₂	2 mg

Tableau 5 : composition de la solution d'oligo-éléments SL12 entrant dans la formulation du milieu de Magot

Sont ajoutés après autoclavage 2,5 g de NaHCO₃, 1 g de cystéine et 4 mL de la solution de vitamines V7 (tableau 6).

- NaHCO₃ : Si ces ions étaient présents dans le milieu lors de l'autoclavage, ils feraient précipiter le milieu, ils sont donc préparés séparément. 2,5 g de NaHCO₃ sont introduits dans 30 mL d'eau distillée (proportions dans lesquelles il n'y a pas de précipités après autoclavage). La préparation est faite sous atmosphère N₂/CO₂. La solution est finalement stérilisée par autoclavage (121°C, 1 bar, 20 min).

- Cystéine : 1 g de cystéine est introduit dans 20 mL d'eau distillée auparavant bouillie et refroidie sous atmosphère N₂/CO₂. La solution est ensuite stérilisée par filtration à 0,2 µm.
- Solution de vitamines V7 : ne pouvant être autoclavée, cette solution doit être stérilisée par filtration à 0,2 µm avant d'être ajoutée au milieu. La solution de vitamines doit être conservée à 4°C pour éviter sa dénaturation. La composition de cette solution est indiquée dans le tableau.

Produit/Solution	Masse/Volume
Eau distillée	1000 ml
Biotine	2,0 mg
p-AminoBenzoate	10 mg
Thiamine	10 mg
Pantothénate	5 mg
Pyridoxamine	50 mg
Vitamine B12	20 mg
Nicotinate	20 mg

Tableau 6 : composition de la solution de vitamines V7

- Entérobactéries : milieu de Mc Conkey

Mettre en suspension 50g du milieu déshydraté (composition indiquée dans le tableau 7) dans 1 L d'eau distillée. Porter à ébullition lentement, en agitant jusqu'à dissolution complète. Répartir en tubes ou en flacons.

Passer à l'autoclave (15 min à 121°C).

Le pH final est de 7,1 ± 0,2 à 25°C.

Produit/Solution	Masse/Volume
Peptone pancréatique de gélatine	17 g/L
Tryptone	1,5 g/L
Peptone pepsique de viande	1,5 g/L
Lactose	10 g/L
Sels biliaires	1,5 g/L
Chlorure de sodium	5 g/L
Rouge neutre	0,03 g/L
Cristal violet	0,001 g/L
Agar-agar bactériologique	13,5 g/L

Tableau 7 : composition du milieu de Mc Conkey déshydraté pour le dénombrement des entérobactéries

Références bibliographiques

- [1] : I. Dupont, "Influence des bactéries et de leur activité sur l'évolution du potentiel des aciers inoxydables en eau de mer naturelle", Thèse de l'Université de Caen (1996)
- [2] : S.C. Dexter, P.Chandrasekaran, "Mechanism of potential ennoblement on passive metals by seawater biofilms", NACE Annual Conference and Corrosion Show, paper 493 (1993)
- [3] : H. Amaya, H. Miyuki, "Mechanism of microbially influenced corrosion (MIC) on stainless steels in natural seawater and the effect of surface treatment on corrosion resistance", Corrosion Engineering 46 (1997), p. 567-581
- [4] : D. Féron, M. Roy, "Corrosion Behaviour of stainless steels in natural waters: focus on microbiological and chemical aspects", Forum Biodétérioration des Matériaux, Toulouse, DAP/SCECF n°256 (Septembre 2000)
- [5] : K.P. Fischer, E. Rislund, O. Steensland, U. Steinsmo, B. Waléen, "Comparison of sea water corrosivity in Europe", Marine Corrosion of Stainless Steels, European Federation of Corrosion Publications N°33, édité par D. Féron, p.3-11 (ISSN 1354-5116)
- [6] : V. Scotto, A. Mollica, J.P. Audouard, C. Compère, D. Festy, D. Féron, T. Rogne, U. Steinsmo, C. Taxen, D. Thierry, "The Corrosion behaviour of stainless steels in natural seawater : results of an european collaborative project", Proceedings of Eurocorr'96, Nice, France, Session XIV (Marine Corrosion), 2-1 à 2-3 (programme MAST II) MAST II, "Marine biofilms on stainless steels: effects, monitoring and prevention" Final report 1996
- [7] : E. Bardal, J.M. Drugli, P.O. Gartland, Corrosion Science 35 (1993), p.257
- [8] : B. Little, R. Ray, P. Wagner, Z. Lewandowski, W.C. Lee, F. Mansfeld, Corrosion NACE 90 (Houston, TX : NACE International, 1990)
- [9] : V. Scotto, A. Mollica, J-P. Audouard, C. Compère, D. Féron, D. Festy, T. Rogne, U. Steinsmo, C.Taxen, D. Thierry, "Seawater Corrosion of stainless steels", EFC n°19 (ISBN 186125-018-5), The Institute of Material (1996)
- [10] : A. Mollica, A. Trevis, « Corrélation entre la formation de la pellicule primaire et la modification de la réaction cathodique sur des aciers inoxydables expérimentés en eau de mer aux vitesses de 0.3 à 5.2 m/s », in Proceedings of Fourth International Congress on Marine Corrosion and Fouling, Juan-les-Pins, Antibes, France (1976), p.351
- [11] : M. Kolari, K. Mattila, R. Mikkola, M. S. Salkinoja-Salonen, "Community structure of biofilms on ennobled stainless steel in Baltic Sea water", Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 21, N°6 (Décembre 1998), p.261-274
- [12] : S. Angappan, S. Maruthamuthu, M. Eashwar, G. Rajagopal, "Contributions of anions, biofilms and alloying components to the ennoblement of stainless steel in natural waters", in EFC Publications n°29 (éd. CAC Sequeira), Microbial Corrosion, Proceedings of 4th international EFC Workshop, IOM communications, London (2000), p.69-78
- [13] : W. Wei, W. Jia, X. Haibo, L.Xiangbo, "Relationship between the ennoblement of passive metals and microbe adsorption kinetics in seawater", Materials and Corrosion 56, N°5 (2005), p.329-333
- [14] : J.P. Audouard, C. Compère, N.J.E. Dowling, D. Féron, D. Festy, A. Mollica, T. Rogne, V. Scotto, K. Taxen, D. Thierry, International conference on microbially influenced corrosion, Nouvelle Orléans (1995)
- [15] : I. Dupont, D. Féron, G. Novel, « Influence de facteurs inorganiques sur l'évolution du potentiel des aciers inoxydables en eau de mer naturelle », Matériaux et Techniques 85, n°11-12 (1997), p.41
- [16] : D. Féron, N. Marin, M. Roy, « Influence of ageing on the corrosion behaviour of stainless steels in seawater », Eurocorr'98, Utrecht, Pays-Bas (1998)
- [17] : N. Le Bozec, « Réaction de réduction de l'oxygène sur les aciers inoxydables en eau de mer naturelle. Influence du biofilm sur les processus de corrosion », thèse de l'Université de Bretagne occidentale (2000)
- [18] : R. Johnsen, E. Bardal, Corrosion 86, article n°227 (Houston, TX : NACE International, 1986)
- [19] : S.C. Dexter, J.P. Lafontaine, Corrosion NACE 98 (Houston, TX : NACE International, 1998)
- [20] : J. Zhang, L.W. Lion, Y.M. Nelson, M.L. Shuler, W.C. Ghiorse, "Kinetics of Mn(II) oxidation by *Leptothrix discophora* SS1", Geochimica et Cosmochimica Acta 65, n° 5 (2002), p.773-781
- [21] : S. Maruthamuthu, M. Eashwar, K. Balakrishnan, "Effects of microfouling and light/dark regimes on the corrosion potentials of two stainless alloys in seawater", Biofouling 7 (1993), p.257-265
- [22] : [Scotto 5] : V. Scotto, M.E. Lai, "Correlation between marine biofilm structure and corrosion behaviour of stainless steels in seawater", Eurocorr 96, Volume V
- [23] : I.G. Chamritski, G.R. Burns, B.J. Webster, N.J. Laycock, "Effect of iron-oxidizing bacteria on pitting of stainless steel", Corrosion (July 2004)
- [24] : Z.G. Chen, P. Gumpel, M. Kässer, "Influence of surface conditions on MIC of stainless steels", Proceedings of Eurocorr'96, Nice, France, Session V (Microbial Corrosion), article n° 013
- [25] : W.H. Dickinson, F. Caccavo Jr, Z. Lewandowski, "The Ennoblement of stainless steels by manganic oxide biofouling", Corrosion Science 38, N°8 (1996), p.1407-1422

- [26] : K. Tanaka, S. Tsujikawa, « Exposure tests to evaluate resistance of water gates », Corrosion Engineering, Vol. 52, n°7 (2003), p.495-507
- [27] : R.P. George, P. Muraleedharan, N. Parvathavarthini, H.S. Khatak, T.S. Rao, “Microbially influenced corrosion of AISI type 304 stainless steels under fresh water biofilms”, Materials and Corrosion 51 (2000), p.213-218
- [28] : R.P. George, P. Muraleedharan, N. Parvathavarthini, H.S. Khatak, T.S. Rao, “Electrochemical studies in biocorrosion of AISI type 304 stainless steel in fresh water”, Trans. Indian Instit. Met. 51, n°5 (octobre 1998), p.331-335
- [29] : Gumpel, P. & Kreikenbohm, R. (1999) Betrachtungen über den Zusammenhang zwischen bakteriellem Wachstum und der mikrobiell induzierten Potentialverschiebung bei nichtrostenden Stählen. Werkstoffe und Korrosion 50, 219-226
- [30] : M.H.W. Renner, G.H. Wagner, „Microbiologically influenced corrosion of stainless steels”, Stainless steel world 8, n°9 (Novembre 1996), p.36-43
- [31] : I.G. Chamritski, G.R. Burns, B.J. Webster, N.J. Laycock, “The influence of iron-oxidizing bacteria on the corrosion of stainless steels”, Corrosion 2001, article n°01254 (Houston, TX : NACE International, 2001)
- [32] : S.S. Motoda, Y. Suzuki, T. Shinohara, S. Tsujikawa, “The effect of marine fouling on the ennoblement of electrode potential for stainless steels”, Corrosion Science 31 (1990), p.515-520
- [33] : B. Little, R. Ray, P. Wagner, Z. Lewandowski, W.C. Lee, W.G. Characklis, F. Mansfeld, “Impact of biofouling on the electrochemical behaviour of 304 stainless steel in natural seawater”, Biofouling 3 (1991), p. 45-59
- [34] : A. Iversen, “Microbially influenced corrosion on stainless steels in waste water treatment plants: part 1”, British Corrosion Journal, Vol.36, n°4 (2001), p.277-283
- [35] : S.K. Jorgensen, “Microbially induced corrosion on stainless steel in sewage water”, BSc thesis, Université technique du Danemark, Lyngby, Denmark (1995)
- [36] : T. Mathiesen, E. Rislund, T.S. Nielsen, J.E. Frantsen, U. Tórnaes, H.G. Pedersen, P. Nielsen, M.B. Petersen, “MIC of stainless steel pipes in sewage treatment plants”, Corrosion 2003, paper n°03563 (Houston, TX : NACE International, 2003)
- [37] : V. Scotto, R. Di Cintio, G. Marcenaro, Corrosion Science 25 (1985), p.185
- [38] : S.C. Dexter, G.Y. Gao, “Effect of seawater biofilms on corrosion potential and oxygen reduction of stainless steels”, Corrosion 44, n°10 (October 1988), p.717
- [39] : A. Mollica, “Simple electrochemical sensors for biofilm and MIC monitoring”, Microbially influenced corrosion of industrial materials, Biocorrosion network, meeting of task 5, Venise (13 Avril 2000)
- [40] : D. Féron, “Marine corrosion of stainless steel : testing, selection, experience, protection and monitoring”, European Federation of Corrosion Publications n°33 (2001)
- [41] : R. Johnsen, E. Bardal, “Cathodic properties of different stainless steels in natural seawater”, Corrosion 41, n°5 (1985), p.296-302
- [42] : F.L. Roe, Z. Lewandowski, T. Funk, Corrosion 52 (1996), p.744
- [43] : S.C. Dexter, S. Lin, Proceedings of 7th International Congress on Marine Corrosion and Fouling, éditeur J.R. de Palma (1988)
- [44] : A.M. Shams el Din, T.M.H. Saber, A.A. Hammoud, Desalination 107 (1996), p.251
- [45] : A. Mollica, E. Traverso, D. Thierry, Eurocorr 96, EFC, The Institute of Materials, Nice, France Volume 22 (1996), p.51
- [46] : N. Le Bozec, C. Compère, M. L’Her, A. Laouenan, D. Costa, P. Marcus, “Influence of the stainless steel surface treatment on the oxygen reduction reaction in seawater”, Corrosion Science 43 (2001), p.765-786
- [47] : C. Compère, N. Le Bozec, M. L’Her, A. Laouenan, D. Costa, P. Marcus, “Ageing of passivated materials in sea water : study of the oxygen reduction reaction”, Marine corrosion of stainless steels : testing, selection, experience, protection and monitoring, EFC Publication n°33, éditeur D. Féron pour European Federation of Corrosion (2001), p.155-164
- [48] : M. Eashwar, S. Maruthamutu, S. Sathyanarayanan, K. Balakrishnan, “Ennoblement of stainless steel alloys by marine biofilms : an alternative mechanism”, in Proceedings of the 12th International Corrosion Congress, volume 5b (Houston, TX : NACE, 1993), p.3708
- [49] : F. Mansfeld, C.H. Hsu, Z. Sun, D. Örnek, T.K. Wood, “Technical note : ennoblement, a common phenomenon?”, Corrosion 58, n°3 (2002), p.187-191
- [50] : W.H. Dickinson, Z. Lewandowski, “Manganese biofouling and corrosion behaviour of stainless steel”, Biofouling 10 (1996), p.79-93
- [51] : X. Shi, R. Avci, Z. Lewandowski, “Electrochemistry of passive metals modified by manganese oxides deposited by *leptothrix discophora*: two-step model verified by ToF-SIMS”, Corrosion Science 44 (5), p.1027-1045 (May 2002)
- [52] : serveur du protéome Expasy (Expert Protein Analysis System) de l’Institut Suisse de Bio-Informatique (<http://www.expasy.org/cgi-bin/protparam1?P13006@23-605@>)

- [53] : A. Raisonnier, Biochimie métabolique – Enzymologie élémentaire (cours PCEM), CHU-PS Pitié Salpêtrière, Paris (2002)
- [54] : S.A. Parke, G.G. Birch, D.B. MacDougall, D.A. Stevens, “Tastes, structure and solution properties of D-glucono-1,5-lactone”, *Chemical Senses* 22, N°1 (1997), p.53-65
- [55] : I. Majumdar, F. D’Souza, N.B. Bhosle, “Microbial exopolysaccharides : effect on corrosion and partial chemical characterization”, *Journal of Indian Institute of Science* 79, n°11-12 (1999), p.539
- [56] : N.B. Bhosle, P.B. Sankaran, A.B. Wagh, “Carbohydrate sources of microfouling material developed on aluminium and stainless steel panels”, *Biofouling* 2 (1999), p.151
- [57] : C.C.H. Cronenberg, J.C. Van den Heuvel, “Determination of glucose diffusion coefficients in biofilms with micro-electrodes”, *Biosensors and Bioelectronics* 6 (1991), p.255
- [58] : W.C. Schumb, C.N. Satterfield, R.L. Wentworth, *Hydrogen peroxide*, ACS Monograph, Reinhold Publishing Corp., New York (1955)
- [59] : C.C. Winterbourn, « Toxicity of iron and hydrogen peroxide : the Fenton reaction », *Toxicology letters* 82-83 (1995), p.969
- [60] : B. Hu, « Role of residues on the proximal side of the heme in catalase HPII of Escherichia coli », Master of Science Thesis, University of Manitoba (Décembre 1999)
- [61] : H.H.H. Fenton, “Oxidation of tartaric acid in presence of iron”, *J.Chem. Soc.* 65 (1894), p.899-910
- [62] : M. Gardès-Albert, D. Bonnefont-Rousselot, Z. Abedinzadeh, D.Jore, « Espèces réactives de l’oxygène », *Mécanismes biochimiques, L’Actualité chimique* (Novembre-Décembre 2003), p.91-96
- [63] : F. Haber, J.Weiss, “The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts”, *Roc. Royal Soc. Ser. A* 147 (1934), p.332-351
- [64] : I. Lambert, “Catalytic effect of 316L on H₂O₂ decomposition”, *Rapport technique CEA-SCECF* 287 (Décembre 1992)
- [65] : G. Le Truong, J. de Laat, B. Legube, “Effects of chloride and sulfate on the rate of oxidation of ferrous ion by H₂O₂”, *Water Resarch* 38 (2004), p.2384-2394
- [66] : N. Washizu, Y. Katada, T. Kodama, “Role of H₂O₂ in microbially influenced ennoblement of open circuit potentials for type 316L stainless steel in seawater”, *Corrosion Science* 46, n°5 (Mai 2004), p.1291-1300
- [67] : K. Xu, S.C. Dexter, G.W. Luther, “Voltammetric microelectrodes for biocorrosion studies”, *Corrosion* 54, n°10 (1998), p.814
- [68] : H. Amaya, “Microbially influenced corrosion of stainless steels in aerobic aqueous environments”, *Corrosion Engineering* 52 (2003), p.165-175
- [69] : B. Foley, “Production of significant HOOH concentrations in the deep waters of temperate lakes”, *Maine Water Conference* (2004)
- [70] : S.C. Dexter, P.Chandrasekaran, “Direct measurement of pH within marine biofilms on passive metals”, *Biofouling* 15, n°4 (2000), p.313
- [71] : V. Scotto, M.E. Lai, “The ennoblement of stainless steels in seawater : A likely explanation coming from the field”, *Corrosion Science* 40, n°6 (1998), p.1007-1018
- [72] : D. Féron, I. Dupont, G. Novel, “Influence of microorganisms on the free corrosion potentials of stainless steels in natural seawater”, in *Aspects of Microbially Induced Corrosion*, éditeur : D. Thierry, EFC Publication n°22, The Institute of Materials, London (1997), p.103-112
- [73] : V. L’Hostis, “Rôle enzymatique d’un biofilm sur la corrosion d’aciers inoxydables immergés en eau de mer naturelle”, thèse de l’Université de Paris VI (2002)
- [74] : T.S. Gendron, R.C. Newman, “The Electrochemistry of MIC in Stainless Steels”, *Proceedings of Eurocorr’96*, Nice, France, Session V (Microbial Corrosion), 9-1 à 9-4
- [75] : I. Dupont, G. Novel, D. Féron, “Influence of micro-organisms on the free corrosion potentials of stainless steels in natural seawater”, *Proceedings of Eurocorr’ 96*, session V (Microbial corrosion), Nice, France (1996)
- [76] : I. Dupont, D. Féron, G. Novel, “Effect of glucose oxidase activity on corrosion potential of stainless steels in seawater”, *International Biodeterioration and Biodegradation* 41, n°1 (1998), p.13-18
- [77] : H. Amaya, H. Miyuki, “Development of accelerated evaluation method for microbially influenced corrosion of resistance of stainless steels”, *Corrosion Engineering* 44 (1995), p. 123
- [78] : M.J. Franklin, D.C. White, “Biocorrosion”, *Current Opinion in Biotechnology* 2 (1991), p.450-456
- [79] : D. Féron, A. Mollica, “Biochemical synthetic seawater for crevice corrosion tests. Simulation of stainless steel behaviour in natural marine environment”, *Stainless Steel World* (October 2004), p.44-52
- [80] : D. Féron, V. L’Hostis, M. Roy, « Eau de mer synthétique biochimique pour essais de corrosion », *Matériaux et Techniques* 90, n°7-8 (2002), p.43-48
- [81] : E. Courtehoux, « Corrosion localisée en eaux douces naturelles d’aciers inoxydables de type AISI 304 sensibilisés ou non thermiquement. Influences chimique et biochimique », thèse de l’École Centrale Paris (2004)
- [82] : A. Gottstein, “Über die Zerlegung des Wasserstoffsperoxyds durch die Zellen, mit bemerkungen über eine makroskopische Reaction für Bakterien“, *Virchows Arch. Path. Anat.* 133 (1893), p.295-307

- [83] : O. Loew, "Catalase, a new enzyme of general occurrence with special reference to the tobacco plant", US Dept. Agr. Rep., #68:47 (1901)
- [84] : S. Akabori, Research Methodology for Enzymes Volume 2, Akasura Publ., Tokyo (1956), p.324
- [85] : B. Chance, H. Sies, A. Boveris, « Hydroperoxide metabolism in mammalian organs », *Physiol.rev.* 59 (1979), p.527-605
- [86] : I. Fita, M.G. Rossmann, "The active center of catalase", *J. Mol. Biol.* 185 (1985), p.21-37
- [87] : P.R. Ortiz de Montellano, "Catalytic sites of hemoprotein peroxidases", *Annual Review of pharmacology and toxicology* 32 (1992), p.89-107
- [88] : P.R. Quiambao, N.R.L. Rojas, "Peroxidase", site web du département de chimie de l'université de Ateneo de Manila (<http://www.chem.admu.edu.ph/~nina/rosby/main.htm>)
- [89] : A.C. Maehly, "Plant Peroxidase", in *Methods in Enzymology*, Volume 2, New York Academic Press (1955)
- [90] : M.E. Lai, A. Bergel, "Electrochemical reduction of oxygen on glassy carbon : catalysis by catalase", *J. Electroanal. Chem.* 494 (2000), p.30-40
- [91] : M.E. Lai, A. Bergel, "Direct electrochemistry of catalase on glassy carbon electrodes", *Bioelectrochemistry* 55 (2002), p.157-160
- [92] : E. Csöregi, G. Jönsson-Pettersson, L. Gorton, "Mediatorless electrocatalytic reduction of hydrogen, peroxide at graphite electrodes chemically modified with peroxidases", *J. Biotechnol.* 30 (1993), p.315-337
- [93] : T. Ferri, A. Poscia, R. Santucci, "Direct electrochemistry of a Membrane entrapped Horseradish Peroxidase, part II: Flowing amperometric detection of H₂O₂ and other analytes", *Bioelectrochem. Bioenerg.* 45 (1998), p.221
- [94] : Y. Zhou, N. Hu, Y. Zeng, J.F. Rusling, *Langmuir* 18 (2002), p.211-219
- [95] : N. Hu, "Direct electrochemistry of redox proteins or enzymes at various film electrodes and their possible applications in monitoring some pollutants", *Pure Appl. Chem.* 73, n°12 (2001), p.1979-1991
- [96] : S. Da Silva, "Hydrogénases et corrosion anaérobie des aciers", thèse de l'Université de Toulouse III (2002)
- [97] : S. De Silva Munoz, poster, Forum Biodétérioration des Matériaux (VIIth edition), Caen, (27 Mai 2005)
- [98] : A. Bergel, "Les biofilms aérobies, moteurs de la biocorrosion", *Matériaux et Techniques* n°7-8 (2002)
- [99] : B.M. Tebo, L.M. He, "Microbially mediated oxidative precipitation reactions", *ACS Symposium Series* 715, Mineral-Water Interfacial Reactions, kinetics and mechanisms, Chapitre 20, édité par D.L. Sparks et T.J. Grundl, American Chemical Society (1998), p.393-414
- [100] : B.M. Tebo, H.A. Johnson, J.K. McCarthy, A.S. Templeton, "Geomicrobiology of manganese(II) oxidation", *TRENDS in Microbiology* 13, N°9 (Septembre 2005), p.421-428
- [101] : I.B. Beech, C.C. Gaylarde, "Recent advances in the study of biocorrosion – an overview", *Revista de Microbiologia* 30, N°3 (Juillet-Septembre 1999), p.177-190
- [102] : B.J. Little, P.A. Wagner, Z. Lewandowski, "The role of biomineralization in microbiologically-influenced corrosion", *Corrosion* 98, paper n°294, NACE (1998)
- [103] : D. Emerson, "Microbial oxidation of Fe(II) and Mn(II) at circumneutral pH", *Environmental Micro-Metal Interactions*, éditeur : D.R. Lovley, ASM Press, Washington D.C. (2000), p.31-52
- [104] : K.W. Mandernack, J. Post, B.M. Tebo, "Manganese mineral formation by bacterial spores of marine *Bacillus*, strain SG-1 : Evidence for the direct oxidation of Mn(II) to Mn(IV)", *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59, N°21 (1995), p.4393-4408
- [105] : J.E. Post, "Manganese oxide minerals : crystal structures and economic and environmental significance", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96 (Mars 1999), p.3447-3454
- [106] : G. W. Luther III, in *Aquatic chemical kinetics*, éd. W. Stumm, John Wiley & Sons Inc., New York (1990), p.173-198
- [107] : S. Kalthorn, S. Emerson, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48 (1984), p.897-902
- [108] : C.A. Francis, K.L. Casciotti; B.M. Tebo, Annual Meeting of the American Society for Microbiology, Miami, FL (Mai 1997)
- [109] : S.M. Webb, G.J. Dick, J.R. Bargar, B.M. Tebo, "Evidence for the presence of Mn(III) intermediates in the bacterial oxidation of Mn(II)", *Proc. Nation. Acad. Sci.*, Volume 1002, N°15, 12 Avril 2005, p.5558-5563
- [110] : K.W. Mandernack, M.L. Fogel, A. Usui, B.M. Tebo, "Oxygen isotope analyses of chemically and microbially produced manganese oxides and manganates", *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59, N°21 (1995), p.4409-4425
- [111] : B.M. Tebo, J.R. Bargar, B.G. Clement, G.J. Dick, K.J. Murray, D. Parker, R. Verity, S.M. Webb, "Biogenic manganese oxides : properties and mechanisms of formation", *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 32 (Mai 2004), p.287-328
- [112] : N. Miyata, Y. Tani, K. Iwahori, M. Soma, "Enzymatic formation of manganese oxides by an Acremonium-like hyphomycete fungus, strain KR21-2", *FEMS Microbiol. Ecol.* 47, N°1 (Janvier 2004), p.101-109

- [113] : J.K. Glenn, L. Akileswaran, M.H. Gold, "Mn(II) oxidation is the principal function of the extracellular Mn-peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*", Arch. Biochem. Biophys. 251 (2), Décembre 1986, p.688-696
- [114] : M. Sundaramoorthy, K. Kishi, M.H. Gold, T.L. Poulos, "The crystal structure of manganese peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium* at 2.06-Å resolution", J. Biol. Chem 269 (1994), p.32759-32767
- [115] : D. Schlosser, C. Höfer, "Laccase-catalyzed oxidation of Mn²⁺ in the presence of natural Mn³⁺ chelators as a novel source of extracellular H₂O₂ production and its impact on manganese peroxidase", Appl. Environ. Microbiol. 68, N°7 (Juillet 2002), p.3514-3521
- [116] : I.A. Thompson, D.M. Huber, D.G. Schulze, "Evidence of a multicopper oxidase in Mn oxidation by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*", Phytopathology 96, N°2 (Février 2006), p.130-136
- [117] : G. Kobrin, "Corrosion by microbiological organisms in natural waters", Mat. Perf. 15 (July 1976), p.38-43
- [118] : S.D. Strauss, Power 135 (1991), p.50
- [119] : G. Kobrin, "MIC causes stainless steel tube failures – despite high water velocity", Mat. Perf. 33, N°1 (Avril 1994), p.62-63
- [120] : P. Linhardt, "Manganoxidierende Bakterien und Lochkorrosion an Turbinenteilen aus CrNi-Stahl in einem Laufkraftwerk", Werkstoffe und Korrosion 45, N°1 (1994), p.79-83
- [121] : P. Linhardt, "Failure of Chromium-Nickel Steel in a hydroelectric power plant by manganese-oxidizing bacteria", Microbially Influenced Corrosion of Material, éditeurs : E. Heitz, H.C. Flemming, W. Sand, Springer Berlin Heidelberg (1996), p.221-230
- [122] : X. Shi, R. Avci, Z. Lewandowski, "Microbially Deposited Manganese and Iron Oxides on Passive Metals – Their chemistry and consequences for material performance", Corrosion 58, N°9 (Septembre 2002), p.728-738
- [123] : J. Kielemoes, I. Bultinck, H. Storms, N. Boon, W. Verstraete, "Occurrence of manganese-oxidizing microorganisms and manganese deposition during biofilm formation on stainless steel in a brackish surface water", FEMS Microbiology Ecology 39 (2002), p.41-55
- [124] : P. Linhardt, "MIC by manganese oxidizers : the performance of stainless steels and the cathodic behaviour of biomineralized Mn oxides", Corrosion 2004, article n°06527 (Houston, TX : NACE International, 2006), p.1-7
- [125] : M.I.Suleiman, I. Ragault, R.C. Newman, "The pitting of stainless steel under a rust membrane at very low potentials", Corrosion Science 36, N°3 (Mars 1994), p.479-483
- [126] : N. Sato, "Interfacial ion-selective diffusion layer and passivation of metal anodes", Electrochimica Acta 41, N°9 (Juin 1996), p.1525-1532
- [127] : R.E. Tatnall, "Fundamentals of Bacteria Induced Corrosion", Mat. Perf. 20, N°9 (1981), p.32-38
- [128] : B.J. Little, P.A. Wagner, F. Mansfeld, "Microbiologically Influenced Corrosion of metals and alloys", Int. Mat. Rev. 36, N°6 (1991), p.253-272
- [129] : D.H. Pope, D.J. Duquette, A.H. Johannes, P.C. Wayner, "Microbially influenced corrosion of industrial alloys", Mat. Perf. 23, N°1 (1984), p.14-18
- [130] : P. Linhardt, "Corrosion of metals in natural waters influenced by manganese oxidizing microorganisms", Biodegradation 8 (1997), p.201-210
- [131] : B.H. Olesen, R. Avci, Z. Lewandowski, "Manganese dioxide as a potential cathodic reactant in corrosion of stainless steels", Corrosion Science 42, N°1 (2000), p.211-227
- [132] : B.H. Olesen, R. Avci, Z. Lewandowski, "Ennoblement of Stainless Steel Studied by X-ray Photoelectron Spectroscopy », Corrosion 98, abstract 98-001 275 (Houston, TX : NACE International, 1999), p.1-7
- [133] : J. Landoulsi, S. Pulvin, C. Richard, D. Féron, "Intérêt d'une approche enzymatique en corrosion microbienne des aciers inoxydables en eaux naturelles », Matériaux et Techniques 93 hors série (2005), p.59-67
- [134] : P. Linhardt, "MIC of stainless steel in freshwater and the cathodic behaviour of biomineralized Mn oxides", Electrochimica Acta 51 (2006), p.6081-6084
- [135] : P. Linhardt, "Corrosion Processes in the presence of microbiologically deposited manganese oxides", Corrosion 2000, article n°00398 (Houston, TX : NACE International, 2000)
- [136] : L. Carpén, L. Raaska, K. Kujanpää, T. Hakkarainen, "Effects of *Leptothrix discophora* on the potential behaviour of stainless steel", Materials and Corrosion 54, N°7 (2003), p.515-519
- [137] : N. Yurt, R. Avci, Z. Lewandowski, J. Sears, "Passive Film Chemistry on 316L Stainless Steel Ennobled by Biomineralized Manganese," Corrosion 2002, article n°024551 (Houston, TX : NACE International, 2002), p.1-6
- [138] : N. Sato, "Some concepts of corrosion fundamentals", Corrosion Science 27 (1987), p.421-433
- [139] : R.C. Newman, W.P. Wong, A. Garner, Corrosion 42 (1986), p.489
- [140] : C.M. Felder, A.A. Stein, "Microbiologically influenced corrosion of stainless steel weld and base metal – Four-year field test results", Corrosion 94, article n°275 (Houston, TX: NACE International, 1994)
- [141] : Y. Yao, K. Masamura, T. Kondo, "Effect of iron-oxidizing bacteria on the corrosion behavior of type 304 stainless steel", Corrosion 99, article n°166 (Houston, TX : NACE International, 1999)

- [142] : J.W. Schultze, M.M. Lohrengel, *Electrochim. Acta* 45 (2000), p.2499-2513
- [143] : P-J. Cunat, «Aciers inoxydables : propriétés. Résistance à la corrosion », *Techniques de l'ingénieur*, article M 4 541 (2006), p.1-31
- [144] : P. Marcus, « On some fundamental factors in the effect of alloying elements on passivation of alloys », *Corrosion Science* 36 (1994), p.2155
- [145] : Y. Kobayashi, S. Virtanen, H. Bohni, "Microelectrochemical studies of the influence of Cr and Mo on nucleation events of pitting corrosion", *Journ. Electrochem. Soc.* 147 (2000), p.155
- [146] : A. Elbiache, P. Marcus, "The role of molybdenum in the dissolution and the passivation of stainless steels with adsorbed sulphur", *Corrosion Science* 33 (1992), p.261
- [147] : R. Qvarfort, "Some observation regarding the influence of molybdenum on the pitting corrosion resistance of stainless steels", *Corrosion Science* 40 (1998), p.215
- [148] : S. Jin, A. Atrens, "Passive films on stainless steels in aqueous media", *Appl. Phys. A.* 50 (1990), p.287-300
- [149] : S. Boudin, « Etude analytique et électrochimique des films de passivation formés en milieu borate à la surface d'alliage inoxydables à base fer ou de nickel : influence de la teneur en chrome », thèse de l'Université Paris VI (1993)
- [150] : J.L. Polo, E. Cano, J.M. Bastidas, "An impedance study on the influence of molybdenum in stainless steel pitting corrosion", *Journ. Electroanalytical Chemistry* 537 (2002), p.183-187
- [151] : C.R. Clayton, Y.C. Lu, *Journ. Electrochem. Soc.* 133 (1986), p.2465
- [152] : M.G.S. Ferreira, N.E. Hakiki, G. Goodlet, A.M.P. Simões, M. da Cunha Belo, "Influence of the temperature of film formation on the electronic structure of oxide films formed on 304 stainless steel", *Electrochimica Acta* 46 (2001), p.3767-3776
- [153] : M.F. Montemor, A.M.P. Simões, M.G.S. Ferreira, M. da Cunha Belo, "The Role of Mo in the chemical Composition and Semiconductive Behaviour of Oxide Films Formed on Stainless Steels", *Corrosion Science* 41 (1999), p.17-34
- [154] : L. Brewer, *Science* 161 (1968), p.115
- [155] : J. Horvath, H.H. Uhlig, *Journ. Electrochem. Soc.* 115 (1968), p.791
- [156] : G. Okamoto, "Passive film of 18-8 stainless steel. Structure and Function", *Corrosion Science* 13 (Janvier-Juin 1973), p.471-489
- [157] : W.E. O'Grady, J.O'M. Bockris, "Interpretation of Mossbauer spectra of passive films on metals", *Surface Science* 38 (1973), p.249-251
- [158] : W.E. O'Grady, "Mossbauer study of the passive oxide film on iron", *Journ. Electrochem. Soc.* 127, n°3 (1980), p.555-563
- [159] : R.W. Revie, B.G. Baker, J.O'M. Bockris, "The passive film on iron: An application of Auger electron spectroscopy", *Journ. Electrochem. Soc.* 122, n°11 (1975), p.1460-1466
- [160] : H.H. Uhlig, *Corrosion Science* 19 (1979), p.777
- [161] : G. Okamoto, T. Shibata, *Passivity of metals*, éd. F.R. et K.J, Electrochemical Society, Pennington, New Jersey (1978), p.646
- [162] : A. Di Paola, *Electrochimica Acta* 34 (1989), p.203
- [163] : A.M.P. Simões, M.G.S Ferreira, B. Rondot, M. da Cunha Belo, *Journ. Electrochem. Soc.* 137 (1990), p.82
- [164] : C. Sunseri, S. Piazza, F. di Quarto, "Photocurrent spectroscopic investigations of passive films on chromium", *Journ. Electrochem. Soc.* 137, n°8 (1990), p.2411-2417
- [165] : V. Maurice, W.P. Yang, P. Marcus, « XPS and STM study of passive films formed on Fe-22Cr single-crystal surfaces », *Journ. Electrochem. Soc.* 143, n°4 (1996), p.1182
- [166] : V. Maurice, W.P. Yang, P. Marcus, « XPS and STM study of passive films formed on Fe-18Cr-13Ni single-crystal surfaces », *Journ. Electrochem. Soc.* 145, n°3 (1998), p.909
- [167] : J.S. Kim, E.A. Cho, H.S. Kwon, "Photoelectrochemical study on the passive film on Fe", *Corrosion Science* 43 (2001), p.1403
- [168] : T. Ohtsuka, H. Yamada, "Effect of ferrous ion in solution on the formation of anodic oxide film on iron", *Corrosion Science* 40, n°7 (1998), p.1131
- [169] : C. Compère, P. Jaffré, D. Festy, « Ageing of type 316L stainless steel in seawater : relationship between open-circuit potential, exposure time and pitting potential », *Corrosion* 52, n°7 (1996), p.496
- [170] : H-H. Ge, G-D. Zhou, W-Q. Wun "Passivation model of 316 stainless steel in simulated cooling water and the effect of sulfide on the passive film", *Applied Surface Science* 211 (2003), p.321-334
- [171] : Q. Le Xuan et al, « Relations entre la structure électronique des films de passivation formés sur les aciers inoxydables et la susceptibilité de ces derniers à la corrosion par piqûres », *Ann. Chim. Sci. Mat.* 23 (1998), p.607-615
- [172] : K.P. Lillerud, P. Kofstad, *Journ. Electrochem. Soc.* 127 (1980), p.2397
- [173] : K.W. Blazey, *Solid State Commun.* 11 (1972), p.317
- [174] : E.W.A. Young, J.H. Gerretsen, J.H.W. de Wit, *Journ. Electrochem. Soc.* 134 (1987), p.2257

- [175] : N.E. Hakiki, S. Boudin, B. Rondot, M. Da Cunha Belo, "The electronic structure of passive films formed on stainless steels", *Corrosion Science* 37, n°11 (1995), p.1809-1822
- [176] : G. Lorang, M. da Cunha Belo, A.M.P. Simoes, M.G.S. Ferreira, *Journ. Electrochem. Soc.* 141 (1994), p.3347
- [177] : N.E. Hakiki, M. Da Cunha Belo, A.M.P. Simões, "Semiconducting properties of passive films formed on stainless steels. Influence of the alloying elements", *Journ. Electrochem. Soc.* 145 (1998), p.3821
- [178] : N.E. Hakiki, « Propriétés et structure électronique des films passifs formés sur les aciers inoxydables et alliages à base de nickel du type Inconel », Thèse de l'Université de Rouen (1995)
- [179] : M. da Cunha Belo, B. Rondot, C. Compère, M.F. Montemor, A.M.P. Simões, M.G.S. Ferreira, "Chemical composition and semiconducting behaviour of stainless steel passive films in contact with artificial seawater", *Corrosion Science* 40, n°2-3 (1998), p.481
- [180] : M.F. Montemor, M.G.S. Ferreira, N.E. Hakiki, "Chemical composition and electronic structure of the oxide films formed on 316L stainless steel and nickel based alloys in high temperature aqueous environments", *Corrosion Science* 42 (2000), p.1635-1650
- [181] : C. Duret-Thual, D. Costa, W.P. Yang, P. Marcus, "The role of thiosulfates in the pitting corrosion of Fe-17Cr alloys in neutral chloride solution : electrochemical and XPS study", *Corrosion Science* 39 (1997), p.913
- [182] : M. Julia J. Ferreira, M. da Cunha Belo, "Influence of the chemical composition of stainless steels on the electronic structure of passive films formed in artificial sea water", *Portugaliae Electrochimica Acta* 22 (2004), p.263-278
- [183] : W.B.A. Sharp, *Corrosion Science* 10 (1970), p.283
- [184] : S. Fujimoto, H. Tsuchiya, "Semiconductor properties and protective role of passive films of iron base alloys", *Corrosion Science* 49, n°1 (Janvier 2007), p. 195-202
- [185] : V. Maurice, W.P. Yang, P. Marcus, *Journ. Electrochem. Soc.* 145 (1998), p.909-920
- [186] : W.P. Yang, D. Costa, P. Marcus, *Journ. Electrochem. Soc.* 141 (1994), p.111-116
- [187] : M.J. Carmezim, A.M. Simões, M.F. Montemor, M.D. da Cunha Belo, « Capacitance behaviour of passive films on ferritic and austenitic stainless steel », *Corrosion Science* 47, n°3 (Mars 2005), p.257-271
- [188] : P. Schmuki, H. Boehni, *Journ. Electrochem. Soc.* 139 (1992), p.1908
- [189] : Z. Szklarska-Smialowska, « Mechanism of pit nucleation by electrical breakdown of the passive film », *Corrosion Science* 44 (2002), p.1143-1149
- [190] : H. Jang, H. Kwon, "In situ study on the effects of Ni and Mo on the passive film formed on Fe-20Cr alloys by photoelectrochemical and Mott-Schottky techniques", *Journ. Electrochem. Soc.* 590 (2006), p.120-125
- [191] : N.E. Hakiki, M.F. Montemor, M.G.S. Ferreira, M. da Cunha Belo, "Semiconducting properties of thermally grown oxide films on AISI 304 stainless steel", *Corrosion Science* 42 (2000), p.687-702
- [192] : J.W. Costerton, G.G. Geesey, P.A. Jones, "Bacterial biofilms in relation to internal corrosion monitoring and biocide strategies", *Mat. Perf.* 27 (1988), p.49-53
- [193] : J. Wingender, T.R. Neu, H.-C. Flemming, "Microbial extracellular polymeric substances : characterisation, structure and function", Springer, Berlin (1999) ISBN 3-540-65720-7
- [194] : M. Vinnichenko et al, "Spectroellipsometric, AFM and XPS probing of stainless steel surfaces subjected to biological influences", *Applied Surface Science* 201, n°1-4 (Novembre 2002), p.41-50
- [195] : I.B. Beech, "Corrosion of technical materials in the presence of biofilms - current understanding and state-of-the art methods of study", *International Biodeterioration and Biodegradation* 53 (2004), p.177-183
- [196] : M. Fletcher, G.D. Floodgate, "An electron microscopic demonstration of an acidic polysaccharide involved in the adhesion of a marine bacterium to solid surfaces", *Journal of General Microbiology* 74, p. 325-334
- [197] : K.C. Marshall, "Biofilms : an overview of bacterial adhesion, activity and control at surfaces", *ASM News* 58, p. 202-207
- [198] : M-N. Bellon-Fontaine, R. Briandet, « Le biofilm, une stratégie de survie pour les microbes », *Salles Propres* 9 (2000), p.46-56
- [199] : T. Meylheuc, « Influence de biosurfactants sur l'adhésion de *Listeria monocytogenes* à des surfaces inertes – Conséquences sur la désinfection », Thèse de l'Université Paris XI (2000)
- [200] : M-N. Bellon-Fontaine, O. Cerf, "Mécanismes d'adhésion des micro-organismes aux surfaces : facteurs influant sur l'adhésion", *Industries agro-alimentaires* 1-2 (1991), p.13-17
- [201] : C.J. Van Oss, M.K. Chaudhury, R.J. Good, « Interfacial Lifshitz-Van der Waals and polar interactions in macroscopic systems », *Chemical Reviews* 88 (1988), p.927-941
- [202] : C.J. Van Oss, R.J. Good, H.J. Busscher, "Estimation of the polar surface tension parameters of glycerol and formamide, for use in contact angle measurements on polar solids", *Journal of Dispersion Science and Technology* 11 (1990), p.75-81
- [203] : P.R. Rutter, B. Vincent, "Physicochemical interactions of the substratum, microorganisms, and the fluid phase", in *Microbial Adhesion and Aggregation*, éd. K.C. Marshall, Life Sciences Research Report 31, Dahlem Konferenzen, Springer-Verlag (1984), p.21-38

- [204] : M. Hélie, "Matériaux métalliques – Phénomènes de corrosion", Cours CEA/IUP Génie des Matériaux, Université d'Evry
- [205] : L. Boulange-Petermann, « Etude physicochimique et électrochimique de l'adhésion de *Leuconostoc mesenteroides* et *Streptococcus thermophilus* à des surfaces d'acier inoxydable », Thèse de l'Université de Nancy 1 (1993)
- [206] : R. Hogg, T.W. Healy, D.W. Fuerstenau, « Mutual coagulation of colloidal dispersions », Trans. Faraday. Soc. 62 (1960), p.1638-1651
- [207] : I. Chevallier, "Influence des interactions acido-basiques sur l'encrassement et la biocontamination de supports métalliques oxydés", Thèse de l'Université de Paris XI Orsay (2002)
- [208] : B.E. Christensen, W.G. Characklis, "Physical and chemical properties of biofilm", in Biofilms, W.G. Characklis et K.C. Marshall, éd. John Wiley, New York (1990)
- [209] : J. Guézennec, « La Biocorrosion : processus caractéristiques et moyens d'études », Matériaux et Techniques spécial Biocorrosion (Décembre 1990)
- [210] : H.H.P. Fang, L-C. Xu, K.Y. Chan, "Effet of toxic metals and chemicals on biofilm and biocorrosion", Water Research 36 Issue 19 (Nov. 2002), p.4709-4716
- [211] : L-S. Johansson, T. Saastamoinen, "Investigating early stages of biocorrosion with XPS : AISI 304 stainless steel exposed to *Burkholderia* species", Applied Surface Science Vol 144-145 (April 1999), p.244-248
- [212] : P. Angell, K. Urbanic, "Sulphate reducing bacterial activity as a parameter to predict localized corrosion of stainless alloys", Corrosion Science 42 (May 2000), p.897-912
- [213] : D.H. Pope, R.J. Soracco, E.W. Wilde, "Studies on biologically induced corrosion in heat exchanger systems at the Savannah River plant, Aiken, SC", Mat. Perf. 21(II) (July 1982), p.43-50
- [214] : G. Englert *et al*, International Biodeterioration and Biodegradation (1996), p.173-180
- [215] : E.A. Abd El Meguid, N.A. Mahmoud, V.K. Gouda, "Pitting corrosion behaviour of AISI 316L steel in chloride containing solutions", British Corrosion Journal Vol.33, n°1 (1998), p.42-48
- [216] : D. Féron, "Contribution à l'étude des phénomènes de biocorrosion des matériaux métalliques", CEA note R-6064, ISSN 0429-3460 (2004)
- [217] : Z. Keresztes *et al*, « Role of redox properties of biofilms in corrosion processes », Electrochimica Acta 46 (2001), p.3841-3849
- [218] : C. Ringas *et al*, Corrosion Engineering 44 (1988)
- [219] : R.L. Starkey, Prod. Monthly 55 (1958), p.12
- [220] : M. Magot, L. Mondeil, J. Ausseur, J. Seureau, Eds., Detection of sulphate-reducing bacteria (1988)
- [221] : M-N. Bellon-Fontaine, J. Rault, C.J. Van Oss, « Microbial adhesion to solvents : a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells », Colloids and Surfaces B : Biointerfaces 7 (1996), p.47-53
- [222] : A. Carre, "Interface solide-liquide, phénomènes d'interface, agents de surface, principes et modes d'action », J. Briant, Editions Technip, Paris (1989)
- [223] : Y. Wouters, Thèse de l'Institut National Polytechnique de Grenoble, Grenoble (1996)
- [224] : S.R. Morrison, "Electrochemistry at semi-conductor and oxidized metal electrodes", Ed. Plenum Press, New York (1980)
- [225] : C.A. Schiller, W. Strunz, "The evaluation of experimental dielectric data of barrier coatings by means of different models", Electrochimica Acta 46 (2001), p.3619-3625
- [226] : N.E. Hakiki, M. da Cunha Belo, Journ. Electrochem. Soc. 143 (1995), p.3088
- [227] : S. Ahn, H.S. Kwon, "Effects of solution temperature on electronic properties of passive film formed on Fe in pH 8.5 borate buffer solution", Electrochimica Acta 49 (2004), p.3347-3353
- [228] : H. Tsuchiya, S. Fujimoto, "Semiconductor properties of passive films formed on sputter-deposited Fe-18Cr alloy thin films with various additive elements", Science and Technology of Advanced Materials 5 (2004), p.195-200
- [229] : M.E. Orazem, N. Pébère, B. Tribollet, "Enhanced graphical representation of impedance data", Journ. Electrochem. Soc. 153 (2006), p.129-136
- [230] : V. M-W. Huang, V. Vivier, M. Orazem, N. Pébère, B. Tribollet, "The apparent constant-phase element behavior of an ideally polarized blocking electrode", Journal of the Electrochem. Soc. 154, n°2 (2007)
- [231] : V. Vivier, « Mesures électrochimiques locales : quels apports pour la compréhension des processus de corrosion localisée ? », Conférence, Ecole CNRS thématique « Biocorrosion », Obernai (2006)
- [232] : V.G. Levich, "Physicochemical Hydrodynamics", Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs (1962)
- [233] : S. Frangini, "Determination of characteristic pitting potentials on stainless steels by galvanostatic method", Eurocorr'99 (1999), p.1-9
- [234] : S. Frangini, N. de Cristofaro, "Analysis of the galvanostatic polarization method for determining reliable pitting potentials on stainless steels in crevice-free conditions", Corrosion Science 45 (2003), p.2769-2786
- [235] : S. Frangini, "Galvanostatic polarization measurements of pitting resistance of AISI 430 stainless steel", Eurocorr' 2001, Riva del Garda, Italie (2001)

- [236] : T. Shibata, O. Yamazaki, S. Fujimoto, "The effect of F- in HNO₃ passivation treatment on improving the pitting resistance of type 304 stainless steels", *Corrosion Engineering* 48 (1999), p.63
- [237] : M.A. Barbosa, "The pitting resistance of AISI 316 stainless steel passivated in diluted nitric acid", *Corrosion science* 23, n°12 (1983), p.1293
- [238] : T. Hong, T. Ogushi, M. Nagumo, "The effect of chromium enrichment in the film formed by surface treatments on the corrosion resistance of type 430 stainless steel", *Corrosion Science* 38, n°6 (1996), p.881
- [239] : J-B. Jorcin, M.E. Orazem, N. Pébère, B. Tribollet, "CPE analysis by local electrochemical impedance spectroscopy", *Electrochimica Acta* 51 (2006), p.1473-1479
- [240] : V. M-W. Huang, V. Vivier, M. Orazem, N. Pébère, B. Tribollet, "The global and local impedance response of a blocking disk electrode with local constant phase element behavior", *Journ. of the Electrochem. Soc.* 154, n°2 (2007)
- [241] : J.S. Newman, *Journ. Electrochem. Soc.* 113 (1966), p.1235
- [242] : P.G. Rouxhet, « Interactions microorganismes-matériaux : un monde pour la chimie à résolution spatiale », Cours de l'Ecole thématique CNRS Biodétérioration des matériaux, Obernai (8-13 Octobre 2006)
- [243] : S.L. Percival, R.G.J. Edyvean, I.B. Beech, H.A. Videla, "Corrosion of stainless steels in potable water systems", *Eurocorr' 2000, Londres* (2000), p. 1-6
- [244] : I.B. Beech, C.C. Gaylarde, "Attachment of *Pseudomonas fluorescens* and *Desulfovibrio* to mild steel and stainless steel – First step in biofilm formation", *Proceedings of the 2nd European Federation of Corrosion*, éditeurs : A.C. Sequeira, A.K. Tiller, Portugal 1991, EFC Publication n°8, the Institute of Materials (1992), p. 61-66
- [245] : I.B. Beech, C.W.S. Cheung, "Interactions of exopolymers produced by sulphate-reducing bacteria with metal ions", *International Biodeterioration and Biodegradation* 35 (1995), p. 59-75
- [246] : G. Chen, T.E. Ford, C.R. Clayton, "Interaction of sulphate-reducing bacteria with molybdenum dissolved from sputter-deposited molybdenum thin films and pure molybdenum powder", *Journal of Colloid and Interface Science* 204 (1998), p. 237-246
- [247] : S.L. Percival, I.B. Beech, R.G.J. Edyvean, J.S. Knapp, D.S. Wales, "Biofilm development on 304 and 316 stainless steels in a potable water system", *Institution of Water and Environmental Management* 11, n°4 (1997), p. 289-294
- [248] : S.L. Percival, J.S. Knapp, D.S. Wales, R.G.J. Edyvean, "Biofilm development on stainless steel in mains water", *Water Research* (1998)
- [249] : S.L. Percival, J.S. Knapp, D.S. Wales, R.G.J. Edyvean, "Biofilms, stainless steel and mains water", *Water Research* (1998)
- [250] : V. Ferrante, "Rôle des microorganismes et de la teneur en chrome dans la corrosion d'aciers fer-chrome en présence de bactéries sulfato-réductrices", Thèse de l'Université de Technologie de Compiègne (1991)
- [251] : E. Dajoux-Malard, « Corrosion des aciers faiblement alliés en eau de mer naturelle – Influence des éléments d'alliage et des bactéries », Thèse de l'Université de Caen/Basse Normandie (2006)
- [252] : Y. Wouters, G. Bamba, A. Galerie, M. Mermoux and J.P. Petit, "Oxygen and water vapor oxidation of 15Cr ferritic stainless steels with different silicon contents", *Materials Science Forum*, 461-464 (2004), p.839-848
- [253] : J.-P. Petit, M. Mermoux, Y. Wouters, A. Galerie and C. Chemarin "Study of the thermal oxidation of Fe-15 Cr by combined Raman and Photoelectrochemical imaging", *Mat. Sci. Forum.* 461-464 (2004) p.681-688
- [254] : L. Marchetti, S. Perrin, « Corrosion des alliages Ni-Fe-Cr dans l'eau à température et pression élevées », rapport en cours CEA Saclay, RT DCP/SCCME 06-714-A (Février 2006)
- [255] : T. Itoh, K. Yaegashi, T. Kosaka, H. Fukushima, "Diffusion coefficient of oxygen in viscous solution as a function of water content and temperature", *Biorheology* 33, n°1 (Janvier 1996), p.80
- [256] : D. Landolt, "Corrosion et chimie de surface des métaux", *Traité des Matériaux* n°12, chapitre 6, éd : Presses polytechniques et universitaires romandes, ISBN 2-88074-245-5 (version 1993), p.207
- [257] : B. Mac Dougall, M.J. Graham, "Growth and stability of passive films", in "Corrosion Mechanisms in Theory and Practice, second edition", éd. P. Marcus, ISBN 0-8247-0666-8 (2002), p.209
- [258] : C.R. Clayton, I. Olefjord, "Passivity of austenitic stainless steels", in "Corrosion Mechanisms in Theory and Practice, second edition", éd. P. Marcus, ISBN 0-8247-0666-8 (2002), p.217
- [259] : R.S. Pembrey, K.C. Marshall, R.P. Schneider, « Cell surface analysis techniques : what do cell preparation protocols do to cell surface properties ? », *App. Env. Microbiol.* 65, n°7 (1999), p.2877-2894
- [260] : P. Garry, « Propriétés physico-chimiques de surfaces en polyuréthane et conséquences sur l'encrassement et l'adhésion de *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus* », Thèse de l'Université de Lyon I - Claude Bernard (1997), p.124
- [261] : J. Peng, W. Tsai, C. Chou, « Surface characteristics of *Bacillus cereus* and its adhesion to stainless steel », *International Journal of Food Microbiology* 65 (2001), p.105-111
- [262] : C. Rubio, « Compréhension des mécanismes d'adhésion des biofilms en milieu marin en vue de la conception de nouveaux moyens de prévention », Thèse de l'Université Paris 6 (2002)

- [263] : S. Palanichamy, S. Maruthamuthu, S.T. Manickam, A. Rajendran, "Microfouling of manganese-oxidizing bacteria in Tuticorin harbour waters", *Current Science* 82, N°7 (2002), p.865-869
- [264] : P.W. Baker, K. Ito, K. Watanabe, "Marine prosthecate bacteria involved in the ennoblement of stainless steel", *Environmental Microbiology* 5 (Octobre 2003), p.925
- [265] : G. Galès, M. Roy, M-F. Libert, R. Sellier, L. Cournac, T. Heulin, D. Féron, « Action of an aerobic hydrogenotroph bacteria isolated from ultrapure water systems on AISI 304 stainless steel », *Proceedings d'Eurocorr' 2004*, Nice, France (Septembre 2004)
- [266] : C. Marconnet, C. Dagbert, M. Roy, D. Féron, « Comportement d'aciers inoxydables en eaux naturelles », *Matériaux et Techniques* 93 (2005), p.83-90
- [267] : C. Marconnet, C. Dagbert, M. Roy, D. Féron, « Microbially-influenced corrosion of stainless steels in waters with low chloride concentrations », *Proceedings d'Eurocorr' 2005*, Lisbonne (Septembre 2005)
- [268] : C. Marconnet, C. Dagbert, M. Roy, D. Féron, « Microbially-influenced corrosion of stainless steels in the Seine river », *Proceedings d'Eurocorr' 2006*, Maastricht (Septembre 2006)

Annexes

- [269] : M. Pourbaix, *Atlas d'équilibres électrochimiques*, éd. Gautier-Villars, Paris (1963)
- [270] : L. Barnier et al, "Influence des éléments d'alliage sur la résistance des aciers inoxydables à la corrosion en eau de mer", *Matériaux et Techniques* (Octobre-Novembre 1980)
- [271] : T.P. Hoar, D.C. Mears, G.P. Rothwell, « On the kinetics of the breakdown of passivity of preanodized aluminium by chloride ions », *Corrosion Science* 5 (1965), p.279
- [272] : E. McCafferty, "Critical factors in localized corrosion III", *Electrochem. Soc. Proc.* 98-17, p.42
- [273] : T.P. Hoar, W.E. Jacob, *Nature* 216 (1967), p.1209
- [274] : T.P. Hoar, "The breakdown and repair of oxide films on iron", *Trans. Faraday Society* (1949)
- [275] : P.C. Pistorius, G.T. Burstein, "Growth of corrosion pits on stainless steel in chloride solution containing dilute sulphate", *Corrosion Science* 33 (1992), p.1885
- [276] : N. Sato, "A theory for breakdown of anodic oxide films on metals", *Electrochimica Acta* 16 (1971), p.1683
- [277] : Z.A. Foroulis, M.J. Thubrikar, "On the kinetics of the breakdown of passivity of preanodized aluminum by chloride ions", *Journ. Electrochem. Soc.* 122 (1975), p.1296-1301
- [278] : S. Dallek, R.T. Foley, "Mechanism of pit initiation on aluminum alloy type 7075", *Journ. Electrochem. Soc.* 123 (1976), p.1775
- [279] : H.H. Strehblow, in "Corrosion Mechanism in Theory and Practice", éd. P. Marcus et J. Oudar, Marcel Dekker, New York (1995), p.201
- [280] : M. Durand-Charre, « La microstructure des aciers et des fontes », chapitre 4 "Les diagrammes de phases", éd. EDP Sciences, ISBN 2-906 643 -27-0 (2005), p.47-67
- [281] : « Dossier technique : aciers inoxydables », Lettre de l'agence Rhône-Alpes pour la maîtrise des Matériaux, n°4 (Octobre-Décembre 2002)
- [282] : C. Kittel, "Introduction to solid state physics", éd. J. Wiley, New York (1967)
- [283] : S.H. Lee, S.S. Lee, C.W. Kim, "Changes in the cell size of *Brevundimonas diminuta* using different growth agitation rates", *J. Pharm. Sci. Technol.* 56, n°2 (Mars-Avril 2002), p.99-108
- [284] : M.K. Nishiguchi, "Temperature affects species distribution in symbiotic populations of *Vibrio* spp.", *Applied and Environmental Microbiology* 66, n°8 (Août 2000), p.3550-3555
- [285] : J.P. Euzéby, "Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire", <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico>
- [286] : P.N. Sado, « « Glowing » seafood ? », rapport de l'U.S. Food and Drug Administration, Seafood Products Research Center (Juillet 1998)
- [287] : E.G. Ruby, E.P. Greenberg, J.W. Hastings, « Planktonic marine luminous bacteria : species distribution in the water column », *Applied and Environmental Microbiology* 39, n°2 (Février 1980), p.302-306
- [288] : P.M. Fidopiastis, S.von Boletzky, E.G. Ruby, « A new niche for *Vibrio logei*, the predominant light organ symbiont of squids in the genus *Sepiolo* », *J. Bacteriol.* 180, n°1 (1998), p.59-64
- [289] : C. Perrin Blin, « Etude comparative du catabolisme de l'acide ricinoléique chez les levures du genre *Sporidiobolus* : mise en évidence et caractérisation du système bêta-oxydant impliqué », Thèse de l'Université de Bourgogne (2002)
- [290] : W.W. Gärtner, « Depletion layer photoeffects in semiconductor », *Phys. Rev.* 116 (1959), p.84-87
- [291] : M.A. Butler, "Photoelectrolysis and physical properties of the semiconducting electrode WO_3 ", *J. Appl. Phys.* 48, n°5 (1977), p.1914-1920

RESUME

Si l'augmentation du potentiel de corrosion libre des aciers inoxydables est avérée en eau de mer naturelle, l'aspect systématique de ce phénomène n'a pas encore été démontré en eau de rivière naturelle. Cette évolution du comportement électrochimique est due à la colonisation de la surface par des microorganismes induisant des modifications des processus cathodiques. Deux mécanismes enzymatiques différents sont proposés dans la littérature, l'un développé en eau de mer et fondé sur la production enzymatique de peroxyde d'hydrogène et d'acidité au sein du biofilm, et l'autre développé en eau de rivière et basé sur la déposition d'oxydes de manganèse à la surface du matériau. L'objectif de ce travail a été de confirmer le caractère systématique de l'augmentation du potentiel de corrosion libre et de mettre en évidence le (ou les) mécanisme(s) à l'origine de cette évolution, ainsi que de déterminer l'influence de l'adhésion du biofilm. Pour cela, des mesures électrochimiques, ainsi que des observations et des analyses de surface, ont été réalisées à la fois *in situ* au cours d'expériences dans la Seine à l'aide d'un dispositif original d'immersion, et en laboratoire lors d'expériences d'adhésion sur acier inoxydable à l'aide de souches microbiennes sauvages provenant de prélèvements de flore sessile dans la Seine.

Les résultats expérimentaux prouvent que les deux mécanismes évoqués dans la littérature peuvent avoir lieu dans un même cours d'eau et mener à des évolutions du comportement électrochimique comparables. Le modèle de production de peroxyde d'hydrogène par la glucose-oxydase, générant un milieu oxydant et acide, a été adapté au cas de l'eau de rivière artificielle. Il permet de reproduire les variations du potentiel de corrosion libre et des réactions cathodiques mais peut différer de l'eau de rivière naturelle du point de vue de la composition chimique et de la structure électronique du film passif. Enfin, l'étude des phénomènes de bioadhésion a montré la difficulté d'obtenir en laboratoire un biofilm électrochimiquement actif.

Mots-clés : aciers inoxydables, corrosion microbienne, eau de rivière, enzymes, peroxyde d'hydrogène, bioadhésion

Abstract

While it is true that the Open Circuit Potential (OCP) of stainless steels increases in natural seawater, the systematic aspect of this phenomenon has not yet been demonstrated in natural freshwater. This evolution of the electrochemical behaviour is due to the colonization of the surface by microorganisms leading to modifications of the cathodic processes.

Two different enzymatic mechanisms are offered in literature : one developed in seawater and based on the enzymatic production of hydrogen peroxide and acidity within the biofilm, and the other one developed in river water and based on the deposition of manganese oxides at the surface of the material. The aim of this work was to confirm the systematic character of the increase of the OCP and to highlight the mechanism(s) responsible for this evolution, as well as to determine the influence of the adhesion of the biofilm. To achieve this, electrochemical measurements and analysis/observations of the surface were realized, both *in situ*, during experiments in the Seine river using an original technique of immersion, and in laboratory during adhesion experiments of wild microbial strains, coming from samples of sessile of the natural freshwater, on stainless steels.

The results of the experiments show that the two mechanisms mentioned in the literature can happen in the same water and can lead to parallel evolutions of the electrochemical behaviour. The model of production of hydrogen peroxide by glucose oxidase, creating an oxidizing and acid environment, has been adapted to the case of artificial freshwater. It enables to recreate the variations of the OCP and of the cathodic reactions but can differ from natural freshwater as to the chemical composition and electronic structure of the passive film. Finally, the study of the bioadhesive phenomena has shown how difficult it is to obtain an electrochemically- active biofilm in laboratory.

Key words : stainless steels, microbially-induced corrosion, freshwater, enzymes, hydrogen peroxide, bioadhesion