



université
des Antilles et de la Guyane



Université des Antilles et de la Guyane

Institut d'Enseignement Supérieur de la Guyane

École doctorale pluridisciplinaire :
Santé, Environnement et Sociétés dans les Amériques

Thèse

présentée par : **Joseline NTIENOUE**

pour obtenir le titre de : Docteur en Chimie

Étude, caractérisation et suivi électrochimique de la surface de l'acier inoxydable 254 SMO en milieux aqueux naturels amazoniens

Soutenue le 08 mars 2013 à Cayenne

N : [2013AGUY0598]

Jury :

Laurence ROMANA, Professeur des Universités, Groupe de Technologie des surfaces et Interfaces, Université des Antilles et de la Guyane, **Examinatrice**

Philippe REFAIT, Professeur des Universités, Laboratoire d'études des matériaux en milieux agressifs, Université de La Rochelle, **Rapporteur**

Emmanuel ROCCA, Maître de conférences HDR, Laboratoire surface et interface, réactivité chimique des matériaux, Institut Jean Lamour, Nancy-Université, **Rapporteur**

Christophe ROOS, Maître de conférences HDR, Laboratoire matériaux et molécules en milieu amazonien, Université des Antilles et de la Guyane, **Directeur de thèse**

Université des Antilles et de la Guyane

Institut d'Enseignement Supérieur de la Guyane

**École doctorale pluridisciplinaire :
Santé, Environnement et Sociétés dans les Amériques**

Thèse

présentée par : **Joseline NTIENOUE**

pour obtenir le titre de : Docteur en Chimie

**Étude, caractérisation et suivi électrochimique de la
surface de l'acier inoxydable 254 SMO en milieux
aqueux naturels amazoniens**

Soutenue le 08 mars 2013 à Cayenne

N : [2013AGUY0598]

Jury :

Laurence ROMANA, Professeur des Universités, Groupe de Technologie des surfaces et Interfaces, Université des Antilles et de la Guyane, **Examinatrice**

Philippe REFAIT, Professeur des Universités, Laboratoire d'études des matériaux en milieux agressifs, Université de La Rochelle, **Rapporteur**

Emmanuel ROCCA, Maître de conférences HDR, Laboratoire surface et interface, réactivité chimique des matériaux, Institut Jean Lamour, Nancy-Université, **Rapporteur**

Christophe ROOS, Maître de conférences HDR, Laboratoire matériaux et molécules en milieu amazonien, Université des Antilles et de la Guyane, **Directeur de thèse**

A ma famille

Cette thèse a bénéficié du soutien de l'Europe grâce à un financement du Fond Social Européen et au projet PO-FEDER (Fond européen de développement régional, No. 30931 "Metalsurf").

Remerciements

Le présent travail a été effectué au sein du Laboratoire Matériaux et Molécules en Milieu Amazonien (L3MA) grâce au soutien financier de l'Université des Antilles et de la Guyane (UAG), du Fond Social Européen (FSE) et du Fond Européen de Développement Régional (FEDER)

Je remercie Christophe Roos pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire. Merci d'avoir eu la patience nécessaire afin de m'amener à finaliser ce travail qui m'a semblé trop souvent insurmontable.

Je remercie Philippe Refait et Emmanuel Rocca qui ont accepté d'évaluer mon travail de thèse et d'en être les rapporteurs. Merci également à Laurence Romana, qui a accepté de participer à l'examen de mon travail.

Cette thèse a été pour moi une aventure très enrichissante tant au niveau scientifique que sur le plan culturel et humain. Je tiens plus particulièrement à remercier le campus agronomique de Kourou et IRD de Guyane pour nos fructueuses collaborations.

Je remercie également tous les membres du Laboratoire Matériaux et Molécules en Milieu Amazonien pour avoir assuré une ambiance de travail particulièrement agréable. Je tiens à remercier Mounim Lebrini pour m'avoir incité à venir effectuer cette thèse en Guyane Française, Florent Robert pour ses critiques permanentes qui m'ont permis d'avancer dans mon travail.

J'adresse aussi des vifs remerciements à Max Sarrazin et André Litampha pour leur aide dans l'analyse physico-chimique des différentes eaux de mer utilisées, Alan Reguer pour sa disponibilité et pour son travail en microscopie électronique à balayage, Mathieu De Rivoyre pour son travail sur l'identification des micro-organismes, Pierre Alain Blandinière pour son aide technique ainsi qu'Alice Ambouille pour son aide administrative.

Merci à Israël Mbomekalle et Nadine Amusant qui n'ont pas ménagé leur temps pour la relecture de mon mémoire et les conseils.

Je salue tout particulièrement, Raphaëlle Rinaldo, Jean Michel Martin, Paule Salvin, Milcard Faustin, pour m'avoir supportée et avec lesquels j'ai partagé des moments intenses. Ce fut un vrai plaisir d'être avec vous. Je ne saurais oublier Lakhdar Sali, Fabienne Suedile et les nouveaux doctorants, je vous souhaite à tous de faire une belle thèse.

Les retours en famille sont, à chaque fois, un réel enchantement... merci à ma famille de Paris : Bertrand, Colette, Karel, Danibel, Kate, Guy Emmanuel ; du Cameroun : papa, tonton Jonas, maman Rebecca, tata Rosalie, tonton Moise, Guillaume, Vivien, Doriane, Faustine, Fabrice, Rosine,à tous pour votre présence lorsque j'en ai eu besoin. Merci à mes amis qui n'ont jamais cessé de m'encourager à aller de l'avant.

Enfin, et bien sûr...

Sans toi Dieu, je n'aurais pu vivre cette grande expérience.

Résumé

Les aciers inoxydables à haute teneur en molybdène présentent une excellente résistance à la corrosion et ont été récemment utilisés dans des applications marines. L'acier inoxydable de type 254 SMO contient du molybdène (6% Mo) et des quantités plus élevées en éléments d'alliages que les aciers inoxydables plus classiques tels que 304, 316 et 316L. Alors que Anees Uddin Malik et al. montrent que l'acier 254 SMO est moins sensible à la corrosion par piquûre en eau de mer du golfe persique, Abdulsalam et al. démontrent que bien que cet acier présente une bonne résistance à la corrosion, il reste encore sensible à une corrosion caverneuse (surtout en milieu à 16% en masse d'ion chlorure ou à plus de 30°C).

La première partie de ce travail traite du comportement électrochimique de l'acier inoxydable 254 SMO immergé dans l'eau de mer naturelle en laboratoire. Ainsi deux sites de la Guyane ont été choisis pour effectuer des prélèvements d'eau. Des analyses physicochimiques de ces eaux sont réalisées et montrent que l'eau du site du Port Larivot contient une quantité en ions chlorures plus importante que celle de l'eau du site du Mahury. Une colonisation par des bactéries et crustacés (balanes) a été mise en évidence, à l'aide du microscope électronique à balayage environnemental. Les mesures électrochimiques, notamment la voltammétrie cyclique a montré l'existence d'une zone de passivation et l'augmentation du courant de passivation par un facteur de 10 en présence d'un biofilm pour l'acier inoxydable immergé en eau du Mahury durant 22 jours.

La deuxième partie propose une étude approfondie du comportement de l'interface complexe métal/couche passive/biofilm. Trois différents coupons d'aciers inoxydables (brut, poli et grenaillé) ont été déposés sur site (*in-situ*) dans un premier temps. Dans une seconde étape, nous avons réalisé des expérimentations mixtes (incubation *in-situ* et croissance en laboratoire). L'évolution du potentiel d'abandon de ces aciers est très proche pour l'acier brut et l'acier poli. En revanche, celui de l'acier grenaillé, de par la présence des grains d'alumine à sa surface, affiche un comportement différent. Une étude comparative des deux expérimentations montre des différences concernant les paramètres électriques de l'interface complexe métal/couche passive/biofilm.

Abstract

Stainless steels with high content in molybdenum present an excellent corrosion resistance and were recently used in marine applications. The stainless steel 254 SMO contains molybdenum (6 %) and higher amounts of alloying elements than conventional stainless steels such as 304, 316 and 316L. While Anees Uddin Malik et al. show that 254 SMO steel is less likely to be susceptible to pitting corrosion in Arabian Gulf sea water, Abdulsalam et al. demonstrate that although this steel has good resistance to corrosion, it remains still susceptible to crevice corrosion (especially in environment with 16 chloride percent weight or more than 30 ° C).

The first part of this work deals with the electrochemical behaviour of stainless steel 254 SMO immersed in natural seawater at laboratory. Two sites in French Guyane were chosen to take samples of seawater. Physicochemical analyses of these waters are made and show that the in Port Larivot site seawater contains a higher quantity of chloride ion than to Mahury seawater. Colonization by bacteria and crustaceans (barnacles) was highlighted, using the environmental scanning electron microscope. The electrochemical measurements, including cyclic voltammetry showed the existence of a passivation region and increasing the passivation current by a factor of 10 in the presence of biofilm on stainless steel immersed in Mahury seawater during 22 days.

The second part offers a detailed study of the behaviour of the interface metal/passive film/biofilm. Three different coupons of stainless steel (crude, polished and blasted) were deposited on the site (*in-situ*) in the first time. In a second step, we performed experiments mixed (*in-situ* incubation and growth in the laboratory). The evolution of the free potential of these steels is very close for crude steel and polished steel. Conversely, the blasted steel, by the presence of alumina grains on its surface, shows a different behaviour. A comparative study of those two experiments shows differences in the electrical parameters of the interface metal/passive film/biofilm.

Sommaire

Remerciements.....	i
Résumé.....	iii
Abstract	iv
Sommaire.....	1
Introduction	5
Chapitre I : Synthèse bibliographique	10
I.1 Biofilm en environnement marin	11
I.1.1 Biofilms	11
I.1.2 Colonisation des surfaces	13
I.1.3 Microorganismes impliqués dans la corrosion marine des aciers	15
I.2 L'acier inoxydable.....	24
I.2.1 Généralités et principales catégories	24
I.2.2 Corrosion et passivité des aciers inoxydables	26
I.2.3 Caractéristiques du film passif	29
I.2.4 Évolution des processus de réduction du dioxygène O ₂ sur des aciers inoxydables en fonction du vieillissement en eau de mer.....	31
I.3 Application de la physico-chimie des surfaces pour appréhender l'adhésion des microorganismes	33
Chapitre II : Matériels et méthodes	44
II.1 Eaux de mer	45
II.1.1 Eaux de mer naturelle.....	45
II.1.2 Eau de mer artificielle	47
II.2 Dispositifs expérimentaux.....	48
II.2.1 Montage dynamique	48
II.2.2 Montage statique	49

II.3	Matériaux	50
II.3.1	Échantillons de laboratoire	50
II.3.2	Échantillons pour les mesures <i>in situ</i>	51
II.4	Techniques électrochimiques	52
II.4.1	Mesure du potentiel d'abandon	52
II.4.2	Spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE)	52
II.4.3	Méthode voltampérométrique	58
II.5	Technique d'observation et de caractérisation du biofilm	59
II.5.1	La microscopie à épifluorescence	59
II.5.2	La microscopie électronique à balayage environnemental (MEBE)	60
II.6	Technique de la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)	63
Chapitre III : Etude du comportement électrochimique de l'acier inoxy-		
dable immergé dans l'eau de mer naturelle en laboratoire		66
III.1	Etude préliminaire	67
III.1.1	Influence du milieu d'immersion	69
III.1.2	Influence des saisons	71
III.1.3	Influence de la lumière	73
III.1.4	Influence de la date de prélèvement en fonction de la marée	75
III.1.5	Influence du montage expérimental et du volume	76
III.1.6	Influence de la composition chimique du milieu	78
III.1.7	Remarques d'ordre général sur l'étude préliminaire	79
III.2	Caractérisation électrochimique de l'interface hétérogène solide/bio-	
film/liquide		80
III.2.1	Expériences de longues durées	80
III.2.2	Influence de l'agitation et de l'ajout du biofilm gratté sur le ponton	85
III.2.3	Identification des espèces bactériennes des biofilms	98
III.2.4	Remarques d'ordre général sur la caractérisation électrochimique	100
Chapitre IV : Etude du comportement électrochimique de l'acier inoxy-		

dable immergé dans l'eau de mer naturelle sur le terrain ("<i>in situ</i>").	101
IV.1 Etude préliminaire	102
IV.1.1 Suivi du potentiel d'abandon	102
IV.1.2 Impédance électrochimique	104
IV.1.3 Observation au microscope électronique à balayage	105
IV.2 Caractérisation électrochimique de l'interface hétérogène : influence de la surface (état et composition) de la phase solide.	106
IV.2.1 Suivi du potentiel d'abandon	106
IV.2.2 Impédance électrochimique	108
IV.2.3 Observation au microscope électronique à balayage et au microscope à épifluorescence	113
IV.3 Effet d'une semaine d'incubation <i>in-situ</i> sur le comportement des aciers <i>ex-situ</i>	115
IV.3.1 Suivi du potentiel d'abandon	115
IV.3.2 Impédance électrochimique	116
IV.4 Etude comparative des milieux	119
IV.4.1 Suivi du potentiel d'abandon	119
IV.4.2 Impédance électrochimique	120
Conclusions et perspectives	124
Annexes	128
Références	133
Table des figures	151
Liste des tableaux	156

Introduction

Les mers et les océans recouvrent les deux-tiers de la surface du globe terrestre. L'eau de mer contient de nombreux sels minéraux, des gaz dissous, notamment le dioxygène O_2 , des bactéries et d'autres organismes unis ou pluri-cellulaires, des matières en suspension et des sédiments qui parfois lui confèrent une grande turbidité. Les principaux ions dissous pour une eau de mer sont l'ion chlorure (Cl^-), l'ion sodium (Na^+), l'ion sulfate (SO_4^{2-}), l'ion magnésium (Mg^{2+}), l'ion calcium (Ca^{2+}), l'ion potassium (K^+), l'ion bicarbonate (HCO_3^-), l'ion bromure (Br^-), l'ion borate ($H_2BO_3^-$), l'ion carbonate (CO_3^{2-}) et l'ion fluorure (F^-). Les ions sulfates (2,71g/L) arrivent, par ordre d'importance, après les ions Cl^- (19,35g/L) et Na^+ (10,78g/L) dans l'océan pacifique [1]. Les spécificités chimiques et biologiques de l'eau de mer en font un milieu particulièrement agressif vis à vis de nombreux matériaux et notamment des aciers inoxydables.

Les interactions physico-chimiques entre un matériau métallique et son environnement peuvent entraîner la corrosion du matériau. La corrosion électrochimique est une réaction chimique impliquant le transfert d'électron(s) d'un métal à un accepteur d'électron externe, ce qui entraîne la libération des ions métalliques dans le milieu environnant et conduit à la dissolution du métal. Ce processus passe par une série de réactions d'oxydations et de réductions des espèces chimiques.

La détérioration du métal due à l'activité microbienne est appelée biocorrosion ou encore corrosion induite par les microorganismes (MIC). En raison de son importance économique et environnementale, la MIC a fait l'objet d'études approfondies ces cinq dernières décennies et plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer les mécanismes de biocorrosion observés [2-4].

De nombreux secteurs sont concernés par ces phénomènes de corrosion induite par les micro-organismes. On peut citer pour exemples : l'industrie pétrolière affectée au niveau des puits d'extraction, des oléoducs, des plates-formes en mer [5,6], les installations portuaires maritimes et fluviales : palplanches, portes d'écluses [7,8], les centrales nucléaires (échangeurs, circuits de refroidissement, circuits incendies,...) [9-11], toutes les installations, en général, qui utilisent les eaux naturelles (systèmes de climatisations,...). On peut aussi citer, les ossatures métalliques des ouvrages d'art : ponts, pontons, passerelles, l'industrie

navale, la pêche, mais aussi, la géothermie [12,13], l'aérospatial (corrosion microbienne dans des réservoirs de kérosène), l'industrie nucléaire pour le stockage des déchets que ce soit en surface ou en site profond, l'industrie agroalimentaire et le secteur médical [14].

Les aciers sont largement utilisés dans la fabrication des infrastructures portuaires en milieu marin. Ces structures sont exposées à deux types de corrosion : la corrosion généralisée (ou uniforme) et la corrosion localisée (caverneuse ou par piqûre). Le plus généralement, les aciers subissent une corrosion généralisée. La cinétique de cette corrosion homogène est relativement connue, ce qui permet le dimensionnement des structures portuaires. Mais des cas de corrosion localisée accélérée conduisant à des dégradations catastrophiques ont déjà été observés. Ils sont souvent associés au développement de micro-organismes particuliers, les bactéries sulfato-réductrices, dont le métabolisme conduit à une réduction des ions sulfates (SO_4^{2-}) de l'eau de mer en ions sulfures (S^{2-}).

Dans les milieux aérobies, la réaction cathodique est la réduction de l'oxygène, tandis que dans les milieux anaérobies elle consiste, généralement, en la réduction du proton. Le taux de la réaction anodique (dissolution du métal) diminue progressivement avec le temps, lorsque des produits de corrosion se forment et adhèrent à la surface formant une couche protectrice qui peut agir comme une barrière de diffusion aux réactifs présents dans le milieu. La stabilité de ces couches dépend de leur composition chimique, de leur morphologie (microstructure), de leurs propriétés électroniques (conductivité,..) et elle détermine la susceptibilité globale du métal à la corrosion [15,16].

La communauté biologique microscopique plus ou moins complexe, souvent symbiotique, de micro-organismes (bactéries, champignons, algues ou protozoaires), adhérant entre eux et à une surface, et marquée par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice, se nomme biofilm. Il se forme généralement dans l'eau ou en milieu aqueux [17]. L'activité microbienne dans les biofilms formés sur les surfaces des matériaux métalliques peut également affecter la cinétique des réactions cathodique et/ou anodique [18], par exemple en modifiant considérablement la chimie des couches de protection et les propriétés physiques qui en découlent. Ceci peut conduire à une accélération ou à une inhibition de la corrosion [19,20].

Les bactéries sont considérées comme des colonisateurs primaires des surfaces inanimées dans des environnements à la fois naturels et artificiels. Par conséquent, la majorité des études en biocorrosion s'est intéressée à l'impact de la culture pure ou en mélange de biofilms bactériens sur le comportement de corrosion du fer, du cuivre, de l'aluminium et leurs alliages. Les principaux types de bactéries adhérant aux métaux dans les habitats terrestres et aquatiques sont les bactéries sulfato-réductrices, les bactéries sulfo-oxydantes, les bactéries ferro-oxydantes/réductrices, les bactéries mangano-oxydantes, les bactéries sécrétant des acides organiques et les algues [21]. Ces organismes coexistent généralement dans les biofilms naturels pour former des consortiums complexes sur les surfaces métalliques corrodées ou non [22-24]. L'ensemble des mécanismes de réduction biotique/abiotique des oxydes de manganèse et leur importance pour la biocorrosion ont été largement décrits dans la littérature liée à la corrosion induite par les micro-organismes [25-28].

De nombreuses études sur le comportement électrochimique de l'acier inoxydable immergé dans différentes eaux de mer ont été réalisées [29-33], mais aucune étude n'a été menée dans les eaux de la Guyane française. Les paramètres du climat équatorial humide (forte humidité, températures élevées et constantes de l'air et dans l'eau, forte insolation, ...) que l'on rencontre en Guyane favorisent la croissance de biofilms sur tout type de substrats et notamment les substrats métalliques. Le métal utilisé au cours de ce travail de recherche est l'acier inoxydable 254 SMO.

Il existe plusieurs types de corrosion (corrosion généralisée, corrosion par piquûre, corrosion caverneuse, corrosion microbienne, corrosion sous contrainte et corrosion intergranulaire). Plusieurs chercheurs ont démontré que certains aciers inoxydables sont sujets à une corrosion induite par les microorganismes [34-37]. L'action synergique des éléments d'alliages de l'acier inoxydable 254 SMO, lui conférant une résistance à la corrosion "chimique" [38], devrait permettre de s'affranchir de ce phénomène et, de ce fait, permettre l'étude, la caractérisation et le suivi électrochimique de la surface de l'acier soumis à l'action (attaque, protection, indifférence) du milieu biologique.

L'objectif de ce travail de thèse est d'étudier le comportement électrochimique de l'acier inoxydable 254 SMO dans un environnement naturel aqueux amazonien. Pour ce faire, nous avons tout d'abord étudié plusieurs sites de prélèvement afin de déterminer les milieux

susceptibles de modifier le comportement électrochimique de notre acier inoxydable 254 SMO. Les variables physico-chimiques, des deux milieux aqueux sélectionnés (le site du Mahury et le site du Larivot) ont été analysées.

Le chapitre I de ce mémoire est une synthèse bibliographique présentant l'état de l'art dans les domaines de la biocorrosion (notamment celle des aciers inoxydables) ou plus généralement du "biofouling" ou biosalissures et le positionnement de l'étude.

Le chapitre II détaille les matériels et méthodes ; il décrit les conditions expérimentales utilisées.

Les chapitres III et IV présentent les résultats obtenus, en laboratoire et sur le terrain respectivement lors :

- Du suivi électrochimique de la surface de l'acier par des techniques telles que : l'évolution du potentiel d'abandon, la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE), la polarisation linéaire et la voltamétrie cyclique (VC).
- De la caractérisation de la structure des biofilms par la microscopie électronique à balayage environnemental (MEBE) et de l'étude des modifications de composition de surface par analyse EDS.
- De l'identification des microorganismes présents dans le biofilm par électrophorèse sur gel à gradient dénaturant, ou DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis).

L'ensemble de ces résultats nous donne un aperçu général de l'évolution du système acier inoxydable/couche de passivation/microorganismes. Les principaux résultats et les perspectives qu'ils ouvrent sont développés à la fin du manuscrit.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1 Biofilm en environnement marin

I.1.1 Biofilms

Les biofilms sont le résultat du développement de microorganismes sur toutes les surfaces exposées à des environnements humides non stériles. Un biofilm est constitué de différents microorganismes (vivants et morts) adhérents sur ces surfaces immergées, et englués dans une matrice protectrice composée essentiellement de protéines, de polysaccharides et de sels. Les films ainsi formés atteignent une épaisseur de quelques micromètres à quelques millimètres [39,40].

Dans l'environnement marin, de nombreux organismes présentent un mode de vie sessile. Des animaux ou algues s'accrochent sur un substrat inerte ou vivant lors d'une phase précise de leur cycle de vie. Ce mode de vie particulier implique la présence et la recherche d'un support stable et favorable pour assurer à ces organismes leur survie et leur reproduction. Une fois fixés, ils pourront difficilement se déplacer. Le choix de cet espace est donc crucial et ne se fait pas de façon aléatoire, il en est ainsi par exemple, pour les larves cypris des balanes, de petits crustacés de forme conique, que l'on peut retrouver en grand nombre fixés sur les rochers. Ces larves sélectionnent grâce à leur antennule un espace adéquat pour leur métamorphose finale. Ces petites antennes sensorielles sont capables de détecter très spécifiquement des signaux chimiques, appelés phéromones, émis par d'autres balanes. Mais elles reconnaissent aussi certaines molécules produites par les biofilms et des animaux marins tels que les tortues ou les baleines. La compétition pour l'espace est telle que le recrutement de ces espèces peut se produire sur ces organismes vivants, créant ainsi des relations très spécifiques entre les basibiontes (surface « vivante ») et épibiontes (l'organisme « colonisateur »). C'est également pour cette raison que toute nouvelle surface artificielle introduite dans l'eau de mer sera ainsi rapidement colonisée. Ce phénomène est appelé « biofouling » ou encore biosalissures. Le terme biosalissure désigne non seulement les organismes qui se développent sur ces supports, mais aussi les détériorations qu'ils occasionnent [41].

Au sein des biofilms, les microorganismes sessiles (ancrés sur le substrat) développent des caractéristiques très différentes de celles des microorganismes planctoniques (en suspension dans le milieu) : mise en œuvre de voies génétiques spécifiques, utilisation de

systèmes de communication chimique, modifications structurales, production d'exopolymères... autant de phénomènes qui échappent aux méthodes d'investigation de la microbiologie traditionnelle « en solution ». Approcher la complexité des biofilms exige de croiser les compétences de très nombreux domaines complémentaires : microbiologie, biologie, chimie des solutions, physico-chimie des surfaces, géologie, hydrologie, sciences des matériaux, hydrodynamique, ingénierie... Les équipes engagées dans ces études ont souvent développé, de manière parallèle, des outils, des procédures et des langages différents pour appréhender des concepts fondamentaux identiques.

Il a fallu attendre plus de cent ans après l'initiation de la microbiologie, pour s'apercevoir que la croissance en biofilm est le mode naturel de développement des microorganismes. En effet, ces derniers ont tout d'abord été caractérisés comme planctoniques, libres et en suspension dans le milieu. La première observation d'une association de microorganismes a été réalisée par Antonie Van Leeuwenhoek en 1847 à partir de fragments de plaque dentaire humaine placée sous un microscope [42]. La description qu'il en a faite à l'époque a été celle « d'agrégats » de microorganismes. Bien que le terme n'ait été introduit qu'à posteriori, il avait découvert le biofilm bactérien. Près d'un siècle plus tard, Claude Zobell en 1943 [43] observe, sur des prélèvements de bactéries aquatiques, une agrégation préférentielle des bactéries sur la surface solide contenant l'échantillon plutôt qu'en suspension. Il venait d'introduire le concept d'« habitat bactérien préférentiel » : la structuration en biofilm semble être le mode de vie privilégié des bactéries, et de manière plus générale, de tout type de microorganismes.

Cependant, les biofilms sont de plus en plus souvent identifiés comme la source de lourds problèmes industriels et sociétaux. Ils sont responsables d'une diminution des rendements et d'une augmentation des coûts de production dues, par exemple, à la réduction du flux de perméation (écoulement de fluides dans les milieux poreux) des membranes, à l'encrassement des échangeurs de chaleur et à la corrosion des matériaux [44]. Ainsi, lorsqu'ils s'implantent au sein des unités de refroidissement d'usines de production d'énergie électrique ou d'usines chimiques, ils conduisent à une perte pouvant atteindre 20 à 30 % des capacités de transfert thermique des échangeurs de chaleur. Dans le milieu maritime, les bio-salissures sur la coque des navires peuvent réduire leur vitesse de 10% [45].

D'une manière générale, le coût global de la corrosion est estimé à 4% du PNB pour un pays industrialisé et la biocorrosion, représente 10 % de ce coût.

Les déterminations fondamentales sur les propriétés physico-chimiques de l'eau de mer ont déjà été réalisées pour les eaux de la surface de l'Atlantique, appelée "l'eau de mer standard" [46]. Le milieu marin constitue un environnement particulièrement favorable à la détérioration des matériaux métalliques. L'agressivité de l'eau de mer découle notamment de ses propriétés physico-chimiques : une conductivité élevée due à une salinité importante, fortes teneurs en ions chlorure, oxygène dissous.... Celle-ci se trouve également renforcée par l'action des organismes vivants (bactéries, micro-algues..) contenus dans le milieu.

I.1.2 Colonisation des surfaces

Dans un milieu aqueux, les molécules organiques et les ions s'accumulent rapidement sur les surfaces inertes pour former une couche appelée le « film de conditionnement » (Figure I.1). Cela correspond au stade 1 de la colonisation de la surface submergée.

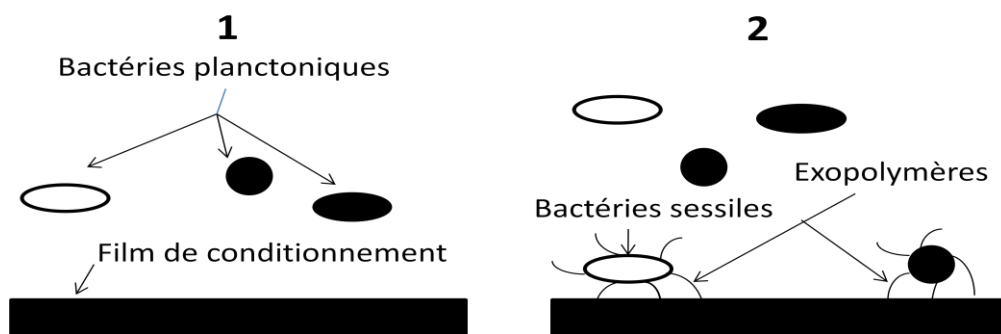


Figure I.1: L'initiation de la croissance du biofilm [47]

Plus tard, au stade 2, les bactéries planctoniques de l'eau colonisent la surface et commencent une existence sessile en excréant des cellules exopolymères qui se fixent solidement à la surface.

Par conséquent, dans tous les écosystèmes exceptés les plus oligotrophes (milieux peu fertiles), les bactéries planctoniques adhèrent, en réalité, aux surfaces d'un film (ces surfaces peuvent avoir des propriétés chimiques différentes de la surface inerte) [48,49]. La fixation initiale des bactéries sur une surface implique souvent une partie de la cellule, un flagelle.

[50]. Au cours de cet attachement réversible, les bactéries utilisent leur mobilité pour maintenir le contact avec la surface tout en recherchant un emplacement approprié [51]. Les flagelles, médiateurs de mobilité sont nécessaires aux *Escherichia coli* à la fois pour l'approche et le déplacement à travers la surface tandis que *Pseudomonas aeruginosa* utilise son flagelle seulement pour apporter la cellule à proximité de la surface [52]. L'attachement d'abord réversible qui peut conduire au détachement de la cellule bactérienne, peut devenir irréversible (figure I.2). L'attachement réversible est considéré comme prédominant dans la nature [51].

Les principaux facteurs régulant l'attachement ou le détachement des bactéries sur des surfaces sont la disponibilité des nutriments, les propriétés électrochimiques de la surface, et l'écoulement de liquide. Lorsque les nutriments sont non limitatifs dans la phase liquide, il n'est pas nécessaire pour les bactéries de se fixer. Les situations de stress comme un épuisement des nutriments rendent la croissance des bactéries sessiles plus favorable dans les liquides en écoulement [52].

Les biofilms qui ont atteint une taille stable (épaisseur), c'est-à-dire lorsque la croissance est compensée par le détachement, sont appelés matures. Les biofilms matures peuvent avoir une architecture complexe. Les premières études morphologiques sur les biofilms par microscopie électronique à balayage déshydrataient les spécimens, conduisant à une vue trompeusement et simpliste des biofilms, ressemblant aux cellules empilées les unes sur les autres [48].

Les progrès récents de la microscopie à laser confocal ont permis à l'analyse visuelle des biofilms pleinement hydratée. Les observations visuelles de l'intérieur du biofilm ont été connectées aux données chimiques avec des études sur microélectrodes [17,53-55]. L'utilisation d'une microélectrode avec une petite pointe de diamètre (jusqu'à 10 nm) a radicalement changé les vues de l'architecture du biofilm [56], elle a permis la séparation des données chimiques obtenues à partir des amas de biofilm et l'espace vide est vu par MCBL (microscope confocal à balayage laser).

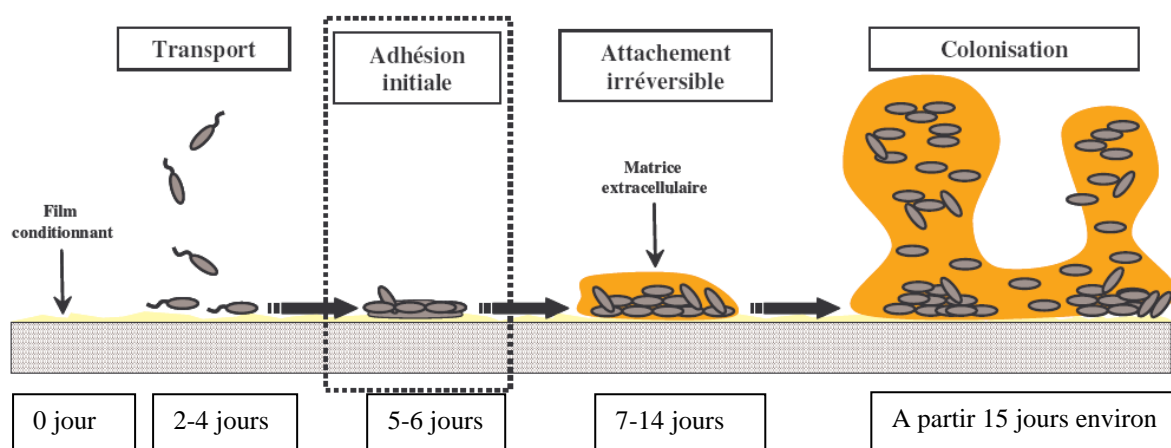


Figure I.2: Représentation schématique de la formation d'un biofilm [57]

I.1.3 Microorganismes impliqués dans la corrosion marine des aciers

Les procaryotes (organismes dont la cellule ne possède pas de noyau) représentent la plus grande diversité des espèces biologiques sur terre. Ils jouent un rôle important dans les cycles biogéochimiques, présentent des capacités métaboliques exceptionnelles, sont capables de survivre aux conditions les plus extrêmes et sont nécessaires à la survie d'organismes supérieurs. Le nombre de procaryotes peuplant les océans a été estimé à 10^{29} cellules [58]. Ces derniers généralement associés aux processus de biocorrosion des aciers sont impliqués dans les cycles du soufre et du fer. Les composés dérivés du soufre ou du fer sont utilisés comme accepteur terminal d'électrons.

En général, les microorganismes n'utilisent pas directement les matériaux comme source de nutriments, cependant, la modification drastique des conditions environnementales à la surface de celui-ci, sous l'influence du métabolisme microbien, est susceptible de provoquer ou d'accélérer sa dégradation.

I.1.3.1 La microflore liée au cycle du soufre

Le soufre se trouve naturellement en grande quantité, lié à d'autres éléments sous forme de sulfures (exemple : la pyrite) et de sulfates (comme le gypse qui est du sulfate de calcium). Il se présente sous forme libre près des sources chaudes et dans les régions volcaniques. Les réservoirs de soufre mobile sont l'atmosphère, les lacs et les rivières, les sols et végétaux terrestres, les océans et leurs sédiments ainsi que la biosphère marine. Le cycle du

soufre est un cycle biologique majeur et complexe (figure I.3). Dans la nature, les deux parties du cycle du soufre, aérobie et anaérobie, sont en général superposées et se complètent. En anaérobiose, le cycle du soufre est entièrement microbien. Le sulfure provient de la réduction des sulfates par les bactéries sulfato-réductrices, de la réduction du soufre élémentaire par les bactéries sulfo-réductrices, de la réduction des thiosulfates par les bactéries thiosulfato-réductrices et de la décomposition bactérienne des protéines soufrées. Le sulfure est par la suite oxydé par les bactéries phototrophes anoxygéniques (dont la source d'énergie est la lumière et qui ne produisent pas d'oxygène) qui l'utilisent comme donneur d'électrons pour leur photosynthèse. En aérobie, le cycle n'est biologique qu'en partie et le sulfure peut être oxydé par les bactéries chimiolithotrophes aérobies (bactéries oxydant les éléments minéraux et se servant du dioxyde de carbone comme aliment carboné) [59].

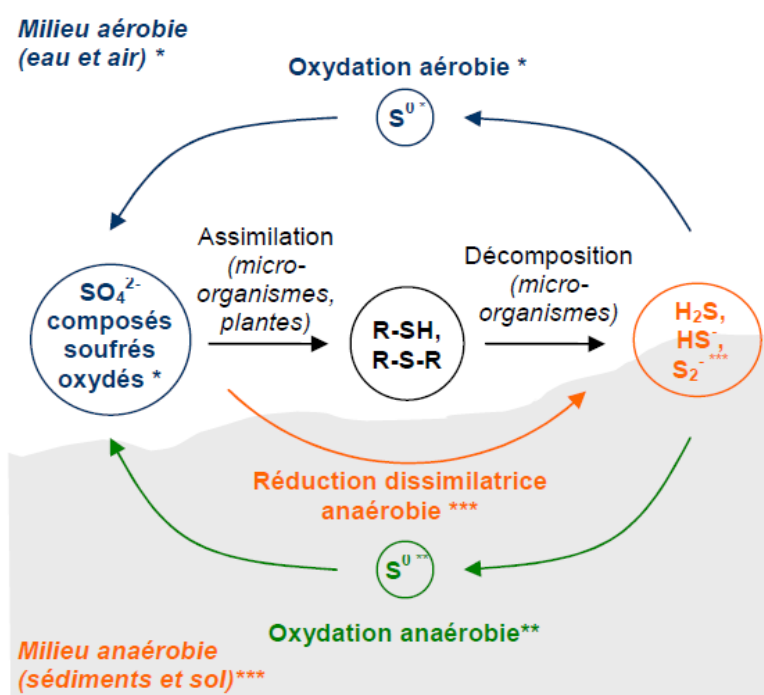


Figure I.3: Cycle biologique du soufre [43]

* Micro-organismes sulfureux chimiolithotrophes

** Micro-organismes sulfureux phototrophes

*** Micro-organismes sulfo- et sulfato-réducteurs

La réduction du sulfate et des formes oxydées intermédiaires du soufre conduit à deux résultats :

- **La génération d'ions sulfures nécessaires à l'anabolisme** (ensemble des réactions chimiques des organismes vivants permettant la synthèse de métabolites essentiels à partir des éléments de base fournis par l'alimentation). C'est la réduction assimilatrice ou nutritif des composés soufrés.
- **La production d'énergie.** Le sulfate et divers autres composés du soufre (excepté le sulfure) servent d'accepteur d'électrons dans les oxydations génératrices d'énergie effectuées à l'abri de l'air. Cette réduction est dissimilatrice ou énergétique (transfert d'électron entre un donneur d'électron et un accepteur d'électron).

Une des conséquences de cette diversité métabolique au sein du cycle du soufre est la cohabitation favorable entre des groupes métaboliques tels que les bactéries sulfatoréductrices et les bactéries sulfo-oxydantes. Cette association permet de créer un cycle du soufre alternativement oxydé et réduit qui permet son renouvellement. Cette symbiose se développe dans des milieux variés tels que l'environnement marin, les sédiments, les lacs ou encore les biofilms [60].

➤ **Bactéries sulfato-réductrices (BSR)**

Les bactéries sulfato-réductrices sont celles qui ont été et sont encore les plus étudiées dans le domaine de la biocorrosion des aciers [61-65]. Elles sont considérées parmi les plus agressives et sont présentes dans de nombreux cas de corrosion accélérée de structures métalliques. Elles sont notamment impliquées dans la corrosion accélérée en basses-eaux des infrastructures portuaires [64,66,67]. La plupart des études récentes s'accordent cependant à attribuer un rôle clé aux consortia bactériens, notamment entre microorganismes sulfurogènes et sulfo-oxydants [66,67].

D'un point de vue morphologique et physiologique, les bactéries sulfato-réductrices représentent un groupe de bactéries anaérobies complexe et varié [68]. Au sein des microorganismes sulfurogènes, les bactéries sulfato-réductrices constituent le groupe microbien le plus important [69]. Elles appartiennent généralement au domaine des *Bacteria* à l'exception de trois espèces du genre *Archaeoglobulus* qui appartiennent au domaine des

Archea. Parmi les *Bacteria*, les plus décrites sont *Desulfovibrio* avec quarante et une espèces et *Desulfomaculum* avec vingt espèces.

Ces micro-organismes, phylogénétiquement hétérogènes, partagent la propriété biochimique de réduction dissimilatrice de l'ion sulfate (SO_4^{2-}). En effet, leur métabolisme énergétique est assuré par la réaction d'oxydation d'un substrat généralement organique couplée à la réduction du sulfate, le sulfate jouant le rôle d'accepteur terminal d'électrons lors de la respiration anaérobie. Il existe de nombreuses molécules organiques pouvant être utilisées comme source de carbone et d'énergie par les BSR [70], telles que le lactate, le pyruvate, le malate ou certains alcools simples primaires. Cette capacité d'oxydation des substrats a permis de classer les BSR en deux groupes [71] :

- Le groupe I, chez lequel l'oxydation à partir du lactate et de l'éthanol est incomplète et s'arrête au stade de l'acétate ou propionate. C'est le cas de *Desulfovibrio desulfuricans* ou *Desulfomaculum nigrificans*.
- Le groupe II, pour lequel l'oxydation complète du substrat carboné aboutit à la formation de CO_2 . C'est le cas de *Desulfobacterium autotrophicum*, *Desulfomonas* ou *Desulfobacter*.

Les accepteurs d'électrons sont également potentiellement nombreux. En effet, les BSR peuvent utiliser le sulfate, le thiosulfate, le sulfite, le soufre élémentaire mais aussi les nitrates et les nitrites. En plus de ces capacités métaboliques, certaines BSR sont aussi aptes à réaliser des fermentations. Le métabolisme des BSR conduit à la génération de sulfures selon la réaction suivante :



Au pH de l'eau de mer, l'espèce HS^- prédomine et ces ions sulfures précipitent avec les ions ferreux en sulfures de fer selon la réaction suivante :



Les bactéries sulfato-réductrices peuvent coloniser un grand nombre de biotopes de par leur adaptabilité métabolique. La majorité des BSR sont mésophiles ou thermophiles. Les BSR mésophiles ont pour la plupart été isolées dans des sédiments marins, au sein desquels la concentration en sulfate est élevée et favorise leur développement. Dans les écosystèmes

marins où les sulfates abondent, la sulfato-réduction assure une part importante de la minéralisation. Mais les BSR ne se trouvent pas seulement en milieu marin. Elles sont en effet également retrouvées au sein de lacs acides, de sources hydrothermales terrestres ou océaniques ou encore de geysers. Enfin les activités humaines génèrent des biotopes propices à la prolifération de bactéries dissimilatrices de composés soufrés, notamment dans l'industrie pétrolière [70].

➤ **Bactéries Thiosulfato-Réductrices (BTR)**

Comme cela a été décrit ci-dessus, les bactéries sulfato-réductrices peuvent également être thiosulfato-réductrices. Cependant, des bactéries thiosulfato-réductrices (BTR), non sulfato-réductrices représentent une communauté microbienne à part entière.

Le rôle du thiosulfate pour les BTR s'apparente à celui du sulfate pour les BSR. La réduction du thiosulfate suit la réaction suivante :



La réduction du thiosulfate a pu être observée en laboratoire par Le Faou en 1990 en conditions anaérobies strictes et facultatives [72]. Ce métabolisme a longtemps été attribué aux BSR jusqu'à ce qu'en 2000, Garcia [73] prouve l'existence d'une activité thiosulfato-réductrice anaérobie en l'absence de micro-organismes sulfato-réducteurs. Ce processus est important en milieu sédimentaire anaérobie. Récemment, de nombreux micro-organismes fermentaires anaérobies stricts mésophiles et thermophiles appartenant aux genres *Thermotoga*, *Thermosipho* et *Feridobacterium* se sont montrés capables de réduire le thiosulfate [74,75]. La réduction du thiosulfate est considérée comme un métabolisme énergétique des organismes vivants chimiotrophes régénérant l'ATP à partir de l'ADP plus phosphate [76].

➤ **Bactéries sulfo-oxydantes (BSO)**

Les micro-organismes sulfo-oxydants comprennent des bactéries chimiolithotrophes (qui tirent leur énergie de l'oxydation d'un substrat minéral) et des bactéries photosynthétiques (qui utilisent la lumière comme source initiale d'énergie). Ces deux groupes bactériens ont pour particularité d'assimiler le carbone du CO₂ (source de carbone) tout en oxydant des composés minéraux tels que les sulfures, le soufre élémentaire, le thiosulfate ou le sulfite, afin

de générer de l'énergie. Il est possible de trouver des bactéries sulfo-oxydantes (BSO) dans des milieux allant de la saturation en oxygène jusqu'à l'anaérobiose. Les BSO photosynthétiques (bactéries phototrophes anoxygéniques) sont capables d'oxyder les composés soufrés en milieu anaérobie et les BSO chimiolithotrophes se trouvent en milieu aérobie. La plupart des BSO connues sont mésophiles et peuvent vivre à des pH allant de 1 à 9. Cependant certaines espèces (*Thermus aquaticus* and *Thermococcus litoralis*) sont thermophiles (aimant la chaleur) modérées ou extrêmes [77].

De nombreuses bactéries phototrophes sont capables d'utiliser les composés réduits du soufre comme source d'électrons. Elles pratiquent alors une photo-dissimilation des composés soufrés tels que le sulfure, le soufre élémentaire, le thiosulfate ou le sulfite. Cette oxydation fait intervenir trois enzymes : la sulfite réductase, l'APS réductase et l'ADP sulfurylase. Les bactéries sulfo-oxydantes photosynthétiques sont séparées en deux ordres : les *Chlorobiales* et les *Rhodospirillales*, c'est-à-dire respectivement les bactéries vertes et les bactéries pourpres. Les bactéries phototrophes sulfureuses pourpres peuvent également se développer à l'obscurité ou en micro-aérophilie et sont sensibles à des concentrations en sulfure supérieures à 4 mM [78]. Les bactéries pourpres peuvent oxyder le soufre et le sulfure jusqu'au stade sulfate, les composés soufrés intermédiaires ainsi formés s'accumulant au sein de la cellule.

Les bactéries phototrophes sulfureuses vertes colonisent les habitats très riches en sulfure, généralement défavorables aux bactéries phototrophes pourpres. Les bactéries de l'ordre des *Chlorobiales* (*Chlorobium*, *Pelodyction*, *Prosthecochloris*) oxydent le soufre et le sulfure et accumulent du soufre élémentaire à l'extérieur de la cellule. Enfin, il existe des bactéries vertes non-sulfureuses, appartenant au *phylum* des *Chloroflexi*. Le genre *Chloroflexus*, le plus fréquemment identifié, est capable d'oxyder le sulfure mais pas le soufre élémentaire. En aérobie, la sulfo-oxydation par les BSO chimiolithotrophes requiert des conditions précises : un environnement à la fois riche en sulfure et pauvre en oxygène. Les micro-organismes sulfo-oxydants les plus connus sont *Thiobacillus* (groupe des β -*Protéobactéries*), *Beggiatoa*, *Thiomicrospira*, *Thiotrix* (groupe des γ -*Protéobactéries*), ou encore *Sulfobulbus* (groupe V des Archées).

Les bactéries sulfo-oxydantes décrites dans les cas de biocorrosion sont généralement des *Thiobacillus*. Les représentants classiques sont *T. thiooxydans*, *T. denitrificans*, *T.*

thioparus. Ces espèces sont des chimiolithotrophes stricts, elles ont besoin de CO_2 pour se développer et utilisent l'oxygène comme accepteur terminal d'électron. Les *Thiobacillus* oxydent les composés soufrés jusqu'au stade SO_4^{2-} . L'espèce *Thiobacillus denitificans* est aérobie mais est également capable en anaérobiose d'utiliser le nitrate comme accepteur terminal d'électrons pour oxyder les composés du soufre, en libérant l'azote à l'état gazeux.

En biocorrosion, le soufre ou le sulfure utilisées par ces bactéries peut provenir de dépôts atmosphériques, des pyrites (FeS_2) ou du sulfure d'hydrogène (H_2S) d'origine biologique ou chimique. L'utilisation de ce composé soufré comme donneur d'électrons permet la croissance des Thiobacilles couplée à la production d'acide sulfurique. Cet acide serait alors une cause de l'accélération de la corrosion [79]. Bien que les conditions préférentielles de croissance de ces BSO correspondent à l'autotrophie aérobie, conditions très différentes de celles des BSR, les deux groupes microbiens coexistent souvent. En effet, les BSR fournissent le sulfure d'hydrogène favorable au développement des BSO.

I.1.3.2 La microflore liée au cycle du fer

Le fer existe sous deux formes, le fer ionique (l'ion ferreux Fe^{2+} et l'ion ferrique Fe^{3+}) et le fer minéral qui inclut les sulfures (pyrite), les sulfates, les oxydes et hydroxydes (hématite, magnétite) ainsi que les silicates et les carbonates (sidérite). Le fer est présent sous ses différentes formes dans de très nombreux environnements terrestres, lacustres ou marins. Cependant, la forme ionique, bien que largement présente au niveau des sources hydrothermales, est en faible quantité dans les environnements tels que l'océan. Le temps de résidence du fer ionique dans l'océan est très faible car il se transforme rapidement en $\text{Fe}(\text{OH})_3$ et précipite. Il est un des éléments majeurs essentiels à la plupart des organismes : bactéries, champignons, plantes et animaux. Le fer joue un rôle vital dans de nombreux processus biologiques : la photosynthèse, la fixation de l'azote, la méthanogenèse, le transport de l'oxygène ou encore la synthèse de l'ADN. La disponibilité du fer est limitée par sa solubilité et sa cinétique de dissolution.

Le cycle du fer (figure I.4) consiste en la transformation du Fer II en Fer III et inversement. Ces opérations ont lieu dans différentes conditions physico-chimiques (pH, température, etc.) de manière abiotique ou biotique. La réduction ou l'oxydation du fer par les microorganismes joue un rôle significatif dans ce cycle. Les microorganismes associés au

métabolisme du fer constituent le deuxième groupe le plus fréquemment cité dans les phénomènes de biocorrosion des aciers. On y retrouve les bactéries ferri-réductrices (BFR) et les bactéries ferro-oxydantes (BFO).

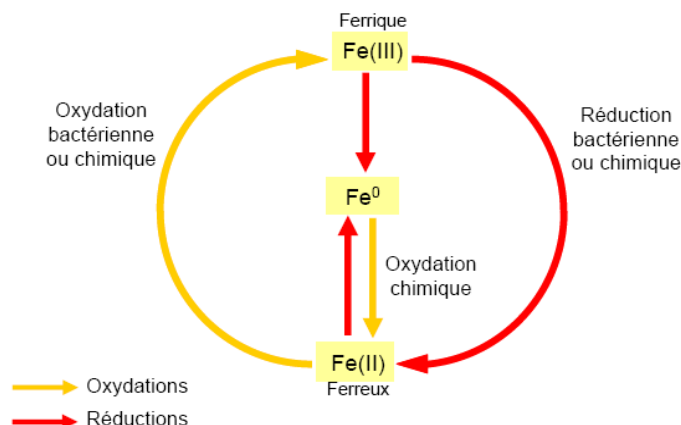


Figure I.4: Cycle biogéochimique du fer [80]

➤ Bactéries ferro-oxydantes (BFO)

L'oxydation chimique de l'ion ferreux en solution dépend du pH et de la concentration en oxygène : le taux d'oxydation augmente lorsque le pH et la concentration en oxygène augmentent. A un pH acide ($\text{pH} < 4$), l'oxydation chimique de l'ion ferreux n'est plus significative et l'ion ferreux est alors oxydé en ion ferrique par les BFO acidophiles pour obtenir l'énergie nécessaire à leur croissance [81]. Elles utilisent pour la plupart le CO_2 comme source de carbone. Ce processus conduit à la précipitation d'oxydes et d'hydroxydes de fer (FeOOH et Fe_2O_3). Les BFO acidophiles sont les plus étudiées. Elles sont présentes dans des environnements variés, elles vivent à un pH inférieur à 1 jusqu'à un pH proche de 5,5 et à des températures pouvant dépasser 65°C . De plus, les BFO acidophiles peuvent être autotrophes ou hétérotrophes comme *Acidiphilium* [82-84]. Les plus connues appartiennent majoritairement aux genres *Acidithiobacillus* (*thioxidans* et *ferrooxidans*), *Acidiphilium* et *Leptospirillum* [85]. Ces genres bactériens se retrouvent principalement dans les zones où le fer (II) est très présent, comme les eaux de drainage provenant de mines. La pyrite (FeS_2) présente dans ces eaux est oxydée en fer (III) et en soufre $\text{S}(0)$ ce qui provoque une acidification du milieu. Lors des phénomènes de biocorrosion, ce processus entre en jeu en induisant des colmatages ou une diminution de la perméabilité par la production d'hydroxydes ferriques difficilement solubles [86].

Dans les environnements aqueux à pH neutre et saturé en oxygène 8 mg.L^{-1} , l'oxydation chimique du fer est rapide et les populations bactériennes ne représentent pas une part significative de l'oxydation. Cependant, en présence d'une faible concentration d'oxygène ($< 2 \text{ mg.L}^{-1}$), le taux d'oxydation chimique diminue et les BFO neutrophiles sont capables d'utiliser le fer ferreux comme source d'énergie. On retrouve des BFO neutrophiles dans des environnements variés comme les eaux usées, les racines de plantes, les stalactites ou encore les sources hydrothermales.

La définition d'une bactérie ferro-oxydante neutrophile est liée au pH de croissance (c'est-à-dire le pH affecte considérablement la croissance bactérienne ; l'espèce neutrophile se développe dans une gamme définie de pH et possède un pH optimum de croissance : $5,5 < \text{pH optimum} < 8$). Néanmoins, celui-ci peut être assez différent d'une bactérie à l'autre. Par exemple, *Acidiphilium cryptum* est une bactérie ferro-oxydante hétérotrophe, qui tolère un pH de 2,1 à 5,8 dans des conditions aérobies de croissance, mais à un pH supérieur, elle peut croître en conditions anaérobies. Dans ces conditions, *Acidiphilium cryptum* peut réduire le fer, ce qui lui permet une croissance au niveau des sédiments [87]. D'autres bactéries ont un pH de croissance plus proche de la neutralité, comme *Gallionella ferruginea* ou *Leptothrix ochracea*, connues depuis 1840, mais cultivées en laboratoire plus d'un siècle après. Cependant, leur effet catalytique sur l'oxydation et la précipitation du fer n'est pas encore complètement compris. L'existence de BFO neutrophiles n'est plus discutée, mais leur rôle par rapport à l'oxydation chimique du fer est encore très mal compris et fait l'objet de plusieurs études dans les différents environnements où on les retrouve [80,88,89].

En absence d'oxygène, certaines bactéries phototrophes, pourpres ou vertes, oxydent Fe^{2+} en utilisant l'énergie lumineuse pour fixer le CO_2 [90]. Cette réaction conduit à la formation d'oxydes de fer peu cristallisés à l'extérieur de la cellule bactérienne. Récemment, l'oxydation du fer par des bactéries capables de réduire le nitrate a été démontrée en milieux anaérobie et aérobie, en absence de lumière [91].

➤ Bactéries ferri-réductrices (BFR)

Des communautés bactériennes aéroanaérobies facultatives ou anaérobies strictes, les BFR, utilisent le Fe (III) comme accepteur d'électrons pour leur respiration [92]. Les donneurs d'électrons sont nombreux [93] tels que les produits de fermentation (hydrogène,

acétate, lactate, alcools...), les acides organiques, les acides gras à longue chaîne ou encore les composés aromatiques. Ces derniers peuvent provenir de la décomposition de la biomasse végétale. Les formes oxydées du fer sont présentes à l'état de solides insolubles amorphes ou cristallisés. La solubilité de Fe (III) augmente lorsque le pH diminue. Ainsi, à pH acide, les formes oxydées et les formes réduites cohabitent dans la phase soluble. Les BFR réduisent le fer en solution mais entraînent aussi la dissolution et l'altération des oxydes et hydroxydes.

Les BFR forment un groupe métabolique dans lequel les espèces peuvent être phylogénétiquement éloignées [94]. Les souches décrites appartiennent dans leur majorité aux *δ-Proteobacteria* et plus précisément aux genres *Geobacter*, *Desulfuromonas* et *Pelobacter*. Cependant, certaines appartenant aux *γ-Proteobacteria* telles que *Shewanella spp.* et *Geovibrio ferrireducens* sont aussi affiliées aux BFR [95]. Les BFR sont divisées en deux groupes suivant leur capacité à oxyder complètement ou non la matière organique en CO₂. Cette oxydation est couplée à la réduction du fer (III) contenu dans les minéraux (ferrihydrite, goethite, hématite). Certains de ces minéraux sont également produits par la corrosion du fer en milieu marin. Dès lors, la présence de BFR pourrait modifier localement la couche de rouille, ce qui initierait la création de zones anodiques et induirait une différence de potentiel électrochimique propice au développement d'un processus de corrosion localisée [96].

I.2 L'acier inoxydable

I.2.1 Généralités et principales catégories

Les aciers inoxydables ont été inventés il y a près d'un siècle par l'Allemand Philip Monnartz [97]. En 1911, il mit en évidence l'influence du taux en chrome d'alliages métalliques sur leurs résistances à la corrosion. De nos jours, leur usage est courant puisqu'il connaît un taux d'accroissement de 5% par an. Les aciers inoxydables sont fabriqués à partir d'un alliage de fer et carbone principalement, qui contient un minimum de 12 % de chrome en masse. Il existe deux catégories principales d'aciers inoxydables :

- les alliages ferritiques ou fer-chrome contenant 12 à 30 % de chrome en masse ;
- les alliages austénitiques ou fer-chrome-nickel avec 12 à 30 % de chrome et 7 à 30 % de nickel en masse.

Les aciers austénitiques sont largement utilisés non seulement en biotechnologies, pharmacie et industrie agroalimentaire mais aussi comme implants dans le domaine médical [98,99]. Ces matériaux sont généralement choisis pour leur bonne résistance mécanique, une résistance accrue à la corrosion, une longévité conséquente mais également une forte résistance à l'abrasion [100]. La composition de l'acier inoxydable 254 SMO utilisé dans ce travail de thèse est donnée, en pourcentage massique (tableau II.4). Elle est identique à celle retrouvée dans la littérature [101,102].

Le tableau I.1 représente les nomenclatures les plus courantes et les domaines d'applications de quelques aciers inoxydables.

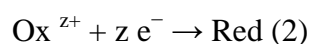
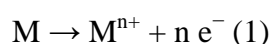
Tableau I.1 Nomenclature des aciers inoxydables et leurs domaines d'applications [103].

AISI	AFNOR	Classification des nuances	Les qualités de l'inox	Les domaines d'utilisation
Américaine	Française			
403	Z6C13	Ferritique	Ductile, résistant à la corrosion dans un milieu neutre ou faiblement chloruré	Industrie chimique
304L	Z3CN18 09	Austénitique	Très bonne résistance à la corrosion intergranulaire, bonne soudabilité	Industrie chimique peu agressive, chaudronnerie, tuyauterie, usage général.
316L	Z6CND1712	Austénitique	Acier au molybdène à très bas carbone, très bonne résistance à la corrosion intergranulaire et en milieu chloré et marin	Chaudronnerie, tuyauterie pour l'industrie chimique très agressive, la construction navale, l'accastillage.

254SMO	S31254	Super Austénitique	Acier au molybdène à teneurs élevées de chrome, le molybdène et l'azote, 254 SMO est particulièrement adapté pour les environnements riches en chlorure comme l'eau saumâtre, eau de mer, eau de Javel.	Matériel de manutention d'eau de mer, hautes colonnes de distillation de pétrole, équipement de traitement chimique, équipement dessalement, épurateurs de désulfuration des gaz de combustion, matériel de production de gaz et de pétrole.
---------------	---------------	--------------------	---	--

I.2.2 Corrosion et passivité des aciers inoxydables

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

généralisé 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 .

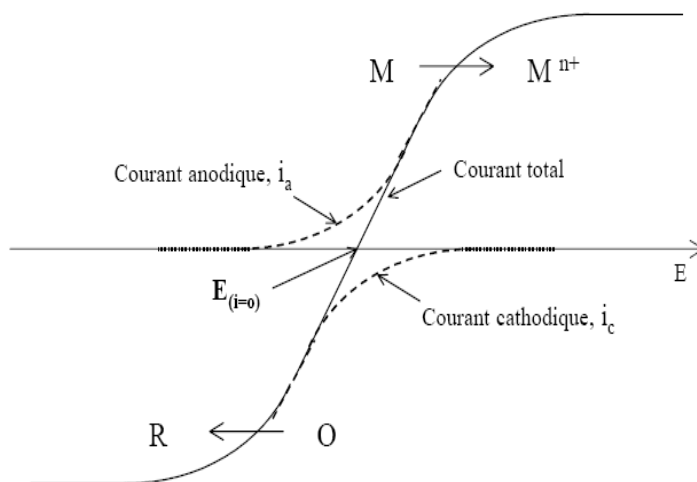


Figure I.5 : Diagramme intensité-potentiel, où $E(i=0)$ désigne le potentiel d'abandon

La valeur de potentiel pour laquelle le courant anodique I_a est égal en valeur absolue au courant cathodique I_c est appelée potentiel d'abandon ou potentiel mixte, ou potentiel en circuit ouvert. La valeur absolue égale des courants anodiques et cathodiques est appelée courant de corrosion I_{corr} (j_{corr} pour la densité de courant de corrosion). La courbe intensité-potentiel expérimentale est l'addition des courants anodique et cathodique (figure I.5).

L'inoxidabilité des aciers tient à la présence naturelle sur la surface de l'acier inoxydable d'une couche de protection (la « couche passive »), qui fait partie intégrante du matériau, et lui confère la passivité. Les aciers inoxydables présentent la particularité, lorsqu'ils sont au contact d'un oxydant (air, eau...) de se recouvrir d'une très fine couche (de l'ordre du nanomètre), composée d'oxydes complexes, appelée « film passif » ou « couche passive », qui protège le métal du milieu environnant.

Etant donné sa composition (oxydes), elle ne peut se former que lorsque le pouvoir oxydant de la solution est suffisant. Cette couche passive est stable, mais dans certaines conditions seulement. Il est également à noter que la nuance de l'acier exerce une influence sur la stabilité de la couche passive pour que celle-ci se forme, il est nécessaire que l'alliage

contienne au moins 12 % de chrome en masse. En outre, les éléments d'alliages ont pour effet, selon leur teneur et dans certaines conditions, de la renforcer.

Quand un choc (ou éraflure, etc.) a lieu dans un milieu particulièrement agressif, l'inox, perd localement sa passivité, et dans ce cas, peut corroder. Quatre facteurs externes peuvent chacun provoquer la rupture de la couche passive : le pouvoir oxydant de la solution, le pH, la teneur en chlorure, la température.

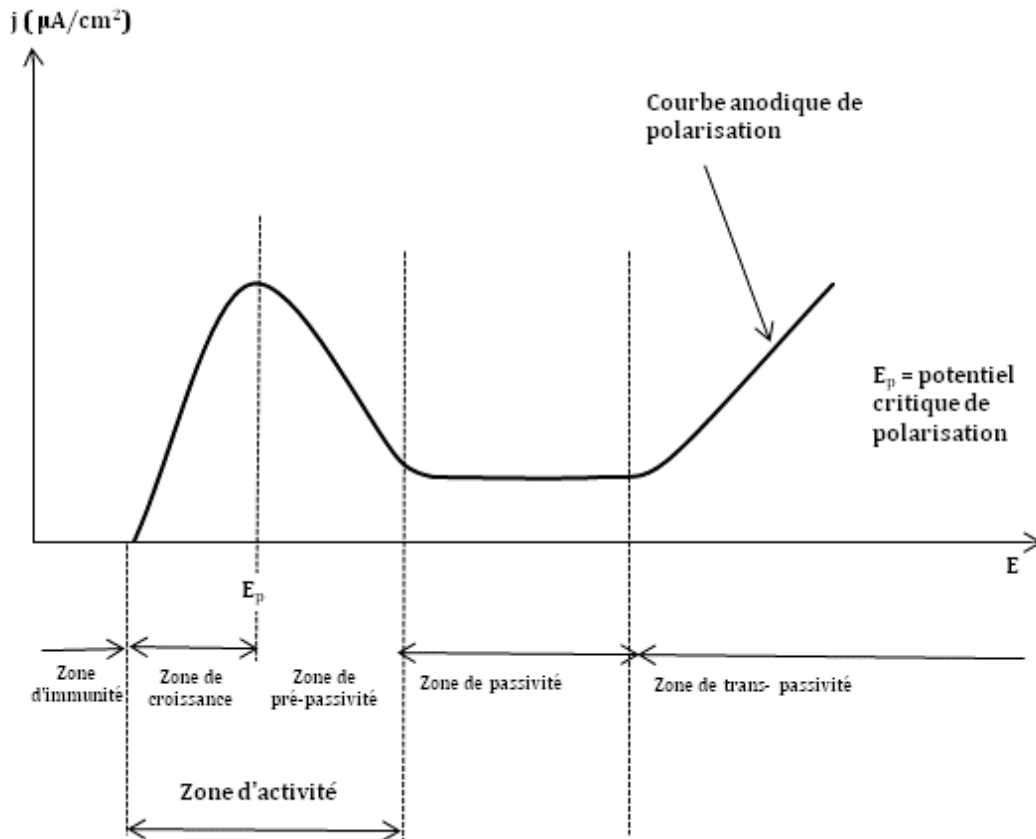


Figure I.6 : Courbe anodique de polarisation dans le cas d'un acier inoxydable

La figure I.6 indique le tracé de la courbe de polarisation anodique d'un acier inoxydable. La forme observée est caractéristique des alliages passivables sur lesquels se forme une couche superficielle qui devient protectrice. En effet, on distingue cinq zones :

- Une zone d'immunité dans laquelle les conditions thermodynamiques de la corrosion ne sont pas réunies.
- Une zone de croissance de la densité de courant où la corrosion devient active.

- Une zone de décroissance à partir d'une valeur E_p (potentiel critique de passivation) : le métal commence à se recouvrir de la couche passive. L'intensité du courant de corrosion diminue : c'est la zone de pré-passivité.
- Une zone de courant faible où le métal est passif.
- Une zone de croissance appelée zone de trans-passivité. La corrosion peut de nouveau s'amorcer.

En règle générale, seules les trois zones principales : activité, passivité et trans-passivité sont énumérées (figure I.6).

Le chrome confère aux matériaux leur caractère inoxydable par la formation d'une couche riche en oxyde de chrome, appelée le film passif [104]. Ce film passif se forme et se renouvelle seul en présence d'oxygène ou d'eau [105,106]. Cette couche protectrice mesure quelques nanomètres d'épaisseur [107]. Formée directement à partir de la réaction entre le métal et l'ion OH^- ou O_2 dissoute, elle est capable de se réparer spontanément après une « dépassivation » accidentelle. Cependant, dans certaines conditions d'utilisation (forte teneur en chlorures du milieu, acidité), ce film peut être détruit (localement entraînant la formation des piqûres).

I.2.3 Caractéristiques du film passif

Les principes de bases de formation d'un film passif sont les suivantes [108] :

- l'oxydation des constituants de l'acier,
- le transport des ions à travers les couches formées,
- les interactions avec l'électrolyte : dissolution, précipitation, adsorption d'espèces en solution.

De nombreuses études des films d'oxydes formés sur les aciers inoxydables ont été réalisées via des techniques électrochimiques et spectroscopiques. L'ensemble des travaux montrent que les caractéristiques des films passifs dépendent fortement des conditions de formation [109,110] : la composition de l'acier, la nature du milieu environnant, le pH, la température, les traitements de surfaces (mécanique, chimique ou électrochimique...). La passivation électrochimique demeure la plus étudiée dans la littérature. Le tableau I.2.

représente quelques exemples de composition et structure des films formés par passivation électrochimique.

Tableau I.2 : Composition et structure des films formés par passivation électrochimique

Aciers inoxydables	Composition et structure film passif	Commentaires	Références
Ferritiques ou austénitiques	Des teneurs de 50 à 90 % de Cr (III) ont été déterminées sur les films recouvrant des aciers inoxydables austénitiques : film passif enrichi en élément chrome.	L'enrichissement en chrome peut s'expliquer par une dissolution préférentielle du fer dans la solution et par la faible mobilité du chrome.	[111-114]
Ferritiques et austénitiques	Existence d'un potentiel critique de 0,4 V/ECS en-dessous duquel, le film formé sur les aciers contient essentiellement du chrome alors qu'au-delà de ce potentiel, le fer et le chrome composent le film	Les caractéristiques du film passif dépendent du potentiel de polarisation.	[115]
L'acier Fe17Cr	Recouvert d'une simple couche d'oxydes mixtes de Fe et Cr mêlés d'ions hydroxyle et d'eau après 5 minutes à 0,39 V/ENH. En milieu NaCl révèle une structure bicouche au bout d'une heure de polarisation. La bicouche est constituée dès une minute de polarisation en milieu acide tandis qu'on obtient un film stratifié avec une polarisation supérieure à 5 minutes en milieu neutre	Le temps de passivation influence la structure du film. Le pH du milieu influe aussi sur la cinétique de formation de la bicouche.	[113] [116]
Austénitique de type 316L	Film stratifié	La présence du nickel favorise la stratification du film.	[117]
L'acier Fe-18Cr-13Ni	Présence des traces d'hydroxyde de Nickel	Des traces d'hydroxyde de nickel ont été mises en évidence après 20 minutes de polarisation à 0,5 V/ENH en milieu H ₂ SO ₄ 0,5 M.	[118]
Austénitique de type 316L	La partie externe du film passif enrichie en Nickel	Léger enrichissement en nickel dans la partie externe du film recouvrant l'acier en milieu borate pH 8,6.	[116]

Super-austénitique AISI 254SMO	Présence de Ni dans le film passif observée par spectroscopie du photocourant (courant électrique traversant un photo-détecteur : par exemple une photodiode qui résulte de l'exposition de ce dernier à une source lumineuse)	La grandeur des largeurs de bande des oxydes ont été trouvés être indépendant de la valeur du potentiel appliqué.	[119]
AISI 304L AISI 254SMO	Présence de 2 phases semi-conducteurs de type n, chromine Cr_2O_3 et un contenant du fer phase dont l'identité n'a pas été déterminée.	La solution enzymatique influe sur film passif d'un acier inoxydable. L'ajout de glucose et GOx (glucose oxidase) dans l'eau douce artificielle entraîne une augmentation relative de la quantité de chrome oxydé et la diminution relative du fer oxydé dans la couche passive.	[120]
AISI 304L et l'acier Fe-Cr ($0 \leq \text{Cr} \leq 30\%$)	Présence des oxydes fer et de chrome dans le film passif	Les résultats obtenus montrent que les films se comportent comme de semi-conducteurs de type n et de type p dans le domaine de potentiel : au-dessus et au-dessous du potentiel de bande plate, respectivement. Ce comportement est supposé être la conséquence des propriétés semi-conductrices des régions d'oxydes fer et de chrome qui composent les films passifs.	[121]

I.2.4 Évolution des processus de réduction du dioxygène O_2 sur des aciers inoxydables en fonction du vieillissement en eau de mer

L'état de surface des aciers inoxydables joue un rôle important dans les processus de réduction du dioxygène et le développement d'un biofilm, lors de l'exposition de ces matériaux à l'eau de mer, et induit des modifications certaines dans l'étude du potentiel d'abandon.

Les mesures électrochimiques, en général, sont réalisées directement dans le milieu de vieillissement, stagnant ou en circulation, ou dans une cellule indépendante. L'aération du milieu est plus ou moins bien contrôlée. Compte tenu des multiples conditions d'analyse de la

réduction d'oxygène, il est parfois difficile de comparer les expériences entre elles. Mollica et Trevis [122] sont parmi les premières personnes à s'être intéressées à l'évolution de cette réaction. Ils ont constaté que les processus sont modifiés lors du vieillissement des aciers inoxydables, quelle que soit la composition chimique de l'acier : la vague/mur de réduction de l'oxygène est déplacée vers des potentiels plus élevés (entre 0 et 0,3 V/ECS) et l'amplitude (valeur maximum du courant) du courant augmente ; les expressions de "dépolérisation cathodique" et de "catalyse de la réduction d'oxygène par le biofilm" sont alors employées.

Des conclusions similaires ont été formulées dans les années 1980 par d'autres auteurs [123,124]. La vitesse de circulation de l'eau de mer affecte le courant de réduction du dioxygène [122,125]: une vitesse de circulation élevée semble retarder le phénomène de déplacement du potentiel.

De façon à établir un lien avec l'effet du biofilm, quelques expériences ont été effectuées en eau de mer artificielle [125,126] et en eau mer naturelle préalablement filtrée (0,2µm) [123]. Tous les auteurs concluent que la présence de microorganismes dans le milieu d'exposition des aciers entraîne des modifications de la réaction de réduction du dioxygène. Les travaux ne donnent aucune information sur les mécanismes, mais se contentent de souligner l'absence d'évolution de la vague cathodique avec le temps d'exposition des aciers dans le milieu artificiel. On remarque que dans toutes les expériences citées, les conditions hydrodynamiques sont trop mal définies pour permettre une étude correcte des mécanismes de réduction du dioxygène.

Le tableau I.3 présente un grand nombre d'hypothèses, qui ont été formulées pour expliquer l'évolution de la réaction de réduction d'O₂ des aciers inoxydables en eau de mer naturelle.

Tableau I.3 : Hypothèses proposées pour expliquer l'évolution du comportement électrochimique des aciers inoxydables en eau de mer naturelle.

Hypothèses	Commentaires	Références
Effet catalytique des complexes organométalliques	Les propriétés complexantes des EPS vis à vis des cations métalliques (Cu ²⁺ , Fe ²⁺ ...) entraînent la formation de ces complexes organométalliques	[127,128]

Production de sidérophores également appelés sidéochromes	Les sidéochromes sont des complexes à base de fer, formés à partir de chélatants organiques excrétés par des organismes aérobies et/ou anaérobies)	[129]
Possibilité d'une action par des polypyrroles	Les polypyrroles ont la propriété de catalyser la réduction de O ₂	[130]
Une influence des oxydes manganiques	Des dépôts de manganèse ont été mis en évidence dans des biofilms recouvrant les surfaces de platine	[131,132]
Une action catalytique des enzymes produites dans le biofilm (métabolisme des bactéries)	Le transfert électronique de la surface vers l'enzyme est susceptible d'être facilité par des médiateurs (polyptides, et protéines)	[133-135]
Une influence d'oxydes de manganèse	Oxydes de manganèse formés par des bactéries mangano-oxydantes	[136]
Une influence du pH	Processus cathodiques sur les alliages (254 SMO) exposés en eau de mer artificielle acidifiée (HCl) semblables à ceux observés après vieillissement en milieu naturel	[137]
L'acidification au sein du biofilm	Modification du comportement électrochimique	[138]
L'influence du peroxyde d'hydrogène et d'acide gluconique pendant la dégradation du glucose sous l'effet de la glucose oxydase	Les propriétés oxydantes du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂) entraînent l'évolution du potentiel d'abandon suite à l'addition de protons	[139]

I.3 Application de la physico-chimie des surfaces pour appréhender l'adhésion des microorganismes

L'adhésion d'un microorganisme sur une surface solide est un processus complexe qui implique deux surfaces dont l'une au moins est de nature biologique. La diversité des acteurs impliqués et les différents types d'interactions matériau/surface microbienne, qu'elles soient spécifiques ou non spécifiques, compliquent encore l'analyse et l'interprétation des données.

Mais il faut garder à l'esprit que les interactions spécifiques et non spécifiques résultent des mêmes interactions physico-chimiques fondamentales. Dans le cas des interactions spécifiques, seules les forces entre des groupements très localisés à la surface des

corps en présence sont prises en compte. Au contraire, pour les interactions non spécifiques, on s'intéresse aux forces intégrées sur l'entière surface des corps.

Le recours aux deux approches complémentaires, physico-chimie et biologie, des interfaces moléculaires sont essentielles pour cerner les différents aspects du problème et mieux appréhender l'ensemble des mécanismes qui ont lieu aux interfaces.

Dans l'approche physico-chimique « pure », on ne dissocie pas le vivant des autres matériaux. Les cellules sont identifiées comme des particules colloïdales idéales, sphériques et rigides, avec une surface parfaitement définie et uniforme. Les modèles les plus simples ne prennent en compte que les interactions non spécifiques. A noter toutefois que les évolutions actuelles ont tendance à considérer les spécificités des microorganismes (présence de flagelles, pili, macromolécules adsorbées).

De façon à comprendre l'adhésion d'un microorganisme sur une surface, il est nécessaire de prendre en compte ces différents types d'interactions ainsi que leur évolution en fonction de la distance de séparation des corps considérés.

La physico-chimie des surfaces fournit trois approches permettant de prédire l'adhésion d'un microorganisme sur une surface solide :

- la théorie de la stabilité de l'état colloïdal, encore appelée théorie DLVO, formulée par Derjaguin, Landau, Verwey et Over Beek [140,141];
- la théorie DLVO étendue par van Oss et ses collaborateurs [142].
- la théorie du mouillage donnée par la thermodynamique des surfaces ;

Après un rappel sur les forces intermoléculaires, nous présenterons les principes et les éventuelles limitations de ces trois modèles théoriques.

La figure I.7 présente une représentation schématique des différentes interactions (numérotés de 1 à 6) possibles entre des microorganismes et une surface solide et les distances pour lesquelles ces forces sont significatives.

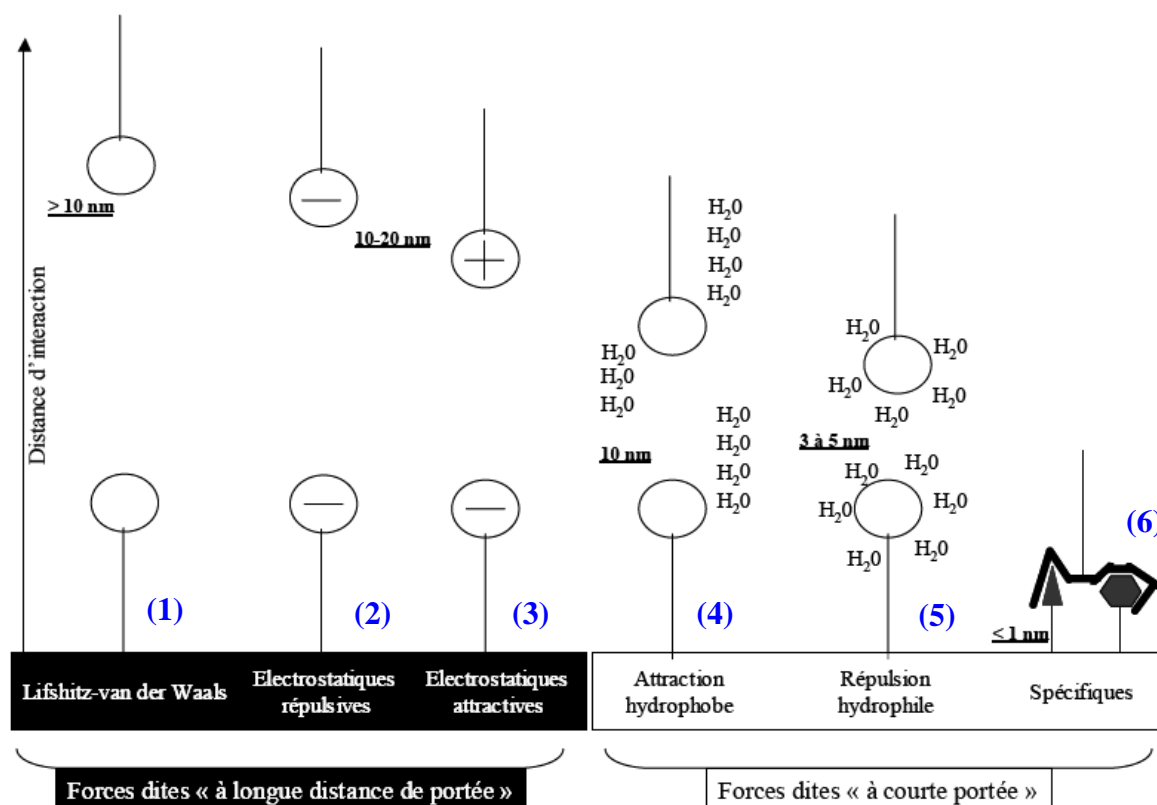


Figure I.7: Schéma descriptif des interactions pouvant s'établir entre deux corps et distances pour lesquelles ces interactions sont significatives [143]

➤ Interactions à longue distance

Dès que les corps sont plongés dans un milieu aqueux, des forces électrostatiques apparaissent, sous l'effet de charges électriques surfaciques, liées à deux phénomènes principaux [144] :

- (i) l'ionisation ou la dissociation des groupements fonctionnels de surface ; par exemple, la formation d'un proton à partir des groupements SiOH à la surface du verre, produit une charge de surface négative ;
- (ii) l'adsorption d'ions (cations ou anions) contenus dans la solution aqueuse. Quel que soit le mécanisme conduisant à l'apparition des charges de surface, ces dernières confèrent à la surface un potentiel de surface (Ψ_0). La présence de ces charges de surface influence la distribution spatiale des ions contenus dans la solution. Les ions de charge identique (co-ions) sont repoussés loin de l'interface (2) de la figure I.6, et ceux de charge opposée (contre-ions) sont attirés par la surface (3) de la figure I.6. Cet excès de contre-ions est maximal à la surface

puis diminue progressivement lorsque l'on s'éloigne de cette surface et ce, jusqu'à ce que l'équilibre ionique de la phase aqueuse soit retrouvé.

Cet excès de contre-ions forme ce que l'on appelle la double couche ionique. Elle est constituée (figure I.8) :

- (i) d'une région interne, la couche de Stern, formée d'ions fortement adsorbés sur la surface : son épaisseur est environ égale au diamètre moyen des ions hydratés adsorbés ;
- (ii) au-delà de cette couche, on trouve la couche diffuse de Gouy-Chapmann qui correspond à l'atténuation progressive de l'excès de contre-ions, jusqu'à ce que l'équilibre ionique de la phase aqueuse soit retrouvé.

Lorsque particule et surface solide s'approchent l'une de l'autre, il s'exerce une interaction électrostatique, liée au recouvrement de leurs doubles couches respectives. Cette interaction est répulsive (2) de la figure I.7 si les deux surfaces portent des groupements chargés de même signe et attractive (3) de la figure I.7 dans le cas contraire. L'épaisseur de la double couche, κ^{-1} , est inversement proportionnelle à la force ionique du milieu (concentration en ions de la phase aqueuse et valence de ces ions).

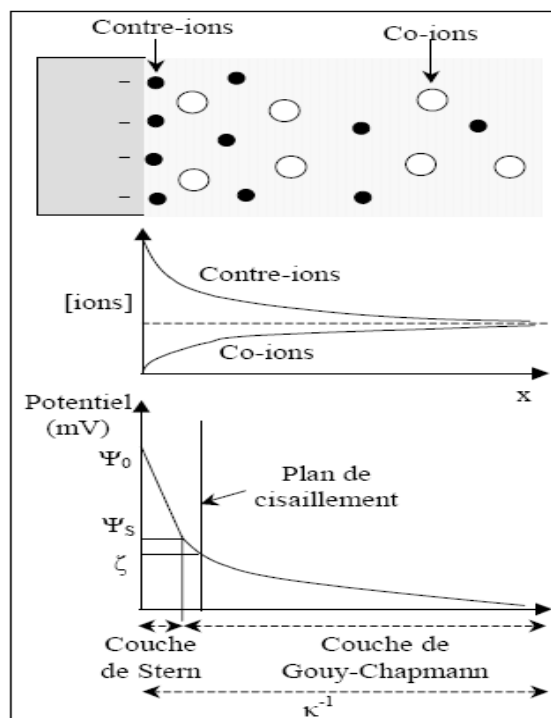


Figure I.8: Double couche électrique au voisinage d'une surface chargée avec Ψ_0 = potentiel de surface, ζ = le potentiel au plan de cisaillement, Ψ_s = le potentiel dans la couche de Stern, κ^{-1} = épaisseur de la double couche [143]

Le pH du milieu, par son influence sur le nombre de groupements dissociés présents en surface, intervient également dans l'intensité des forces d'interaction électrostatiques. Du fait de l'adsorption de contre-ions sur la surface chargée, le potentiel de surface (Ψ_0) chute jusqu'à Ψ_s dans la couche de Stern (figure I.8). Dans la couche diffuse, ce potentiel décroît plus lentement jusqu'à devenir nul. Si l'on provoque un mouvement relatif de la phase aqueuse par rapport à la surface, il apparaît un plan de cisaillement, situé dans la couche diffuse, au voisinage de la couche de Stern. En effet quand une particule chargée (colloïde) est en mouvement, seule une partie du liquide contenant les contre-ions s'accroche à elle. L'autre partie est déjà plus mobile. Le plan qui sépare ces deux types de comportements du liquide vis-à-vis de la particule est le plan de cisaillement. Quand un colloïde est en mouvement, il devient alors possible de mesurer la différence de potentiel entre la solution (potentiel nul car solution électriquement neutre) et le potentiel au plan de cisaillement. Il est inférieur à Ψ_s et n'est pas équivalent au potentiel de surface Ψ_0 (figure I.8) [145]. Le potentiel ζ peut être déterminé par des méthodes électrocinétiques, comme la mesure du potentiel d'écoulement.

Les forces d'attraction ou de répulsion entre deux ou plusieurs molécules constituent les forces de Van der Waals (1) de la figure I.7. Celles-ci se distinguent des liaisons chimiques par le fait qu'elles ne sont pas assez fortes pour donner lieu à des structures géométriques définies ; elles ne donnent lieu qu'à des édifices de dimensions variables, qui se font et se défont en permanence. Les forces de van der Waals résultent des interactions électriques entre molécules globalement neutres. Elles résultent de trois effets physiques différents :

- Interaction de Keesom entre dipôles

Il s'agit d'une attraction entre deux molécules polaires, c'est-à-dire d'une interaction dipôle-dipôle [146]. Le champ d'un dipôle tend à orienter les autres. Cet effet d'orientation se traduit par l'existence d'une énergie potentielle entre molécules.

- Interaction de Debye entre dipôle et dipôle induit

Une molécule non polaire, placée dans un champ électrique créé par une molécule polaire, se polarise et acquiert un moment dipolaire induit [147]. Ce moment dipolaire est proportionnel d'une part au champ électrique créé par la molécule polaire, et d'autre part à une grandeur caractéristique de la molécule non polaire, sa « polarisabilité ». La « polarisabilité » d'une molécule croît avec les dimensions de celle-ci.

- Interaction de London (ou de dispersion) entre dipôles induits

Même en l'absence de molécules polaires, il subsiste des interactions moléculaires très faibles appelées forces de London. Par suite des fluctuations de la position de ses électrons, la configuration électronique d'une molécule change continuellement. Une molécule quelconque présente donc, à certains instants, un moment dipolaire instantané, capable de créer un champ électrique et faire apparaître des dipôles induits en phase dans les molécules voisines [148].

Les forces de Keesom et Debye sont négligeables en milieu aqueux et seules les forces de London subsistent. Ces dernières sont communément nommées forces de Lifshitz-van der Waals **(1)** de la figure I.8.

➤ *Interactions à courtes distances*

Les interactions polaires sont des interactions que l'on trouve en milieu aqueux et qui sont liées à la capacité de l'eau à former des liaisons hydrogène.

A proximité des surfaces solides, les molécules d'eau s'organisent en une structure quasicristalline. Il en résulte la création de liaisons hydrogène entre :

- (i) entre les atomes électronégatifs des surfaces (O, Cl, F, N) et les atomes d'hydrogène de la molécule d'eau ;
- (ii) entre les atomes d'hydrogène des surfaces et l'atome d'oxygène de la molécule d'eau.

Une particule peut être hydrophile, c'est-à-dire capable d'intervenir dans des liaisons hydrogène, ou hydrophobe, c'est-à-dire incapable d'intervenir dans les liaisons hydrogène.

Dans le cas de surfaces polaires ou chargées, les groupements fonctionnels de la surface deviennent hydratés : ils s'associent avec les molécules d'eau par des liaisons hydrogène. L'interaction entre deux surfaces hydratées est une interaction répulsive **(5)** de la figure I.7. En effet, l'affinité de chacune de ces surfaces pour l'eau se traduit par l'existence d'une couche d'eau liée à la surface et organisée en réseau. Or, pour parvenir à un contact rapproché des deux surfaces, il est nécessaire que celles-ci libèrent les molécules d'eau associées en fournissant de l'énergie. Il en résulte une énergie de répulsion hydrophile, ΔG^{AB} , positive. Cette répulsion hydrophile est fonction de la nature des particules et de leur distance de séparation d . Elle varie avec d selon une loi exponentielle et est effective à des distances de l'ordre de 3 à 5 nm. Selon la théorie développée par Van Oss [149], dans le cas de particules hydrophiles, il est possible de distinguer celles qui ont des propriétés de surface acides (c'est-

à-dire accepteurs d'électrons) ou basiques (donneurs d'électrons) au sens de Lewis. Une répulsion hydrophile aura aussi lieu entre deux corps de « nature » identique.

Dans le cas où une surface solide ne porte pas de groupements fonctionnels ioniques ou polaires, ni de sites adéquats pour la formation de liaisons hydrogène, cette surface est inerte vis-à-vis de l'eau et est donc hydrophobe (4) de la figure I.7. Les molécules d'eau se trouvant à proximité de cette surface ont tendance à s'en éloigner pour s'entourer d'autres molécules d'eau. Dans le cas où ces molécules sont confinées entre deux surfaces hydrophobes, leur mouvement moyen en direction de la solution aqueuse favorise le rapprochement des surfaces. L'énergie d'attraction hydrophobe qui en résulte, ΔG^{AB} , est négative. Cette attraction hydrophobe est également fonction de la nature des particules et de leur distance de séparation d . Elle varie avec d selon une loi exponentielle et est effective à partir de distances de l'ordre de 10 nm.

Ces interactions spécifiques (6) de la figure I.7 interviennent dans le cas d'un milieu où des macromolécules sont présentes, ce qui se rapproche de la réalité biologique. La présence d'une couche adsorbée de polymères ou de tensioactifs sur les surfaces considérées peut influencer l'ensemble des interactions précédemment décrites en modifiant leur charge de surface ou leur affinité vis-à-vis de l'eau par exemple [150].

En outre, l'adsorption de ces macromolécules sur les surfaces peut conduire à un encombrement stérique qui empêche les molécules de se rapprocher trop près les unes des autres. Le potentiel d'interaction qui en résulte dépend à la fois de la densité des macromolécules adsorbées et de la longueur des chaînes. L'interaction est à priori répulsive mais peut devenir attractive par accrochage des polymères sur les deux molécules : on parle de pontage.

L'étude des paramètres influençant l'adhésion fait l'objet d'une grande partie de la littérature dédiée aux biofilms. Ainsi, de nombreux facteurs liés au microorganisme, au support ou à l'environnement ont été identifiés. Bien entendu, leur effet varie selon le microorganisme étudié et l'ensemble des paramètres les plus fréquemment étudiés est présenté le tableau I.4. Trois groupes relatifs aux microorganismes, au support et à l'environnement y sont également indiqués.

Tableau I.4 : facteurs influençant l'adhésion initiale d'un microorganisme sur une surface solide[143]

Facteurs	Propriété/caractéristique	Influence sur l'adhésion
Facteurs liés au microorganisme	Hydrophobicité	augmente sur supports hydrophobes
	Concentration	augmente
	Espèce	espèce dépendante
	Phase de croissance	généralement plus marquée en phase stationnaire
Facteurs liés au support	Rugosité	Variable
	Hydrophobicité	augmente quand la bactérie est hydrophobe
	Nature et charge du support	microorganisme dépendante
Facteurs environnementaux	Temps de contact	augmente
	Température du fluide	espèce dépendante
	Force ionique du fluide	espèce dépendante (une force ionique élevée diminue les répulsions électrostatiques)
	pH du fluide	espèce dépendante
	Contamination par l'atmosphère	variable (présence de carbone à la surface du support)
	Présence de macromolécules dans le fluide	variable (adsorption des macromolécules sur le support et changement de ses propriétés de surface (chimie, hydrophobicité, rugosité)

L'adhésion engendre chez les microorganismes une perception différente de son environnement. De nombreuses études s'intéressent à l'expression génique différenciant un microorganisme planctonique d'un microorganisme sessile [151]. Ce dernier induit des gènes spécifiques du métabolisme, de la communication, de protéines membranaires ou pariétales, très rapidement après s'être fixé. Ainsi, les facteurs cellulaires ne sont pas figés, ils sont susceptibles d'évoluer.

L'adhésion de *S. cerevisiae* sur des supports de charge variée : le verre, des polymères (polypropylène, polystyrène, PVC et PMMA) et des métaux (acier inoxydable et aluminium) ont été étudié par Mozes et ses collaborateurs [152]. Le verre et les polymères ont été utilisés tels quels ou après avoir subi un traitement par des ions ferriques, qui permet d'abaisser la charge négative du support ou même de l'inverser. En ce qui concerne le verre et les polymères non traités, aucune adhésion n'a été observée quel que soit le pH testé (donc 3 ou 5-6). En revanche, dans le cas de l'adsorption préalable d'ions ferriques, qui réduisent la charge négative des supports ainsi recouverts, une adhésion significative des levures a été observée. Les supports métalliques, quant à eux, sont également colonisés dans les mêmes conditions de pH sans nécessité de traitement préalable. A pH=6, l'adhésion observée est moins importante sur l'acier inoxydable (point isoélectrique=7) que sur l'aluminium (point isoélectrique=9). Par contre, on note que les expérimentations ont été menées dans des conditions de très faible force ionique (1 μ M), ce qui favorise ce type d'interactions.

Une hydrophobité de surface importante de *C. albicans* est souvent corrélée à une adhésion forte aux supports plastiques, par nature hydrophobes [153]. Les mêmes tendances sont observées lors de l'adhésion de *C. parapsilosis* au polystyrène [154].

La nature du cathéter (sonde introduite dans un organe ou un canal) peut influencer l'adhésion initiale du pathogène *C. albicans*. En effet, son aptitude à initier un biofilm est accrue sur un support en latex ou en silicone par rapport à un support en PVC [155]. En revanche, son adhésion est fortement diminuée sur polyuréthane [155]. La nature du support joue également sur la structure même du biofilm mature [156]. Gallardo-Moreno et ses collaborateurs [157] ont établi, pour *C. parapsilosis*, la relation entre la nature du support et le type de forces agissant sur l'adhésion initiale des levures. Ils ont montré que son adhésion au verre est régie par des interactions de Lifshitz-van der Waals alors que l'adhésion au silicone

est le fait des interactions acide-base de Lewis qui se mettent en place à courte distance entre le microorganisme et le support.

La rugosité du support est certainement le paramètre le plus discuté dans la littérature. Selon certains auteurs, la présence de « microcrevasses » peut favoriser l'adhésion en protégeant les microorganismes des phénomènes de cisaillement hydrodynamique. Pour d'autres, en revanche, la rugosité permet de réduire la surface de contact entre le microorganisme et le support, favorisant ainsi son détachement [158]. Mais les espèces étudiées, les supports et les méthodes d'évaluation de l'adhésion étant variés, il est difficile d'édicter des règles.

De nombreux auteurs ont montré l'implication des interactions électrostatiques dans l'adhésion microorganismes (levures) sur des supports variés [152,154,159]. Par exemple, Klotz et al. et Gallardo-Moreno et al. ont étudié l'adhésion d'espèces de *Candida* sur du polystyrène chargé négativement [154,159]. Les deux équipes ont observé qu'une augmentation de la force ionique conduit à un nombre de levures adhérees plus important, du fait de la diminution de la répulsion électrostatique entre la levure et le polystyrène.

La température joue, bien entendu, un rôle primordial dans le développement du biofilm, puisque, pour des températures éloignées de l'optimum, la vitesse de multiplication des cellules est ralentie. Gallardo-Moreno et ses collaborateurs ont rappelé que la température d'expérimentation doit être proche de la température optimale de croissance, sans quoi l'adhésion théoriquement attendue ne sera pas observée [157].

Une surface solide est souvent différente de ce que l'on attend sur la base de sa composition théorique car elle est systématiquement recouverte d'une couche de contamination carbonée du fait de la pollution atmosphérique [160].

Une surface exposée à une suspension de microorganismes peut également être significativement modifiée par l'adsorption préalable de composés macromoléculaires dissous dans les premières minutes suivant l'immersion. Ce phénomène pourrait être assimilé à une contamination supplémentaire de la surface, mais il est communément reconnu comme un conditionnement initial qui va modifier les propriétés du support (chimie, hydrophobicité,

rugosité), renforçant ou diminuant ainsi l'adhésion. Pour la majorité des auteurs, l'établissement de ce film « primaire » correspond à la première étape de formation du biofilm.

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1 Eaux de mer

II.1.1 Eaux de mer naturelle

Les eaux de mer naturelle utilisées dans cette étude ont été prélevées sur plusieurs sites : Crique Gabriel, Gosselin, Novotel, Mahury et Larivot. Mais les deux dernières (Mahury et Larivot) sont celles qui ont été sélectionnées, pour la majorité de nos travaux de recherche. Le fleuve Mahury est le sixième fleuve de Guyane par son débit, et est situé à 20 km au sud-est de Cayenne. Le port du Larivot, sur la commune de Matoury, dans l'estuaire de la rivière de Cayenne, est le principal port de pêche de la Guyane. Une photographie des deux sites est visible sur la figure II.1.

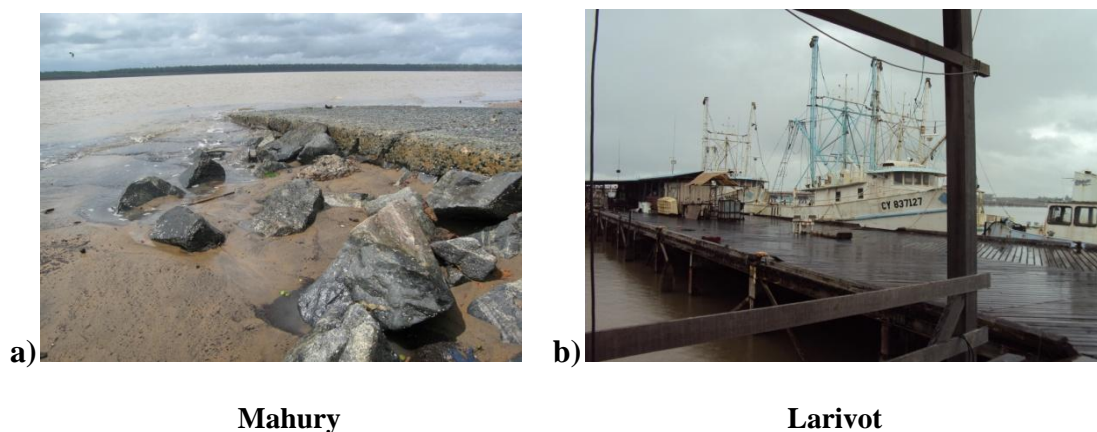


Figure II.1 : Photographie des deux sites : a) Mahury, b) Larivot

Tableau II.1: Composition physico-chimique des deux eaux de mer (A) 2/3 de marée montante, (B) marée descendante (début), (C) marée descendante (fin)

	(A) 2/3 de marée montante	
	Larivot	Mahury
Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$ à 25°C)	52000-52100	33100-33150
pH	7,9-8,2	7,8-8,1
Cl^- (mmole/l)	546-560	325-330
Na^+ (mmole/l)	426-442	269-290
Mg^{2+} (mmole/l)	51-58	29-32
Si^{2+} ($\mu\text{mole/l}$)	18,90-19,40	63-65
K^+ (mmole/l)	9-12	5-7
Ca^{2+} (mmole/l)	8-10	5-7
NO_3^- ($\mu\text{mole/l}$)	4-6	0,14-0,19
NH_4^+ ($\mu\text{mole/l}$)	2-4	0,55-0,60
PO_4^{3-} ($\mu\text{mole/l}$)	1,0-1,5	0,11-0,15

	(B) marée descendante (début)	
	Larivot	Mahury
Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$ à 25°C)	26300-26400	17730-17760
pH	7,2-7,5	7,4-7,6
Cl^- (mmole/l)	202-222	132-146
Na^+ (mmole/l)	175-205	117-127
Mg^{2+} (mmole/l)	20-24	14-16
Si^{2+} ($\mu\text{mole/l}$)	47,0-47,3	56-57
K^+ (mmole/l)	4-5	3-4
Ca^{2+} (mmole/l)	4-6	3,0-3,5
NO_3^- ($\mu\text{mole/l}$)	12,0-12,7	6-9
NH_4^+ ($\mu\text{mole/l}$)	0,02-0,03	1,0-1,4
PO_4^{3-} ($\mu\text{mole/l}$)	0,18-0,24	0,30-0,35
SO_4^{2-} ($\mu\text{mole/l}$)	11-13	8,2-8,6

	(C) marée descendante (fin)	
	Larivot	Mahury
Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$ à 25°C)	15630-15650	4040-4090
pH	7,2-7,5	7,4-7,6
Cl^- (mmole/l)	125-140	33-33,2
Na^+ (mmole/l)	100-120	24-28
Mg^{2+} (mmole/l)	2,5-3	11-13
Si^{2+} ($\mu\text{mole/l}$)	57-59	49-100
K^+ (mmole/l)	0,62-0,65	3-4
Ca^{2+} (mmole/l)	0,61-0,63	14-16
NO_3^- ($\mu\text{mole/l}$)	5-6	6-9
NH_4^+ ($\mu\text{mole/l}$)	5-8	1,0-1,5
PO_4^{3-} ($\mu\text{mole/l}$)	0,18-0,23	0,08-0,09
SO_4^{2-} ($\mu\text{mole/l}$)	1,7-2,2	7,0-7,5

Le tableau II.1 représente la composition physicochimique des deux eaux de mers prélevées à différentes périodes en fonction de la marée. Les analyses physicochimiques ont été réalisées à l'IRD de Guyane, au Laboratoire des Moyens Analytiques de Cayenne (LAMA), et les résultats sont représentés dans le tableau II.1. L'eau de mer artificielle a également été reconstituée (tableau II.2). Le pH et la conductivité électrique ont été mesurés avec l'appareil WTW inoLab et la concentration en cations (Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+) par flux continu (Technicon II) en utilisant les spectrophotomètres Methrom ou Secoman1000. Les

ions chlorures ont été dosés par fluorimétrie, les nitrites par la méthode basée sur la réaction de Griess appliquée à l'eau de mer par Bendschneider et Robinson. Ensuite la méthode de Koroleff [161] a été utilisée pour doser l'ammonium et enfin la méthode de Murphy Riley pour quantifier les phosphates et la silice.

La figure II. 2 montre la hauteur de la marée en fonction du temps au moment du prélèvement des eaux de mer. De cette dernière et du tableau II.1, il ressort que la composition physico-chimiques des eaux de mer, varient selon la date de prélèvement (indiqué ici par des petites cercles) et moment de la marée. Comme attendu, la valeur de conductivité et la concentration en ions sont plus importantes à marée montante.

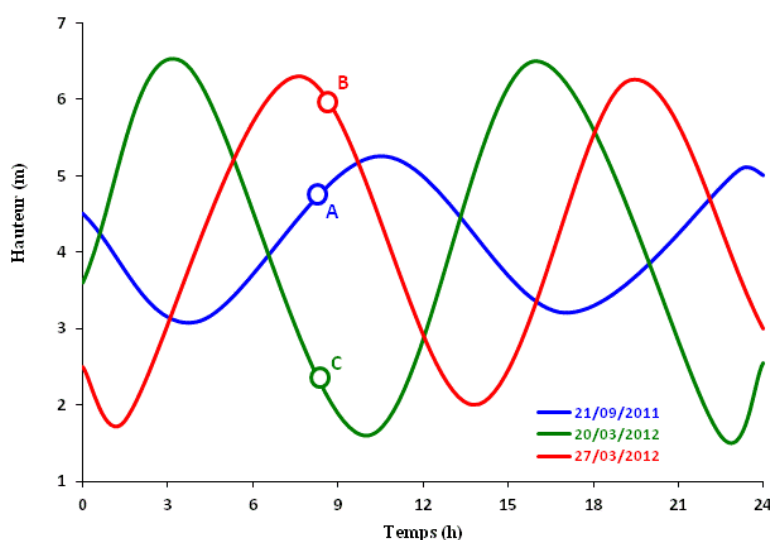


Figure II.2 : Hauteur de la marée en fonction du temps au moment du prélèvement des eaux de mer

II.1.2 Eau de mer artificielle

L'eau de mer artificielle a été préparée selon la norme ASTM D1141-90 [4]. La composition de l'eau pour 1L est : 24,53 g NaCl ; 11,11 g MgCl₂ · 6H₂O ; 4,09 g Na₂SO₄ ; 1,16 g CaCl₂ · 2H₂O ; 0,695 g KCl ; 0,020 g NaHCO₃ ; 0,101 g KBr ; 0,027 g H₃BO₃ ; 0,042 g SrCl₂ · 6H₂O ; 0,003 g NaF ; eau ultra pure milliQ. Le pH est ajusté à 8,0 avec de la soude (0,1M). La composition chimique finale de l'eau de mer artificielle ainsi reconstituée est donnée dans le tableau II.2.

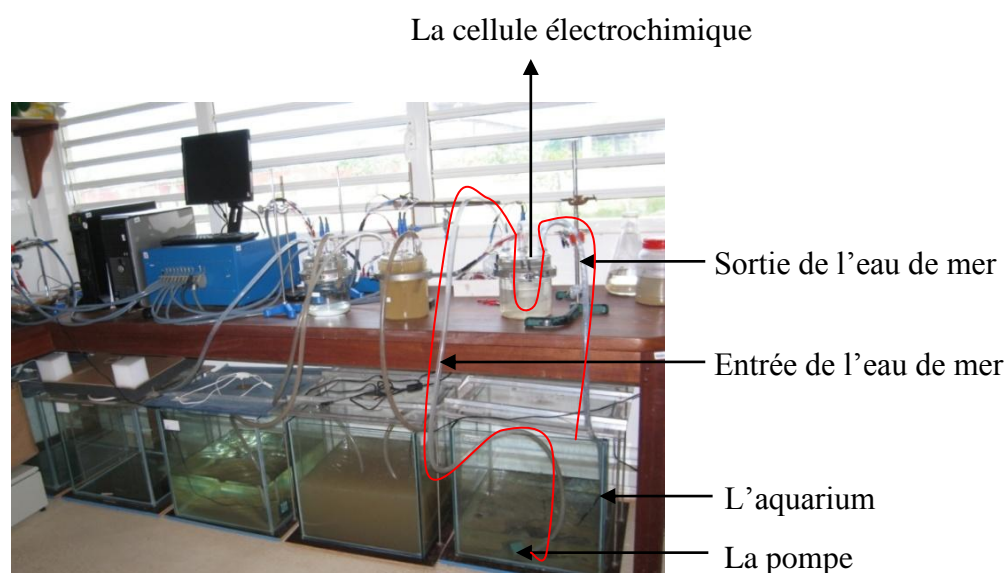
Tableau II.2: Composition de l'eau de mer artificielle reconstituée

Composé	Concentration	
	En mol l ⁻¹	En g.l ⁻¹
NaCl	4,2 10 ⁻¹	24,530
MgCl₂	4,8 10 ⁻²	5,200
NaHCO₃	2,9 10 ⁻²	4,090
CaCl₂	1,0 10 ⁻²	1,160
KCl	9,3 10 ⁻³	0,695
NaHCO₃	2,4 10 ⁻³	0,201
KBr	8,5 10 ⁻⁵	0,101
H₃BO₃	4,4 10 ⁻⁴	0,027
SrCl₂	1,6 10 ⁻⁴	0,025
NaF	7,1 10 ⁻⁵	0,003

II.2 Dispositifs expérimentaux

II.2.1 Montage dynamique

Pour les expériences en eau de mer en système dynamique, nous avons utilisé un dispositif de circulation, exposé à la luminosité et en milieu ambiant du laboratoire. Une photographie du montage est présentée sur la figure II.3.


Figure II.3: Photographie du montage à eau de mer en système dynamique dans les enceintes

Un "aquarium" a été rempli d'un volume de 40 litres d'eau de mer, des tuyaux en plastique relient la pompe immergée dans l'eau de l'aquarium à la cellule électrochimique (3,5 litres). La vitesse de circulation est de l'ordre de 2 L/min.

Un fil de platine maintient l'échantillon et assure un contact électrique entre l'électrode et la pince crocodile. La figure II.5 présente le montage de la cellule électrochimique en verre, d'une contenance de 3,5 litres, avec toutes les électrodes.

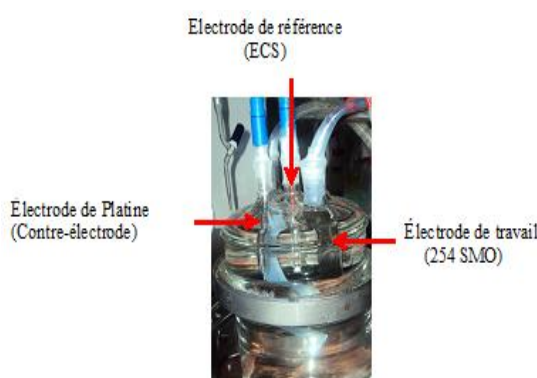


Figure II.4: Photographie de la cellule électrochimique en verre

II.2.2 Montage statique

Le montage dit à « eau de mer en système statique » consiste en un récipient (saladier) pouvant contenir 3 litres d'eau de mer naturelle (Figure II.4). Ce montage constitue également notre cellule électrochimique. La température de l'eau est celle de l'air ambiant (25°C). L'eau n'est pas renouvelée.

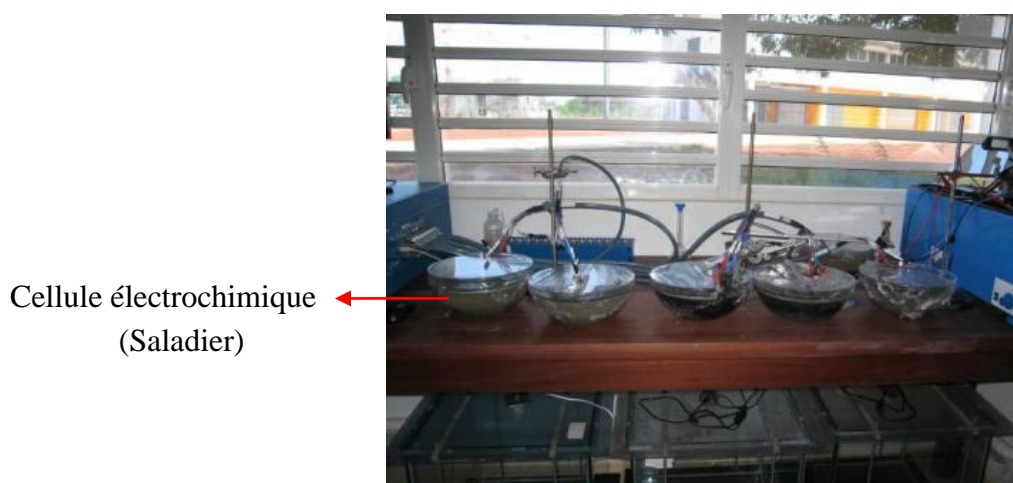


Figure II.5 : Photographie du montage statique dit à « eau de mer en système statique »

II.3 Matériaux

II.3.1 Échantillons de laboratoire

Pour effectuer cette étude, nous avons utilisé l'acier inoxydable 254 SMO d'épaisseur 1 mm et de dimension 80 X 20 mm et du cuivre pur de dimension 50 X 50 mm comme électrodes travail. Sur l'acier, nous avons étudié 3 états de surface différents :

- Brut d'usinage
- Poli à l'aide des papiers abrasifs de carbure de silicium (SiC) avec des grains de plus en plus fin (180-360-800-1200)
- Micro-structuré (5microns) par grenaillage d'où l'appellation alliage "grenaillé" utilisée.

L'acier "grenaillé" est utilisé afin d'évaluer l'impact de l'état de la surface sur l'adhésion des biofilms. Le grenaillage effectué sur l'acier consiste en la projection à grande vitesse et en continu, jusqu'à 100 m/s, de petites billes d'acier, de verre ou de céramique, sur la surface des pièces à traiter. Son avantage est qu'elle neutralise les défauts de surfaces brutes de fonderie.

La figure II.6 montre les images des différents métaux (électrodes de travail) observées à l'aide du MEBE avant immersion et le tableau II.3 montre la composition chimique en pourcentages massiques de ces derniers. Les échantillons ont été fournis par la société CEAEA Saclay. L'électrode au calomel saturée en KCl (ECS) est utilisée comme électrode de référence. Enfin, l'électrode de platine joue le rôle de la contre électrode. La figure II.6.a montre quelques défauts de surface de l'acier inoxydable, après polissage (figure II.6.b) on observe une surface lisse. L'acier "grenaillé" présente une surface hétérogène en composition avec des zones différentes, indiquées ici en 1 et 2 (figure II.6.c). L'hétérogénéité provient de l'accrochage irréversible de particules d'alumine liées au procédé de grenaillage. Le matériau est donc en surface "biphasé". Les particules d'alumine sont réparties de façon homogène sur la surface des échantillons. Elles couvrent environ 25 à 35% de la surface. Bien que ce matériau diffère très sensiblement (en composition de surface) du 254 SMO brut ou poli, nous avons choisi d'étudier également son comportement électrochimique. La surface du métal de cuivre pur quant à elle, est homogène (figure II.6.d).

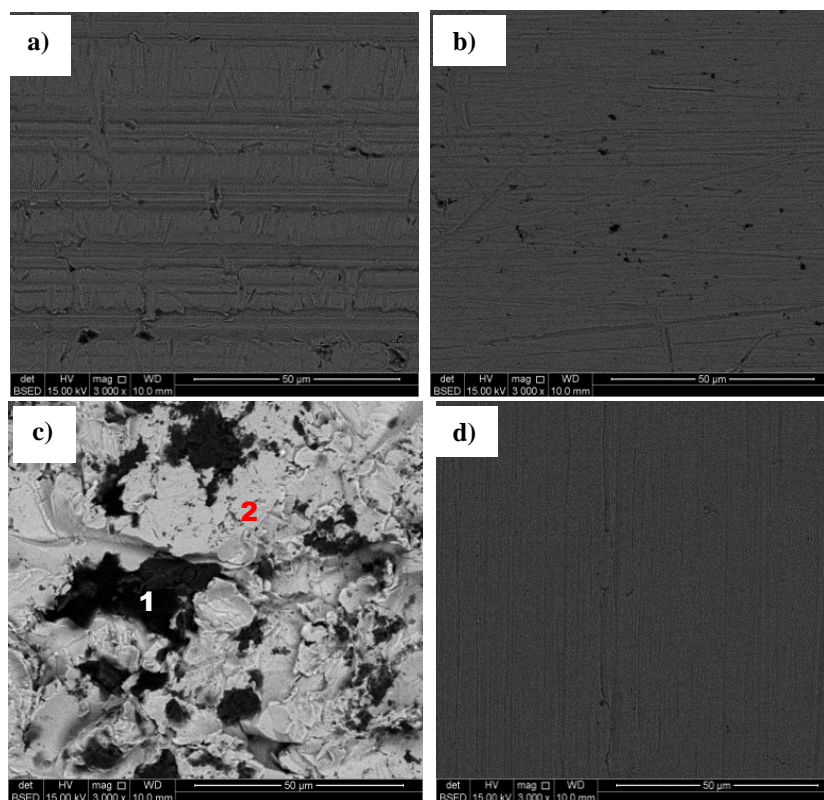


Figure II.6 : Images observées à l'aide du MEBE de chaque métal avant immersion : a) acier inoxydable 254 SMO brute, b) acier inoxydable 254 SMO poli, c) acier inoxydable 254 SMO grenailé, d) cuivre pur.

Tableau II.3 Composition chimique en pourcentage de masse des électrodes de travail

% en masse		Cu	Al	O	Ni	Cr	Mo	C	Fe	Si
254 SMO (a et b)		/	/	/	16,87	20,19	6,52	1,67	54,10	0,65
254 SMO grenailé (c)	1	/	61,62	38,38	/	/	/	/	/	/
	2	/	/	/	16,32	20,15	6,49	2,55	53,93	0,56
Cuivre pur (d)		100	/	/	/	/	/	/	/	/

II.3.2 Échantillons pour les mesures *in situ*

Les échantillons utilisés pour les suivis du potentiel d'abandon *in situ* sont des plaques d'aciers inoxydables 254 SMO de dimension 80 X 20 X 1 mm. Ces aciers diffèrent de par la nature de leur surface ("polie", "grenailée", "brute") et également par la composition de surface concernant la surface "grenailée". Chaque plaque est fixée au porte-échantillon en polymère. Les échantillons sont passés au préalable au bain à ultra-sons dans un mélange eau

distillée/éthanol, ensuite ils sont rincés à l'eau distillée. Les photographies du montage (avant et pendant immersion) sont représentées sur la figure II.7.

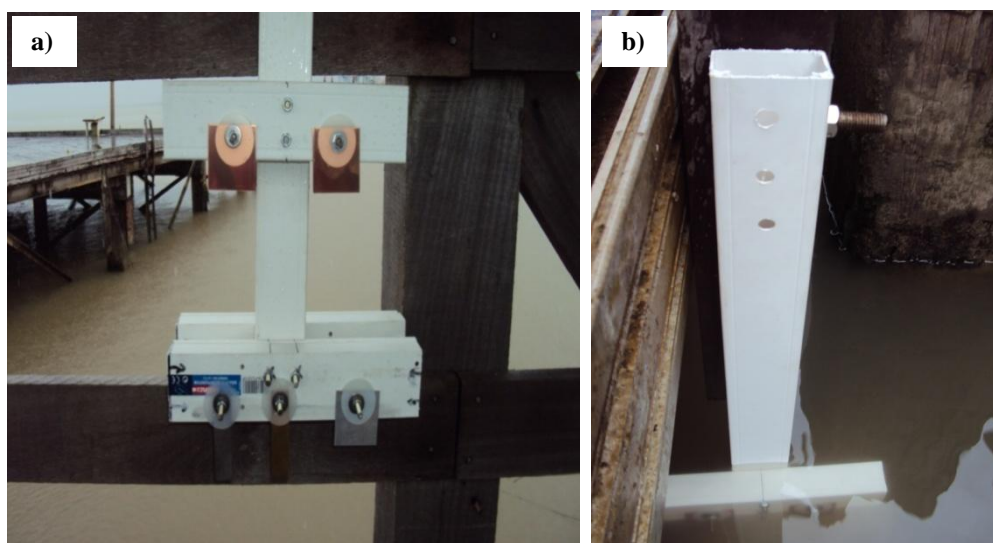


Figure II.7: Photographies du montage a) avant immersion, b) en immersion

II.4 Techniques électrochimiques

II.4.1 Mesure du potentiel d'abandon

La mesure du potentiel d'abandon est l'une des techniques électrochimiques les plus simples permettant de suivre l'évolution du potentiel d'un matériau immergé dans un milieu. Elle consiste à mesurer la différence de potentiel entre le matériau lui-même et une électrode de référence. La valeur et le signe du potentiel dépendent de la composition du matériau, de la température et de l'hydrodynamique de l'électrolyte [162].

Les expériences électrochimiques ont été réalisées à l'aide d'un potentiostat (Bio-Logic S.A., France) piloté par le logiciel ECLab, version 10.12., en laboratoire, et à l'aide d'un multimètre BK TOOL KIT 2706 A sur le terrain.

II.4.2 Spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE)

La spectroscopie d'impédance électrochimique « SIE » est une technique non destructive adaptée à l'étude des propriétés électriques interfaciales [163,164]. Elle permet de différencier les divers phénomènes susceptibles de se produire dans la cellule électrochimique

(Figure II.8) en fonction de la fréquence : les phénomènes rapides se produisent à hautes fréquences, tandis que les phénomènes lents ont lieu à basses fréquences [165].

Différents processus électrochimiques sont observés à l'interface métal/électrolyte : le transfert de charge qui a lieu entre l'interface et le métal défini comme un phénomène rapide et le transport de matière qui a lieu entre l'interface et l'électrolyte, défini comme un phénomène plutôt lent. L'interface est également le lieu où se retrouvent les produits de corrosion, des réactions chimiques conduisant à l'adsorption et à la désorption de molécules au niveau de l'interface (figure II.8).

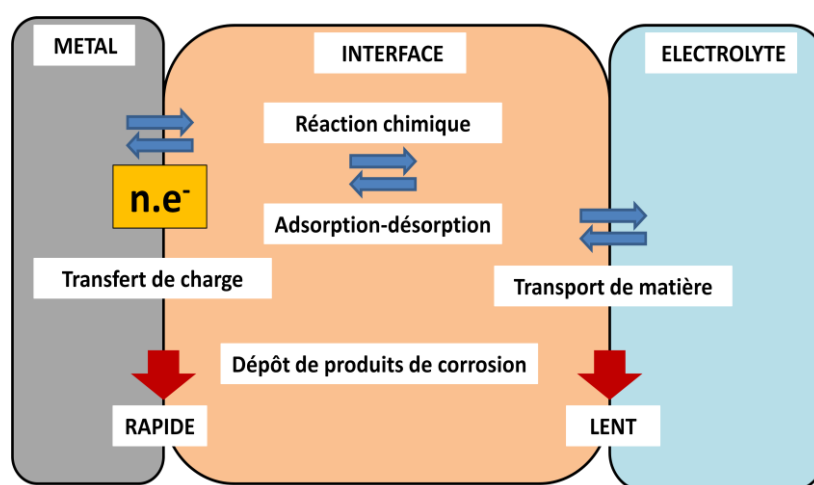


Figure II.8: Différents processus électrochimiques à l'interface métal/électrolyte
(d'après Nadine Perbère , com. Pers.)

Lors de cette étude, les mesures ont été effectuées autour du potentiel d'équilibre à l'aide d'un signal de 10 mV d'amplitude sinusoïdale pour des fréquences allant de 100 kHz à 10 MHz.

Principe

Cette méthode consiste à mesurer la réponse de l'électrode face à une modulation sinusoïdale de faible amplitude du potentiel $\Delta E(t)$ en fonction de la fréquence f . En effet, les systèmes électrochimiques sont en général des systèmes non linéaires et non stationnaires. Leur étude en régime dynamique périodique peut toutefois être effectuée autour d'un point de fonctionnement (E_0, I_0) , que l'on suppose quasi stationnaire, en utilisant des signaux de faible amplitude pour lesquels le comportement du système peut être

linéarisé et pendant une durée déterminée au cours de laquelle il n'existe pas d'évolution observable du système. Dans ces conditions, le comportement du système peut être assimilé à celui d'un Système Linéaire Invariant dans le Temps (SLIT) (figure 9) [166-168].

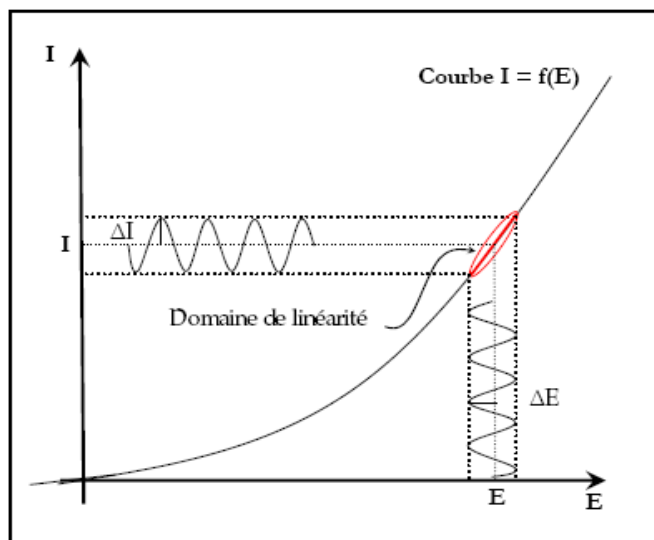


Figure II.9 : Principe de la linéarisation d'un système électrochimique non linéaire soumis à une perturbation sinusoïdale autour d'un point de fonctionnement

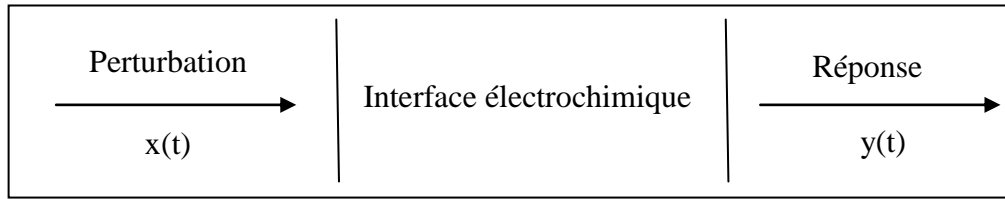
Un SLIT est caractérisable expérimentalement par le graphe $H(\omega)$ de sa fonction de transfert $H(p)$ (p étant l'opérateur de Laplace) qui est indépendante de la forme et de l'amplitude du signal d'excitation utilisé pour son tracé. Le comportement d'un système électrochimique non linéaire est caractérisé par l'ensemble des graphes $H(\omega)$ de sa fonction de transfert mesurés le long de sa courbe courant-tension stationnaire. La fonction de transfert est l'impédance d'électrode $Z(\omega)$ lorsque le système est commandé en courant et l'admittance d'électrode $Y(\omega) = 1/Z(\omega)$ lorsqu'il est commandé en tension.

Le système électrochimique peut en effet être considéré comme une "boîte noire" qui réagit en émettant un signal $y(t)$ quand il est soumis à une perturbation $x(t)$ (figure 10).

Les deux signaux sont alors reliés par une fonction de transfert $H(\omega)$ telle que :

$$Y(\omega) = H(\omega) X(\omega)$$

$X(\omega)$ et $Y(\omega)$ étant respectivement les transformées de Fourier de $x(t)$ et $y(t)$.

**Figure II.10 : Schéma d'une fonction de transfert**

Classiquement, la perturbation appliquée sur la composante continue de la tension est sinusoïdale. Elle est fournie par un générateur programmable en fréquence ; le dispositif expérimental étant le même que celui de la figure 10 mais comprend également un analyseur de fonction de transfert. L'expression totale de la tension est donnée par : $E = E_0 + |\Delta E| \sin(\omega t)$; ω étant la pulsation ($\omega = 2\pi f$)

La réponse en courant sinusoïdal obtenu après un temps de relaxation, se surimpose alors au courant continu de polarisation I_0 qui définit l'état stationnaire étudié, avec un déphasage φ entre ΔE et ΔI . Son expression est de la forme suivante :

$$I = I_0 + |\Delta I| \sin(\omega t + \varphi)$$

Pour chaque fréquence d'excitation, l'impédance $Z(\omega)$ autour du point de fonctionnement (I_0, E_0) se définit alors comme étant le rapport entre le signal de perturbation et la réponse associée :

$$Z(\omega) = \frac{\Delta E(\omega)}{\Delta I(\omega)} = \frac{|\Delta E|e^{j\omega t}}{|\Delta I|e^{j(\omega t - \varphi)}} = |Z|e^{j\varphi}$$

L'impédance $Z(\omega)$ est un nombre complexe caractérisé par son module Z et sa phase φ . Il peut être écrit sous la forme :

$$Z(\omega) = Z_{\text{Re}}(\omega) + j Z_{\text{Im}}(\omega) \text{ avec } j = \sqrt{-1}$$

L'analyse en fréquence de l'impédance électrochimique permettra de différencier les divers phénomènes élémentaires en fonction de leur fréquence caractéristique (ou constante de temps). Chaque processus perturbé revient à l'état stationnaire avec son propre temps de réponse. Les réactions partielles se produisant à l'interface électrode/électrolyte peuvent donc être différenciées les une des autres : Les phénomènes électrochimiques rapides (transfert de charge) sont sollicités dans le domaine des hautes

fréquences, tandis que les phénomènes lents (transport de matière : diffusion, adsorption) se manifestent à basses fréquences.

Plusieurs types de diagrammes sont utilisés pour représenter l'impédance électrochimique $Z(\omega)$. Le diagramme de Nyquist est obtenu en traçant dans le plan complexe l'impédance graduée en pulsation ω ou en fréquence. Les électrochimistes, à la différence des électriciens, portent l'opposé de la partie imaginaire de l'impédance $-Z_{\text{Im}}(\omega)$ en fonction de sa partie réelle $Z_{\text{Re}}(\omega)$. Les diagrammes de Bode (module et phase) sont eux obtenus en traçant respectivement $\log |Z(\omega)|$ et la phase en fonction de $\log(\omega)$ ou $\log(f)$. Ces deux modes de représentation de l'impédance donnent des visualisations des résultats différentes mais restent complémentaires. La présentation de Bode sera préférée lorsque des informations observées à haute fréquence sont masquées par la représentation de Nyquist. Elle permet de mieux visualiser les points d'inflexion du module de l'impédance, les variations de phase ainsi que les différentes constantes de temps des phénomènes mis en jeu. A l'inverse, l'identification de certains phénomènes caractéristiques se déroulant à l'interface électrode de travail/électrolyte sera facilitée par la représentation de Nyquist qui permet de déterminer des paramètres tels que la résistance de l'électrolyte (R_e), la résistance de transfert de charge (R_{ct}) et la capacité de double couche (C_{dc}).

L'impédance d'un système électrochimique, quel qu'il soit, peut en effet être assimilée par analogie à une impédance électrique. On peut donc associer à ce système un circuit électrique équivalent ou (CEE) où chaque phénomène physico-chimique se déroulant à l'interface métal/électrolyte peut être modélisé par un composant électrique.

Signalons toutefois que l'interprétation des diagrammes d'impédance expérimentaux par l'intermédiaire de CEE doit respecter deux conditions :

- tous les éléments du circuit doivent avoir une signification physique précise, associée aux propriétés physiques du système ;
- le spectre simulé à partir du CEE doit être le plus fidèle possible au spectre expérimental et l'erreur ne doit pas présenter de caractère systématique en fonction de la fréquence.

En régime dynamique, une interface électrode/électrolyte simple se comporte comme un condensateur appelé condensateur de double couche interfaciale et noté C_{dc} ; cette

double couche étant décrite par trois principaux modèles : Helmotz, Gouy-Chapman et Stern [169,170]. Le comportement en régime dynamique d'une réaction redox en l'absence de gradient de concentration des espèces électroactives est donc analogue à celui du circuit électrique de la figure 11, appelé circuit de Randles généralisé.

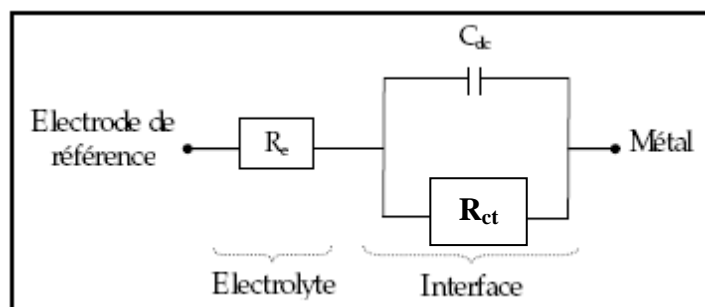


Figure II.11 : Circuit de Randles d'une interface électrochimique simple (cas d'une réaction redox avec transfert de charge sans diffusion).

Ce circuit comprend également la résistance de transfert de charges impliquées dans la dissolution (R_{ct}), ainsi que la résistance de l'électrolyte (R_e) qui représente la chute ohmique dans l'électrolyte entre les électrodes de travail et de référence lorsqu'un courant passe. Notons que C_{dc} et R_{ct} sont introduites en parallèle pour rendre compte du fait que le courant total traversant l'interface est la somme des contributions distinctes du processus faradique (courant faradique qui correspond au transfert d'électrons à travers l'interface dû aux réactions électrochimiques) et de la charge de double couche (courant capacitif qui est dû à la modification de la répartition des charges électriques à l'interface).

Le courant existe même en l'absence d'une réaction électrochimique à l'interface). Le graphe de Nyquist correspondant à ce circuit de Randles est représenté dans la figure 12.

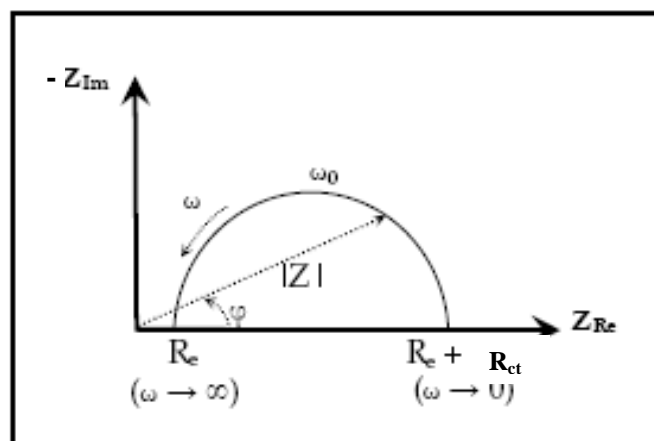


Figure II.12 : Diagramme de Nyquist d'un circuit RC parallèle (réaction avec transfert de charge sans diffusion). La flèche indique le sens des fréquences croissantes

Pour les valeurs $\omega = 0$ et $\omega = \infty$, la partie imaginaire de l'impédance totale s'annule, ce qui permet de déterminer les valeurs de R_t et de R_e . La valeur de la capacité de double couche est quant à elle obtenue par l'équation :

$C_{dc} = \frac{1}{\omega_0 R_t}$, avec $\omega_0 = 2\pi f_0$; f_0 étant la fréquence pour laquelle $-Z_{im}$ atteint un maximum sur le diagramme de Nyquist. Cette fréquence de coupure permet de définir les différentes constantes de temps du circuit.

II.4.3 Méthode voltampérométrique

La voltampérométrie consiste à imposer entre l'électrode de travail et l'électrode de référence, une rampe de potentiel (variation linéaire dans le temps) à partir d'une valeur initiale (généralement le potentiel d'abandon), et à mesurer le courant entre l'électrode de travail et la contre-électrode. On trace ainsi une courbe du courant en fonction du potentiel, appelée courbe de polarisation, qui donne des informations sur les processus électrochimiques mis en jeu.

Une courbe courant-potentiel stationnaire est obtenue point par point : à chaque potentiel imposé, la valeur n'est relevée qu'une fois stabilisée. Dans la pratique, on impose une vitesse de balayage suffisamment lente pour pouvoir considérer le système étudié comme quasi-stationnaire. Ici des vitesses de balayage sont de 5 mV s^{-1} et 1 mV s^{-1} afin de pouvoir comparer nos résultats avec ceux obtenus dans la littérature vers les potentiels entre - 0,2 et 1,2 V par rapport à SCE [171]. Dans certains cas, il est possible de déterminer un courant de corrosion à partir d'une courbe courant-potentiel (droites de Tafel) [172-174].

II.5 Technique d'observation et de caractérisation du biofilm

II.5.1 La microscopie à épifluorescence

La microscopie à épifluorescence est une technique idéale pour observer la colonisation de la surface d'une électrode par un biofilm. Les biofilms adhérents aux électrodes sont colorés au DAPI (4,6-diaminophénylindole) ou à l'acridine orange, méthode dérivée de celle qui est décrite par Hobbie et al [175]. L'acridine orange se fixe à l'ADN et à l'ARN alors que le DAPI se lie spécifiquement à l'ADN. Les bactéries colorées par l'acridine (Sigma : A6014) sont excitées ($\lambda_{\text{excitation}} = 490 \text{ nm}$) et émettent aux longueurs d'ondes suivantes : $\lambda_{\text{émission}} = 530 \text{ nm}$ (vert) pour l'ADN ; $\lambda_{\text{émission}} = 630 \text{ nm}$ pour l'ARN (rouge).

Les bactéries sont observées avec une lentille X20 (EC plan-NEOFLUAR 20x0.50, Zeiss) sur un microscope Axio Imager M2 (Zeiss) équipé pour l'épifluorescence avec une lampe aux halogénures métalliques (HXP 120, Zeiss) Figure II.13.

Des coupes précises des échantillons ont pu être obtenues dans le plan z grâce à un système de découpe optique (Apotome.2, Zeiss) associé à une caméra digitale (AxioCam MRm, Zeiss). Un logiciel de traitement d'image a permis de réaliser des images composites de toutes les coupes en z sur un seul plan (Axio Vision release 4.2.8, Zeiss).

Les images obtenues sont en noir et blanc. Les tâches blanches indiquent les zones de l'électrode colonisée. Des colorations ont été effectuées grâce au logiciel de traitement d'images Axio Vision release 4.2.8.

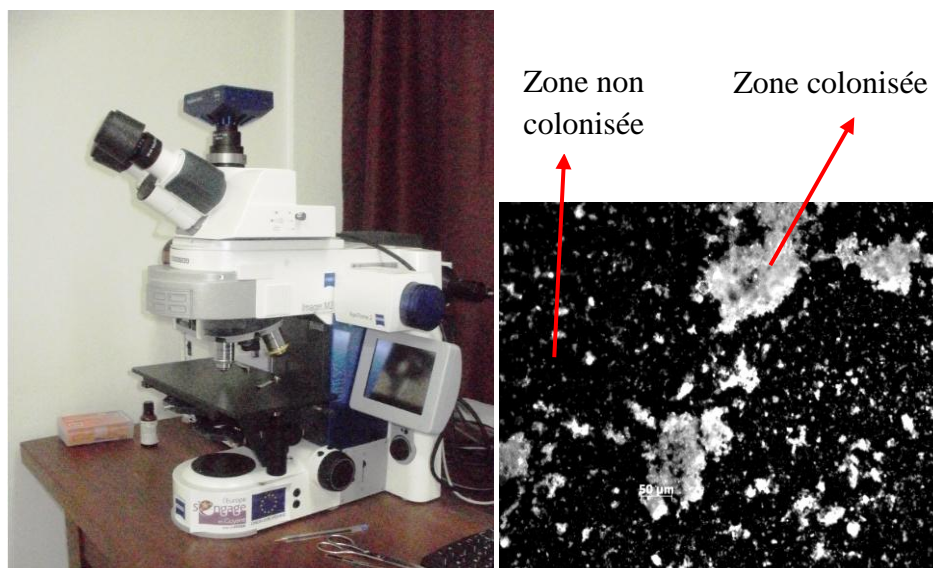


Figure II.13 : Microscope à fluorescence Zeis avec ApoTome.2 associé à une caméra digitale (AxioCam MRm)

II.5.2 La microscopie électronique à balayage environnemental (MEBE)

Le microscope électronique à balayage environnemental qui a été utilisée est le Quanta 250 de la compagnie FEI (figure II.14). Le microscope Quanta 250 a permis de réaliser des micrographies des biofilms présents sur la surface des électrodes. Il fonctionne selon trois modes de vide :

- Haut vide ($<1,3 \cdot 10^{-4}$ Pa) pour des échantillons conducteurs préparés de façon conventionnelle
- Faible vide (de 10 à 130 Pa) pour des échantillons isolants sans préparation
- Mode Environnemental (de 10 à 2600 Pa) pour des échantillons hydratés et/ou vivants sans préparation.

Ce microscope permet d'imager la surface avec une résolution nanométrique et d'effectuer des micro-analyses chimiques sur tout type d'échantillons. Résolution : 3 nm pour les trois modes de vide et grossissements : de 6x à plus de 1.000.000x.



Figure II.14 : Photographie du microscope électronique à balayage environnemental du L3MA

II.5.2.1 Principe physique

La surface de l'échantillon est balayée par un faisceau d'électrons qui va interagir avec la matière (figure II.15). Cette interaction électrons-matière engendre l'émission de particules et de rayonnement. L'acquisition, par des détecteurs appropriés, des différents signaux émis permet d'étudier la topographie, la microstructure et la composition chimique de la surface.

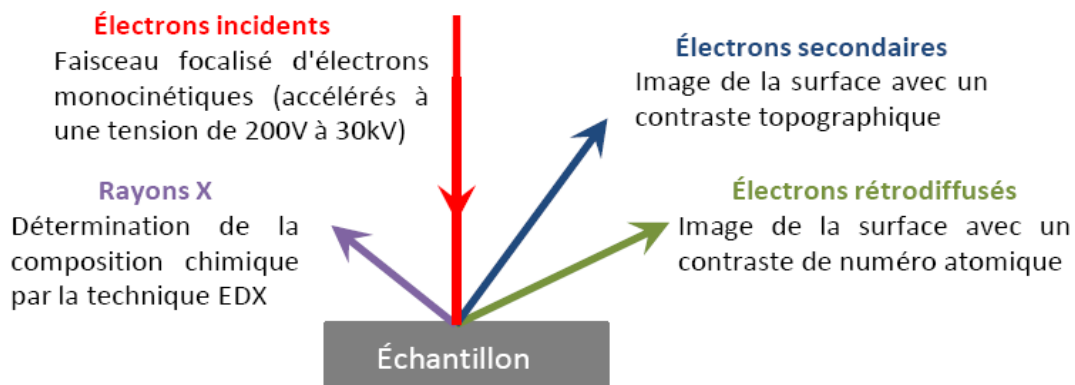


Figure II.15: Schéma explicatif du principe physique de la microscopie électronique à balayage

II.5.2.2 Imagerie

Le Quanta 250 dispose de détecteurs (électrons secondaires et électrons rétro-diffusés) dédiés pour chacun des modes de vide, ce qui permet d'obtenir des images avec un contraste topographique et de numéro atomique sur tout type d'échantillons.

Les électrons secondaires sont émis à partir de la surface du matériau (10nm) et l'émission est d'autant plus importante que le relief est accentué. La détection des électrons secondaires permet de réaliser des images avec un contraste topographique.

Les détecteurs d'électrons secondaires utilisés sont :

- Everhart-Thornley (ETD - mode haut vide)
- Large Field (LFD - mode low vacuum)
- Gaseous secondary electron (GSED - mode environnemental)

Les électrons rétrodiffusés émis lors de l'interaction électrons-matière sont sensibles au numéro atomique des éléments composant l'échantillon. Ainsi, les éléments légers engendreront l'émission de moins d'électrons rétrodiffusés (ils apparaîtront sombres sur l'image) que les éléments lourds (qui apparaissent plus clairs à l'image). On peut donc obtenir des images avec un contraste de phase et déterminer le taux de couverture d'une phase sur l'autre.

Détecteurs d'électrons rétro-diffusés :

- Backscattered electron (BSED - mode haut vide et low vacuum)
- Gaseous analytical (GAD - mode haut vide, low vacuum et environnemental)

II.5.2.3 Mode environnemental

L'atout majeur du Quanta 250 est qu'il permet l'observation haute résolution dans des conditions dites environnementales avec une pression de gaz dans la chambre pouvant aller jusqu'à 26 mbar. Le mode environnemental permet, grâce à des pressions élevées, de supprimer totalement les effets de charge sur l'échantillon même pour les plus isolants et d'observer des objets hydratés et/ou vivants sans les détériorer. De plus, si on combine ce mode d'observation avec un étage Peltier permettant de refroidir les échantillons entre 0°C et 10°C, il devient possible de visualiser et d'analyser des échantillons dans des conditions d'humidité relative (jusqu'à 100% d'humidité).

La figure II.16 représente le diagramme de phase pression en fonction de la température pour l'eau, on note que la microscopie électronique à balayage environnementale nécessite une pression allant de 600 à 1200 Pa avec une température comprise entre 0 et 10°C.

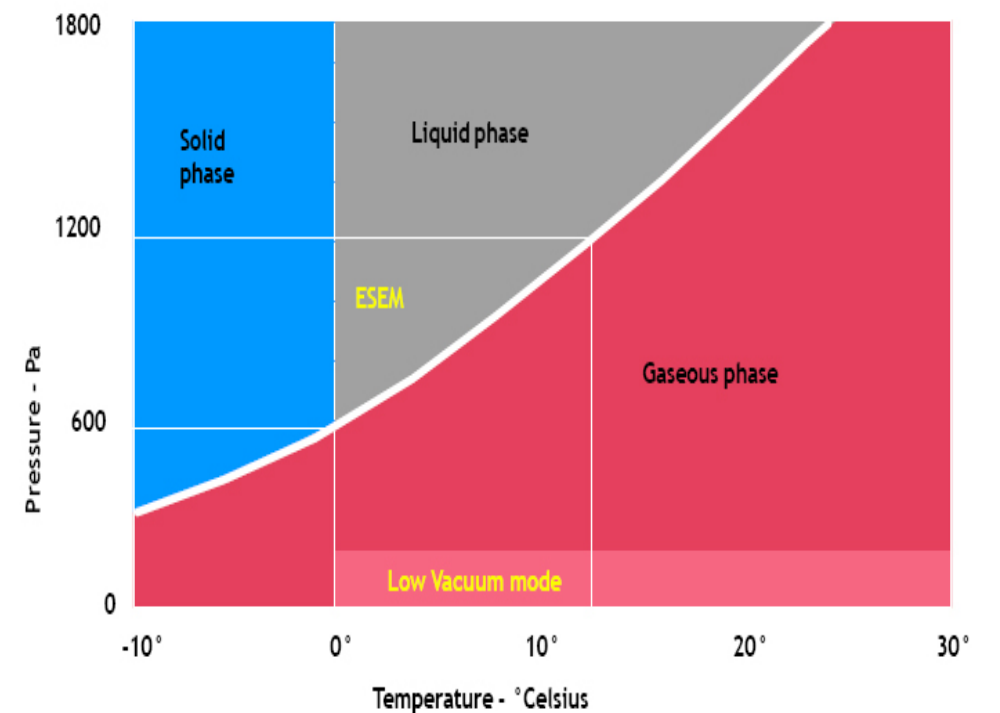


Figure II.16 : Le diagramme de phase pression en fonction de la température pour l'eau.

L'excitation des atomes présents dans le matériau par interaction avec les électrons incidents conduit à l'émission de photons X (désexcitation). Ces photons sont détectés par un détecteur « solide » semi-conducteur. L'intensité du pic est proportionnelle à la quantité de photons émis et donc au nombre d'atomes. Il s'agit d'une analyse quantitative. Le calcul des concentrations est effectué à partir du principe d'une répartition homogène des particules dans le volume analysé.

Notre système (EDAX GENESIS APEX 2i) avec Détecteur SDD (Silicon Drift Detector) sans azote liquide a permis de réaliser des spectres EDX et donc d'effectuer des analyses chimiques qualitatives et quantitatives et des cartographies X avec une très bonne résolution spatiale.

II.6 Technique de la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)

L'analyse des populations microbiennes des biofilms prélevés sur les électrodes est réalisée au laboratoire EGLAB (UMR ECOFOG). Le détachement des biofilms formés sur les électrodes s'est fait à l'aide d'un étaleur stérile puis le biofilm est gratté et mis en solution dans une solution saline stérile (20mL). Pour être lavé, le biofilm en suspension est centrifugé

pendant 20 minutes puis resuspendu dans un volume de tampon de détachement plus faible. Le biofilm est ensuite conservé en solution avec 10% de DMSO à -20°C, en attente de l'extraction de l'ADN.

La figure II.17 représente l'électrophorèse sur gel à gradient dénaturant, ou DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis). C'est une technique de profilage génétique fréquemment utilisée en écologie microbienne. La DGGE consiste à séparer des fragments d'ADN double-brin de taille égale en fonction de leur séquence nucléotidique, par électrophorèse dans un gel de polyacrylamide contenant un gradient dénaturant linéaire à base de formamide et d'urée.

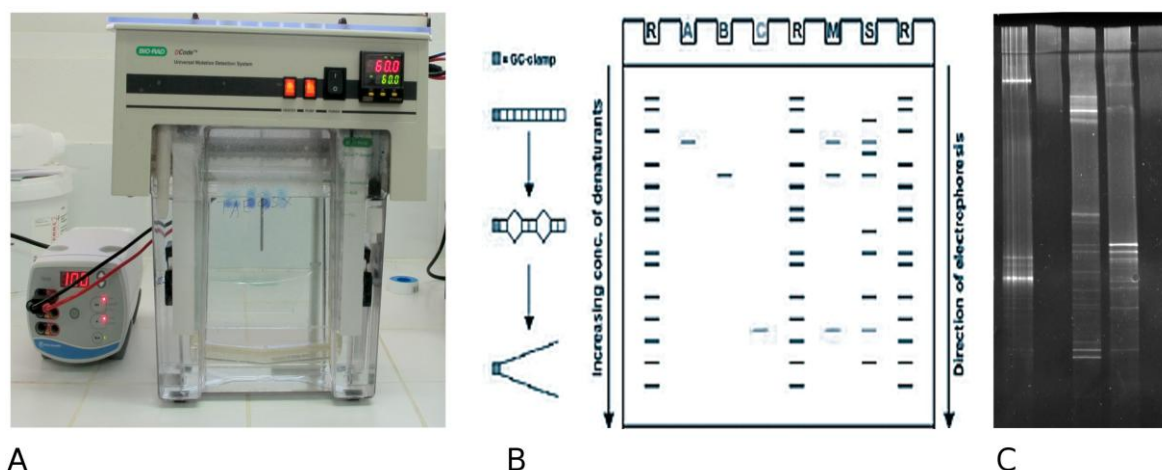


Figure II.17: DGGE. A. Montage du gel dans la cuve à électrophorèse. B. Schéma du principe de la migration en DGGE. C. Exemple de gel révélé aux UV

En progressant dans le gel, les fragments sont dénaturés progressivement car le taux de dénaturant dans le gel augmente. Quand les deux brins d'un fragment sont complètement dissociés, le fragment est bloqué dans le gel. Comme des fragments de séquences différentes ont des comportements de fusion différents, ils s'arrêtent à des positions distinctes dans le gel et l'on peut ainsi les séparer physiquement.

Avant d'effectuer la DGGE, on rajoute une queue GC (G = Guanine et C = Cytosine) d'environ 30 à 50 nucléotides à l'extrémité du brin nouvellement formé, grâce à l'utilisation d'une amorce sens dont la séquence commence par une trentaine de bases C et G. Cette précaution est nécessaire pour éviter que les fragments d'ADN double brin ne se dissocient trop vite dans le gel.

A l'issue de la migration, on obtient un profil par piste de gel. Le profil est un ensemble de bandes ayant migré à différentes hauteurs le long de la piste. En principe, chaque bande correspond à des amplicons (fragments d'ADN amplifié par réaction en chaîne par polymérase : PCR), de même séquence, donc issus d'un même individu ou d'une même espèce. Le gel DGGE peut ensuite être exploité de deux manières. D'une part, on peut exciser les bandes pour en extraire l'ADN et obtenir la séquence nucléotidique de chaque bande. D'autre part, les profils obtenus dans chaque piste d'un gel DGGE peuvent être étudiés à l'aide de logiciels d'analyse d'image et de clustering comme Quantity One de BioRad, et des relations entre communautés peuvent être inférées [176].

La DGGE est une technique de 'profilage génétique', qui permet d'obtenir une empreinte d'une communauté microbienne complexe. Elle est utilisée en micro-écologie pour comparer la composition de plusieurs communautés, suivre l'évolution d'une communauté dans le temps ou encore étudier l'impact de facteurs sur la composition d'une communauté [177,178].

**Chapitre III : Etude du comportement
électrochimique de l'acier inoxydable
immergé dans l'eau de mer naturelle en
laboratoire**

III.1 Etude préliminaire

Pour débiter ce travail de recherche exploratoire, nous avons procédé à un "screening" de plusieurs sites (5) sur lesquels nous avons réalisé nos prélèvements afin d'effectuer nos différents travaux de recherche (figures III 1 a et b).

Les eaux prélevées sont ramenées en laboratoire (expériences *ex-situ*) et utilisées comme électrolytes dans nos différentes études électrochimiques (l'acier inoxydable 254 SMO brut est l'électrode de travail). Après avoir relevé les mesures du pH des eaux des 5 sites, l'évolution du potentiel de d'abandon en fonction du temps a été suivie sur 1 mois (figure III.3). La localisation des sites et les différentes valeurs de pH sont indiquées dans le tableau III.1.

Tableau III.1 : Localisation et valeurs de pH pour chaque eau de mer non stérile

Eaux	Localisation	pH
Crique Gabriel (CG)	35 km à l'Est de Cayenne (rivière)	5,2-5,3
Gosselin (G)	Route des plages à Rémire-Montjoly (plage)	7,3-7,4
Novotel (N)	3 Km du cœur de Cayenne (plage)	7,4-7,6
Mahury (M)	20 Km au sud de Cayenne (embouchure)	7,7-7,9
Larivot (L)	Embouchure de la rivière de Cayenne sur la rive droite (fleuve)	7,9-8,1

La figure III.2 montre le graphe $E = f(d)$ où E est le potentiel d'abandon obtenu en mV avec l'acier immergé dans les différentes eaux de mer (G, N, M, L, CG comme indiqué dans le tableau III.1) et d est la distance en km qui sépare le site de prélèvement du front de mer. La localisation des différents sites de prélèvements est présentée sur la figure III.1.

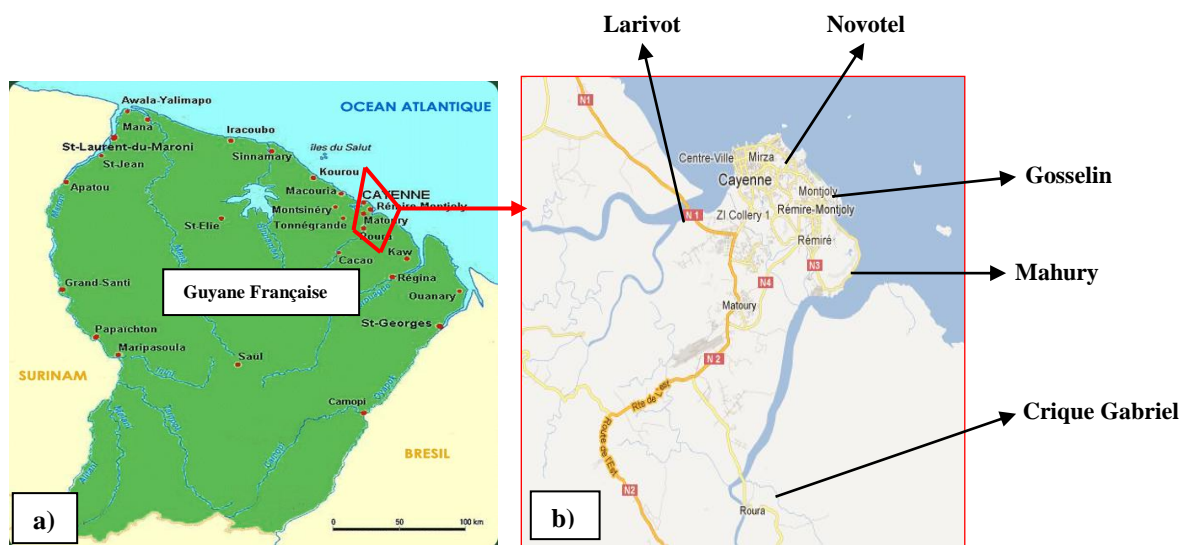


Figure III.1: Localisation des différents sites de prélèvements pour le screening ; a) carte de la Guyane, b) zoom sur la zone encadrée en rouge

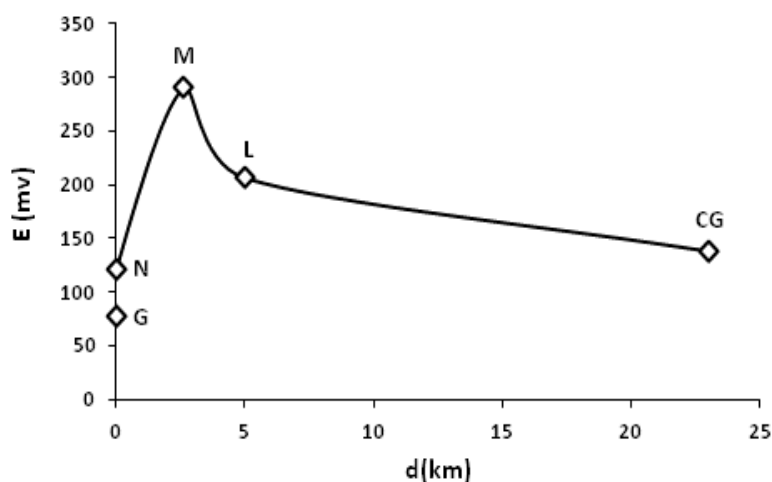


Figure III.2 : Graphe du potentiel d'abandon en fonction de la distance d en km séparant chaque site de prélèvement du front de mer

Le suivi de l'évolution du potentiel d'abandon en fonction du temps pour l'acier inoxydable immergé dans les 5 différents milieux aqueux (figure III.3) indique que le potentiel évolue au cours du temps jusqu'à atteindre une valeur stable vers le septième jour pour l'ensemble des expériences. Certains chercheurs ont montré que l'immersion d'échantillons d'acier inoxydable dans les eaux naturelles entraîne une augmentation de potentiel jusqu'à des valeurs comprises entre +189 et 450 mV/ECS [101,179-181].

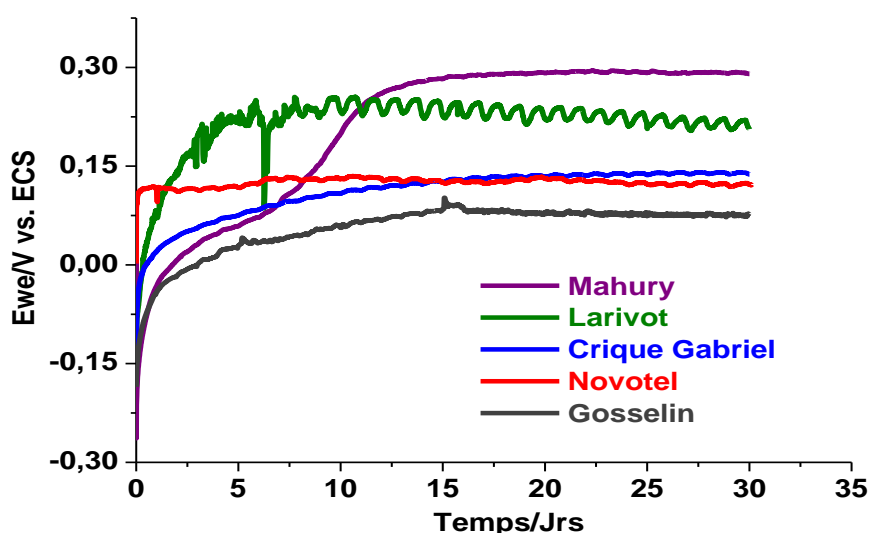


Figure III.3 : Suivi de l'évolution du potentiel d'abandon en fonction du temps pour l'acier inoxydable 254SMO brut immergé dans les 5 différents milieux

Les eaux du Mahury et du Larivot présentent des valeurs de potentiel d'abandon pour l'acier inoxydable 254 SMO proches de celles de la littérature (figure III.3). C'est sur la base de ce critère que nous avons sélectionné ces 2 eaux pour nos travaux de recherche ; leurs valeurs de pH (7,7-8,1) sont également proches de celles de l'eau de mer naturelle (tableau III.1).

Dans le cadre de cette thèse, nous avons effectué des analyses physico-chimiques des eaux de mer collectées sur les deux sites de prélèvement sélectionnés. Ces analyses ont été réalisées au Laboratoire des Moyens Analytiques de Cayenne (LAMA) à l'IRD de Guyane, et les résultats obtenus ont été présentés dans le chapitre 2 (§ 2.1.1).

Une fois les eaux de mers analysées, le comportement électrochimique des échantillons d'acier inoxydable bruts immergés dans chacune de ces eaux a été étudié, par le biais de plusieurs méthodes : mesures du potentiel d'abandon au cours du temps, mesures d'impédances électrochimiques, polarisation linéaire et voltammétrie cyclique. Les expériences sont réalisées à la température ambiante du laboratoire (25°C) cf. chapitre II.

De nombreuses études [101,179-181] ont montré que le comportement électrochimique des aciers inoxydables en eau de mer naturelle est modifié par l'établissement d'un biofilm à sa surface : le potentiel d'abandon s'en trouve notamment augmenté. Les explications fournies, restent souvent incomplètes et controversées. Il apparaît toutefois que les mécanismes mis en jeu sont complexes comme peut l'être le biofilm lui-même.

III.1.1 Influence du milieu d'immersion

Afin d'étudier l'impact de l'adhésion du biofilm sur l'acier inoxydable 254 SMO et l'influence du milieu d'immersion, un suivi du potentiel d'abandon a été réalisé pendant une durée d'environ un mois, dans les eaux de mers préalablement prélevées sur les 2 sites choisis (Mahury et Larivot) et ramenées en laboratoire. Les échantillons d'acier sont immergés en parallèle dans les milieux non stériles et dans les mêmes milieux, préalablement stérilisés à l'autoclave.

L'observation de la figure III.4 montre que les valeurs du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO augmentent après un délai de 4 à 5 jours au contact de l'eau de mer naturelle non stérilisée, jusqu'à atteindre respectivement environ +300 mV pour le Mahury et +180 mV pour le Larivot. En milieu stérile les potentiels d'abandon sont stables, constants et proches à environ +80 mV pour le Mahury et +50 mV pour le Larivot. Cela montre que les compositions chimiques des 2 milieux étudiés (qui varient sensiblement) n'a que peu d'influence sur le comportement de l'électrode. On constate à l'opposé une différence notable du potentiel d'abandon entre les 2 milieux non stériles. Les biofilms sont donc à l'origine de l'augmentation du potentiel d'abandon. Ce qui tend à montrer que les biofilms ont probablement des compositions différentes dans les 2 milieux étudiés.

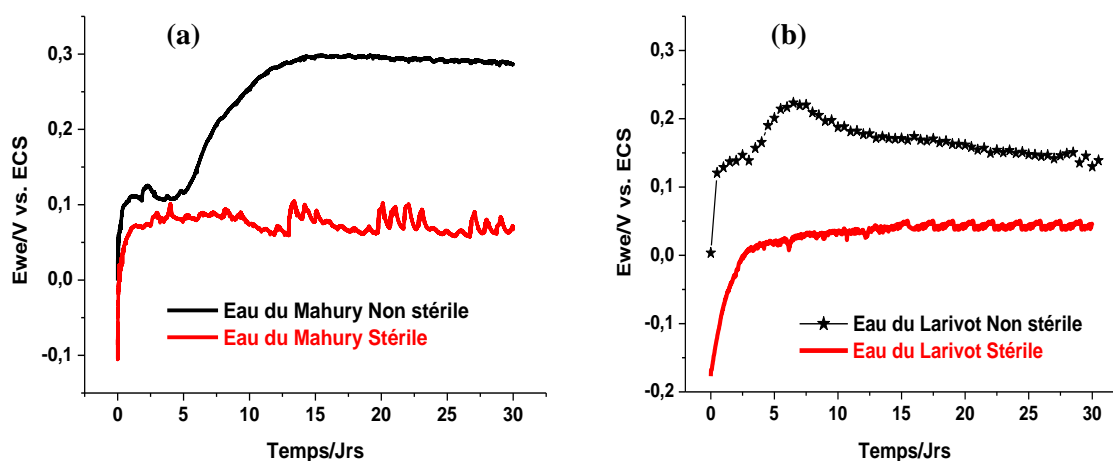


Figure III.4 : Evolution du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut en eau du Mahury (a) et en eau du Larivot (b)

Pour ces deux eaux de mer naturelle, le potentiel en milieu non stérile est supérieur à celui obtenu en milieu stérile. Nos résultats sont donc en accord avec ceux de la littérature [179,182]. Des micrographies de la surface des aciers immergés en milieux stériles et non stériles sont présentées sur la figure III.5, on note la présence des bactéries dont la taille est de quelques micromètres (μm).

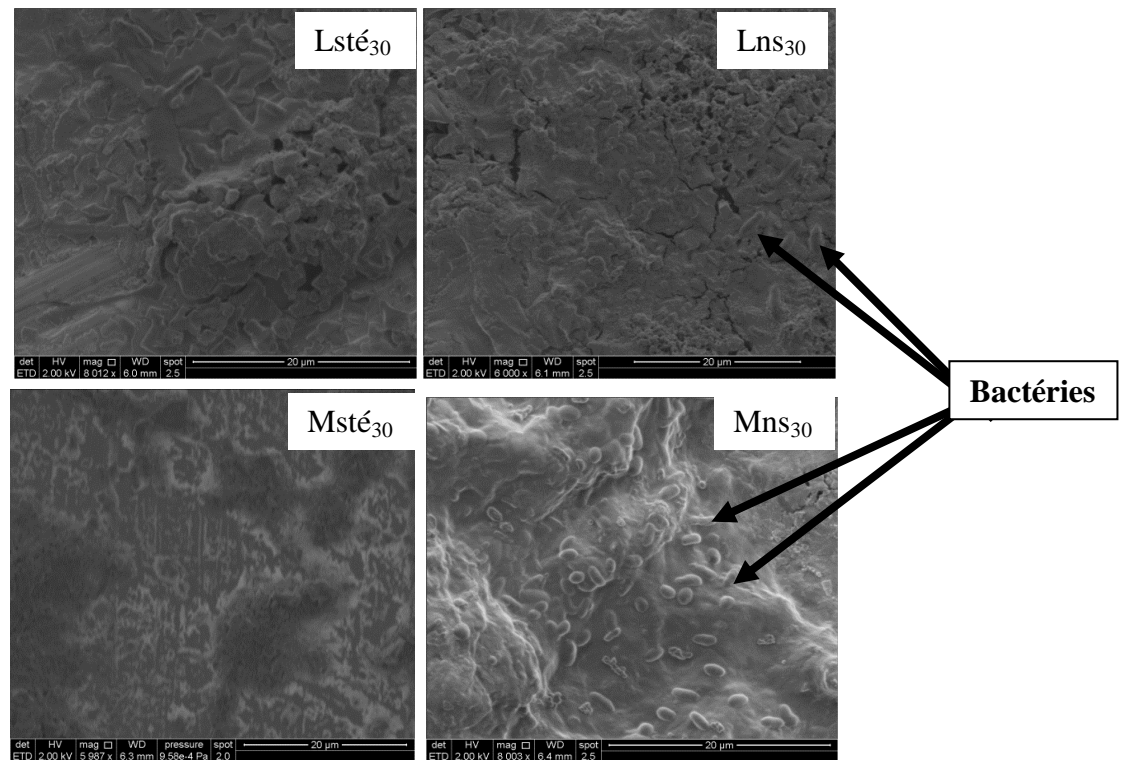


Figure III.5 : Observation du biofilm au MEBE, sur l'acier inoxydable 254 SMO brut immergé dans les 2 milieux étudiés avec Lsté₃₀ et Msté₃₀ (acier après 30 jours d'immersion pour le Larivot et le Mahury stérile respectivement), Lns₃₀ et Mns₃₀ (acier après 30 jours d'immersion dans le Larivot et le Mahury non stérile respectivement)

III.1.2 Influence des saisons

En Guyane on distingue quatre types de saisons. Une grande saison sèche qui va de mi-juillet à mi-décembre. Puis vient une petite saison des pluies, de mi-décembre à février. Le mois de mars fait quant à lui figure de petite saison sèche (qui contient toutefois des précipitations non négligeables). Enfin, une grande saison des pluies se déroule d'avril à mi-juillet.

La figure III.6 montre la variation moyenne de la température et de la pluviométrie moyenne en Guyane Française (figures III.6. a, b respectivement). La température varie entre 21 et 33 °C, et la pluviométrie reste plus importante au voisinage de la ville de Cayenne où les travaux de recherche sont réalisés.

L'histogramme de la figure III.7 présente la variation du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO en fonction des saisons (sur 3 expériences pour chaque saison). Les

mois indiqués sont : mars (petite saison sèche), Mai (grande saison de pluie), Juillet (début saison sèche) et Novembre (fin grande saison sèche). Le potentiel d'abandon de l'acier inoxydable immergé dans l'eau du Mahury varie entre +230 et +315 mV, tandis que celui de l'acier inoxydable immergé dans le Larivot varie entre +130 et +242 mV. Quel que soit la saison le potentiel d'abandon en milieu Mahury reste supérieur à celui en milieu Larivot, comme indiqué précédemment dans le paragraphe III.1.1.

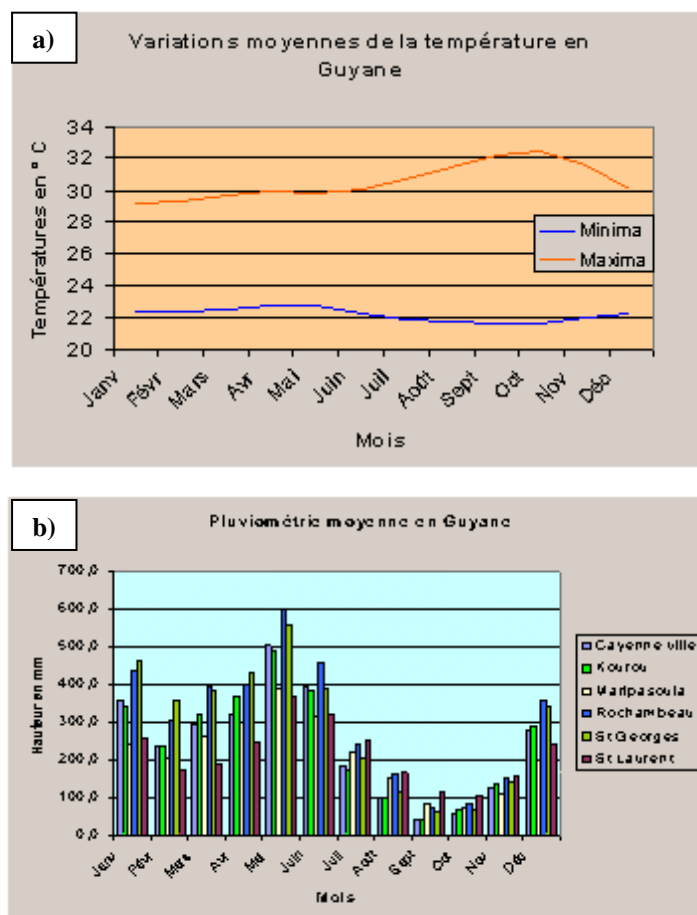


Figure III.6 : a) Variation moyenne de la température – b) pluviométrie moyenne en Guyane Française (données Météo-France)

Durant le mois de Juillet (au début de la saison sèche), on observe des valeurs de potentiel plus élevées dans les deux milieux d'études. Les plus petites valeurs de potentiel sont observées lors de la grande saison des pluies pour les deux milieux. En ce qui concerne les valeurs de potentiel obtenues en période intermédiaire (mars et novembre), elles sont sensiblement proches pour le Mahury et pour le Larivot. Il semble donc que les saisons aient un impact sur l'évolution du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable. On remarque

néanmoins une évolution similaire du potentiel d'abandon vis-à-vis des périodes de prélèvements. La différence entre les valeurs des potentiels d'abandon des 2 milieux considérés en fonction des saisons sont difficilement explicables à ce stade de l'étude. Des expérimentations complémentaires (telles que les mesures d'impédance électrochimique) sont nécessaires pour envisager une interprétation des résultats.

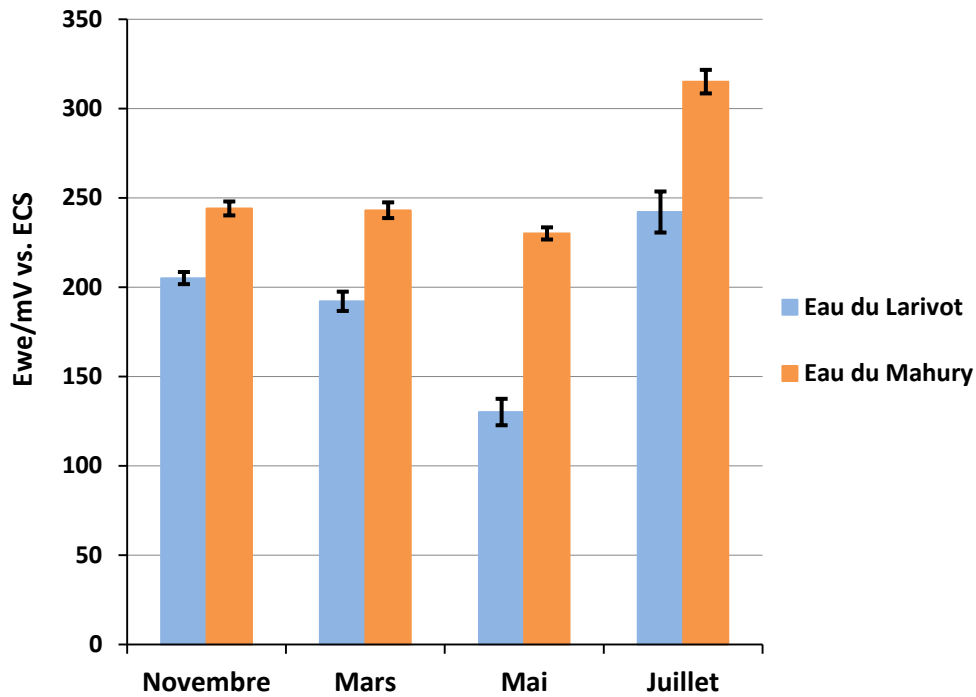


Figure III.7 : Variation du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut en fonction des saisons

III.1.3 Influence de la lumière

Certains chercheurs ont montré que l'immersion d'échantillons d'acier inoxydable 304 dans une eau de rivière souterraine présenterait une augmentation de potentiel d'abandon plus importante en conditions éclairées (biofilm contenant des algues) que dans l'obscurité (biofilm uniquement bactérien). Ils ont conclu que les micro-algues photosynthétiques sont capables, par leur production d'oxygène à une échelle locale, d'augmenter le courant de réduction de O_2 et par conséquent entraîner une augmentation du potentiel d'abandon [183,184]. Il a été aussi montré que certaines diatomées photosynthétiques en particulier, peuvent générer une hausse du potentiel d'abandon d'environ +200 mV [185,186].

Certains chercheurs ont mesuré le potentiel lors d'alternances jour/nuit et ont montré que le potentiel varie entre les conditions éclairées et les conditions obscures : le potentiel prend une valeur plus élevée le jour que la nuit et explique que cette influence serait liée à la présence d'algues photosynthétiques au sein du biofilm. Ainsi la production d'O₂ se produisant en présence de lumière influence la réaction cathodique, en créant des pressions partielles importantes en dioxygène à proximité de l'électrode [187].

La figure III.8 présente les valeurs du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO en fonction de l'éclairement. Les tests en présence de lumière signifient qu'ils ont été réalisés dans une salle éclairée par la lumière du jour, tandis qu'en absence de lumière signifie qu'ils ont été réalisés dans une salle obscure. La durée de l'immersion des échantillons d'acier inoxydable 254 SMO fut d'un mois.

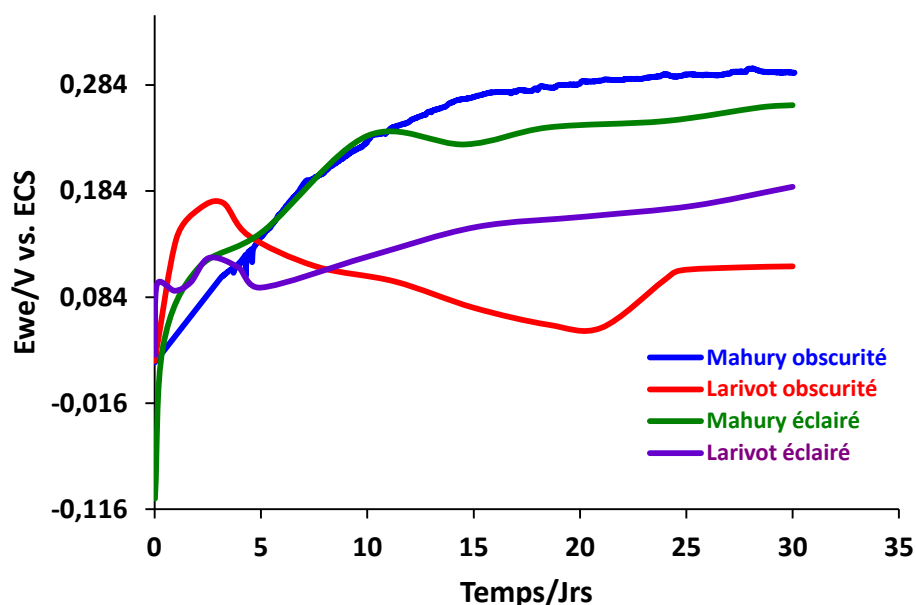


Figure III.8 : Evolution du potentiel d'abandon en fonction de l'éclairement pour l'acier 254SMO brut immergé dans les deux eaux de mer (Mahury et Larivot).

Quel que soit l'éclairement (absence ou présence de lumière) le potentiel d'abandon de l'acier en Mahury est plus élevé que le potentiel d'abandon de l'acier en Larivot. On remarque que l'acier inoxydable immergé dans l'eau de mer du Larivot présente un potentiel supérieur en présence de lumière. A contrario, l'acier inoxydable immergé dans la l'eau du Mahury présente un potentiel inférieur en présence de lumière. Ce constat montre que le biofilm présent à la surface de l'électrode agirait de manière différente en présence de lumière

et qu'il serait donc possible que les 2 milieux conduisent à la colonisation par des populations microbiennes différentes. Néanmoins, les valeurs (avec ou sans lumière) restent au bout de 30 jours relativement proches (probablement dans un intervalle de variabilité acceptable s'agissant du vivant) ; des expériences complémentaires devront être menées couplées à des observations afin de conclure sur le rôle ou non de la lumière vis-à-vis de la colonisation de la surface. La population microbienne présente dans le Larivot pourrait ne pas être la même que celle présente dans le Mahury (Cette dernière remarque allant également dans le sens de celle écrite en conclusion du § III.1.1).

III.1.4 Influence de la date de prélèvement en fonction de la marée

Afin de voir la corrélation qui pourrait exister entre les marées et la composition chimique de chaque eau de mer, sur le potentiel d'abandon de l'acier, des expériences ont été réalisées pendant le mois de mars (petite saison sèche). Les paramètres physico-chimiques des eaux du Mahury et du Larivot en fonction des marées sont indiqués dans le tableau II.1. (B) et (C) du chapitre II (début de marée descendante et fin de marée descendante respectivement).

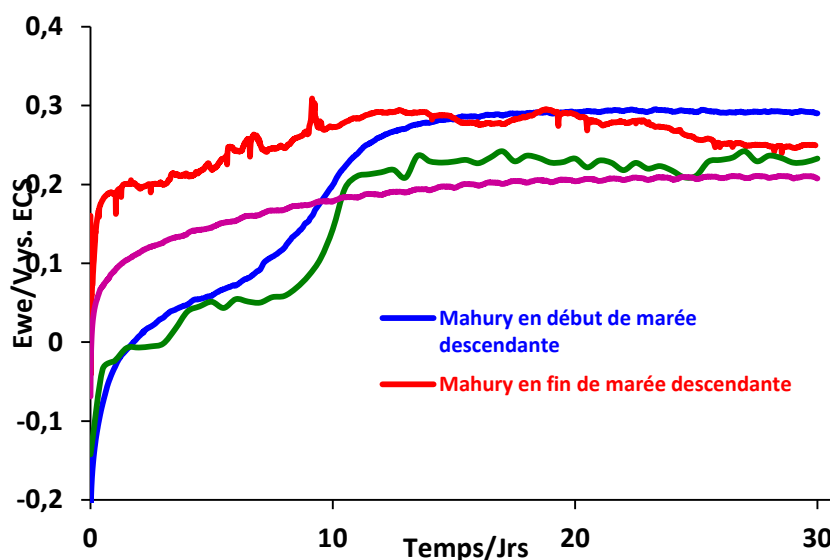


Figure III.9 : Suivi du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut en fonction des dates de prélèvement

Les prélèvements de nos différentes eaux de mer ont été menés chaque fois le même jour et à la même marée. Les expériences ont duré 30 jours. La figure III.9., présente le suivi du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO en fonction des dates du prélèvement des eaux du Larivot et du Mahury. Il ressort de cette figure d'une part que les valeurs de potentiel obtenues en milieu Mahury sont supérieures à celles obtenues en milieu Larivot et d'autre part, légèrement plus élevées en début de marée descendante qu'en fin de marée descendante. Les valeurs de potentiels sont toutefois très proches à l'issue des 30 jours d'expérience, ce qui laisse (encore une fois) penser que les biofilms présents semblent peu affectés, par la variation des concentrations en sels dans les divers électrolytes étudiés.

La figure III.10 réalisée en microscopie à épifluorescence montre une colonisation de la surface de l'acier inoxydable 254 SMO en fonction de la date de prélèvement. Celle-ci semble plus importante lorsque l'eau a été prélevée à marée montante (figure III.10.a).

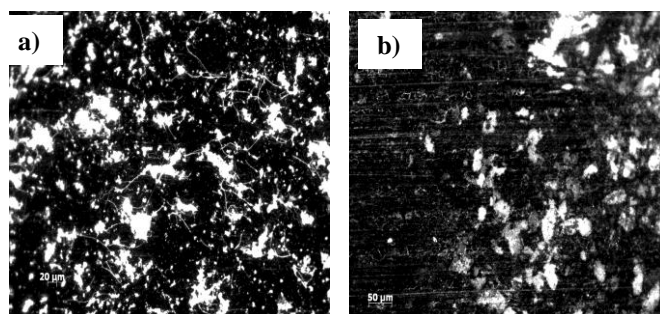


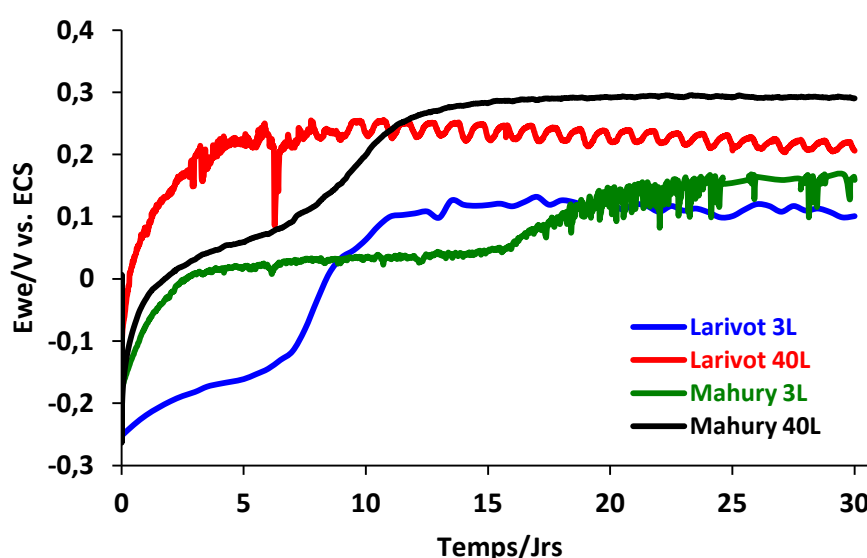
Figure III.10 : Observations de la surface d'échantillon d'acier a) à marée montante et b) à marée descendante après 2 semaines d'immersion dans l'eau du Mahury

III.1.5 Influence du montage expérimental et du volume

Comme nous l'avons décrit dans le chapitre 2 (§2.1.3 et §2.1.4), le volume de l'eau de mer en système dynamique utilisé est de 40 litres et celui de l'eau de mer en système statique 3 litres. Le tableau III.3 présente la moyenne (m) et l'écart type (σ) sur les valeurs de potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut obtenues en fonction du montage. Plusieurs expériences 3 pour chaque milieu ont été menées.

Tableau III.2 : Moyennes et écarts types sur les valeurs de potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO en fonction du montage à 30 jours, L : Larivot et M : Mahury

	Montage dynamique (40 Litres)		Montage statique (3 Litres)	
	Moyenne (m)	Ecart type (σ)	Moyenne (m)	Ecart type (σ)
Potentiel d'abandon (L) en mV	192	13	95	11
Potentiel d'abandon (M) en mV	289	16	162	21

**Figure III.11 : Evolution du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut en fonction du volume et du montage expérimental**

Dans tous les cas, on note une augmentation du potentiel avec le temps d'exposition. On obtient des valeurs de potentiel d'abandon plus élevée avec un grand volume (40L). La différence entre les valeurs de potentiel en montage dynamique et montage statique est de +100mV environ à 30 jours (figure III.11). Le montage expérimental utilisé (volume + type de montage) semble jouer un rôle sur l'évolution du potentiel d'abandon de l'acier immergé en laboratoire.). Il est logique de penser que les nutriments présents en plus grande quantité dans le volume de 40L permettent au biofilm de croître avec moins de stress et probablement de "durer" plus longtemps [188]. Le montage dynamique proposerait une réserve en nutriment

se rapprochant de celle du terrain et à ce titre, il apparaît donc plus représentatif des réalités du terrain.

III.1.6 Influence de la composition chimique du milieu

De manière à analyser sans ambiguïté l'effet du biofilm, les expériences ont été menées en eau de mer artificielle dépourvue de microorganismes marins, et en eau de mer naturelle. L'étude comparative a permis de dissocier l'effet dû à la composition chimique du milieu, des conséquences de l'activité métabolique des micro-organismes peuplant le biofilm.

Le suivi du potentiel d'abandon de l'acier 254 SMO immergé en eau de mer artificielle, eau distillée, et eau distillée avec ajout de 30g de NaCl (513 mmole/l en ion chlorure), eau du Mahury non stérile et stérile (325 mmole/l en ion Chlorure) est présenté sur la figure III.12. Compère et al. [189] démontrent que le potentiel d'abandon de l'acier inoxydable est clairement plus élevé en milieu eau de mer naturelle (présence des biofilms) comparativement à une eau de mer artificielle, et le même constat a été démontré dans nos expérimentations (tableau III.3).

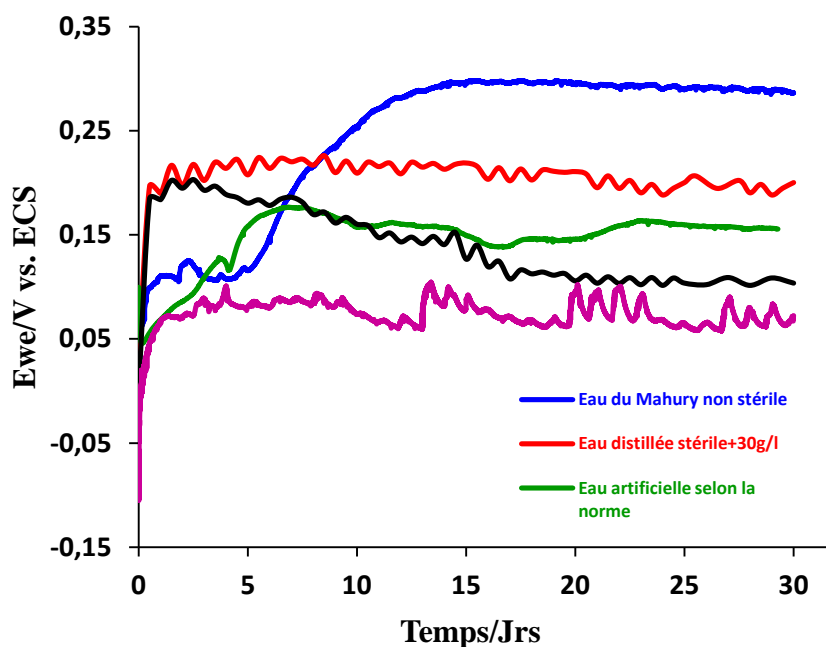


Figure III.12 : Evolution du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO en fonction du temps dans les différents milieux d'immersion

Tableau III.3 : Valeurs du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO en fonction du temps dans les différents milieux d'immersion

	Eau du Mahury non stérile	Eau distillée stérile + 30g NaCl	Eau distillée stérile	Eau artificielle selon la norme	Eau du Mahury stérile
E_{corr} vs. ECS (mV)	+287	+200	+155	+104	+73

III.1.7 Remarques d'ordre général sur l'étude préliminaire

- L'étude préliminaire nous a permis de confirmer un certain nombre de points présents dans la littérature :
 - L'augmentation du potentiel d'abandon (anoblissement) en milieu non stérile est constatée. Elle évolue entre +120 et +250 mV par rapport au milieu stérile suivant le milieu et les conditions expérimentales [101,181]. Ces observations sont en bon accord avec la littérature.
 - La période nécessaire à l'obtention d'un biofilm mature (qui néanmoins évolue toujours en épaisseur et en composition par la suite) varie de 4 et 8 jours suivant les conditions expérimentales comme cela est référencé pour des cas expérimentaux similaires dans différentes publications [101,179,182].
- L'étude préliminaire ne nous a pas permis de conclure sur un certain nombre d'autres points.
 - Le potentiel d'abandon est systématiquement plus élevé pour les expérimentations menées dans l'eau du Mahury surtout en milieu non stérile. Cela tend à montrer que les biofilms à l'origine de l'anoblissement sont probablement différents en composition (bactéries différentes) dans les deux milieux d'étude. L'éloignement du front de mer a peut être un rôle sur les populations bactériennes.
 - Le montage dynamique paraît plus proche d'une expérimentation *in-situ*.
- L'étude préliminaire ne nous a pas permis de conclure sur les points suivants (des expérimentations complémentaires devront être menées).

- Il semble qu'il y ait un effet « saison » si on se fie aux variations du potentiel d'abandon. La composition du biofilm varie-t-elle suivant les saisons ? le biofilm est-il moins actif ?
- Le rôle de la lumière semble confirmer la présence de 2 biofilms différents sur l'électrode pour les deux milieux étudiés.

Enfin, l'étude préliminaire nous a permis de constater que travailler sur le vivant entraîne une variabilité importante des résultats. Ce qui nous conduira par la suite, outre le fait de procéder de façon méticuleuse aux expérimentations, de répéter nos expérimentations plusieurs fois (3).

III.2 Caractérisation électrochimique de l'interface hétérogène solide/biofilm/liquide

III.2.1 Expériences de longues durées

III.2.1.1 Suivi de l'évolution du potentiel d'abandon en fonction du temps

Les expériences sur le long terme réalisées ici ont pour objectif de voir l'évolution du potentiel d'abandon au cours du temps d'immersion. Ainsi un suivi continu du potentiel d'abandon durant 30, 40, 60 jours a été effectué. Les eaux sont prélevées sur chaque site le même jour et les différents tests sont lancés pour des durées de temps diverses.

La figure III.13.a et l'histogramme associé (figure III.13.b), présente les valeurs du potentiel d'abandon obtenues à la fin de chaque expérience. Il ressort de ces derniers que les valeurs du potentiel sont élevées pour les expériences de longues durées : +142 mV pendant 60 jours en Larivot et +231 mV pendant 60 jours en Mahury. Comme signalé précédemment on obtient des valeurs de potentiel plus élevées en Mahury qu'en Larivot. Le potentiel évolue très peu pour l'intervalle (30 jours, 40 jours) pour les deux milieux étudiés.

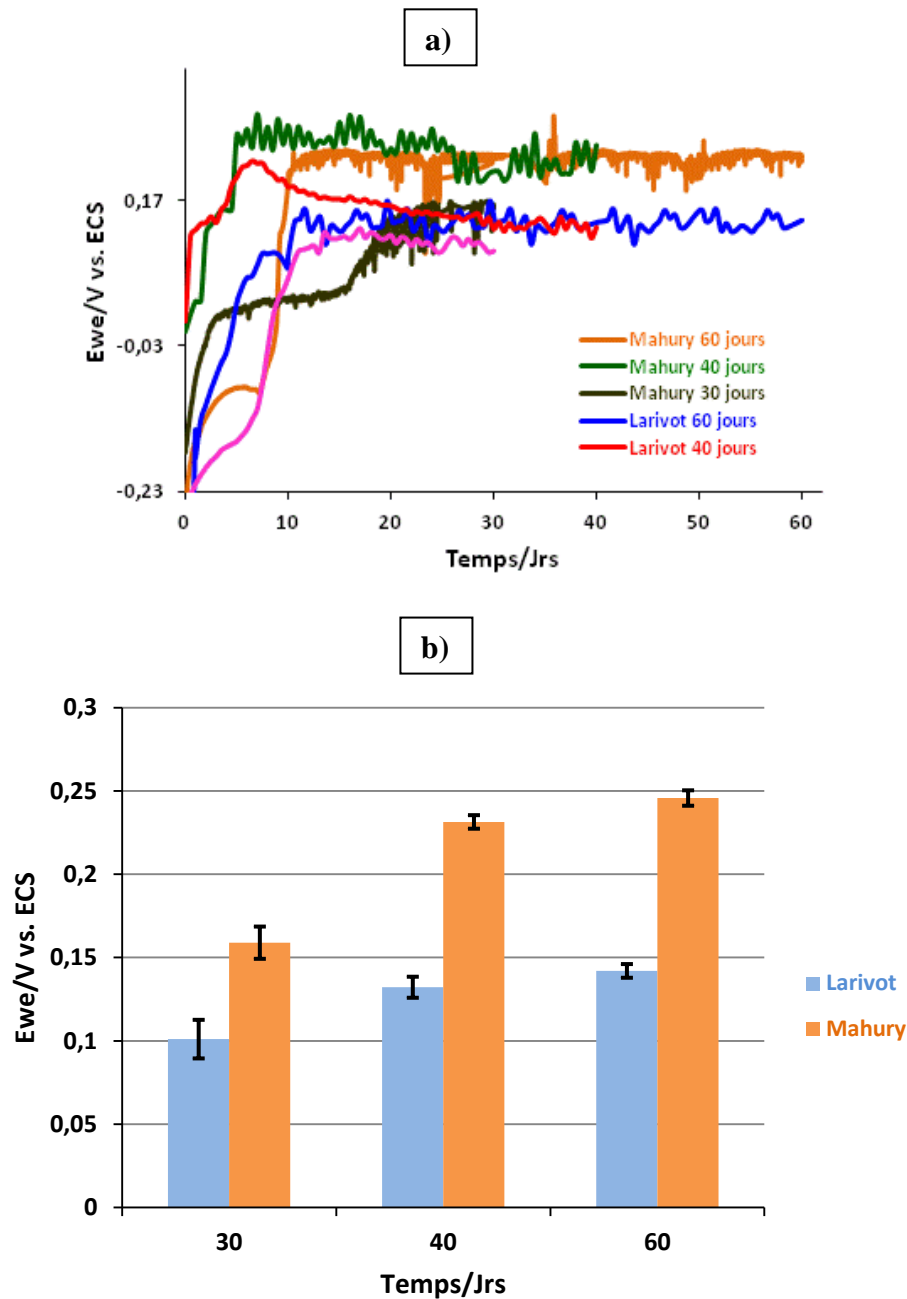


Figure III.13 : a) Evolution du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut immergé en Mahury et Larivot, b) histogramme correspondant aux valeurs de potentiel d'abandon obtenu en fonction du temps.

III.2.1.2 Mesures d'impédance électrochimique

Les mesures d'impédance sur les échantillons d'acier inoxydable 254 SMO immergés dans les eaux de mer collectées (Larivot et Mahury) sont visibles sur les figures III.15 pour différents temps d'immersion.

La Figure III.14 représente le circuit équivalent proposé pour simuler les diagrammes d'impédance, afin de mieux comprendre le comportement de l'acier. Dans ce circuit équivalent, R_s et R_p représentent respectivement les résistances de l'électrolyte et de la surface de l'échantillon (elle intègre la résistance de la couche passive et celle du biofilm). Le circuit équivalent est complété par un élément de phase constante (CPE) en raison de la rugosité microscopique de la surface et de la réponse capacitive non idéale de l'interface acier inoxydable/biofilm/solution. L'impédance de la CPE s'écrit : $Z_{CPE} = Y_0^{-1} (j.\omega)^{-a_p}$ où ω est la fréquence angulaire en rad/s, Y_0 représente la capacité inter-faciale, et a_p est l'indicateur de la rugosité de la surface [24]. Il est souvent très difficile de faire correspondre le modèle aux données expérimentales. En effet, l'acquisition de points à basse fréquence est sensible aux variations de potentiel, notamment liées aux phénomènes de dépassivation/repassivation de l'acier.

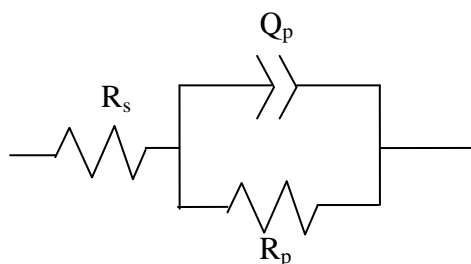


Figure III.14 : Circuit équivalent utilisé pour modéliser les spectres d'impédance

Il semble donc que le biofilm (son épaisseur, l'évolution des constantes sous et dans les biofilms) contribue à une meilleure résistance du matériau dans les milieux étudiés, dans les intervalles de [0, 60 jours].

Une valeur élevée de l'impédance reflète une grande résistance de la couche passive [190,191]. La résistance du film passif a visiblement augmenté après 2 mois d'immersion. Sur le diagramme de Nyquist figure III.15.a et d on peut également visualiser l'augmentation du module de l'impédance qui traduit l'augmentation de la résistance aux phénomènes rapides tel que le transfert des charges. Néanmoins concernant le milieu Mahury, la courbe à 30 jours présente un module très élevé et décalé par rapport aux autres (0, 40 et 60 jours). Il est probable que celle-ci constitue un phénomène accidentel.

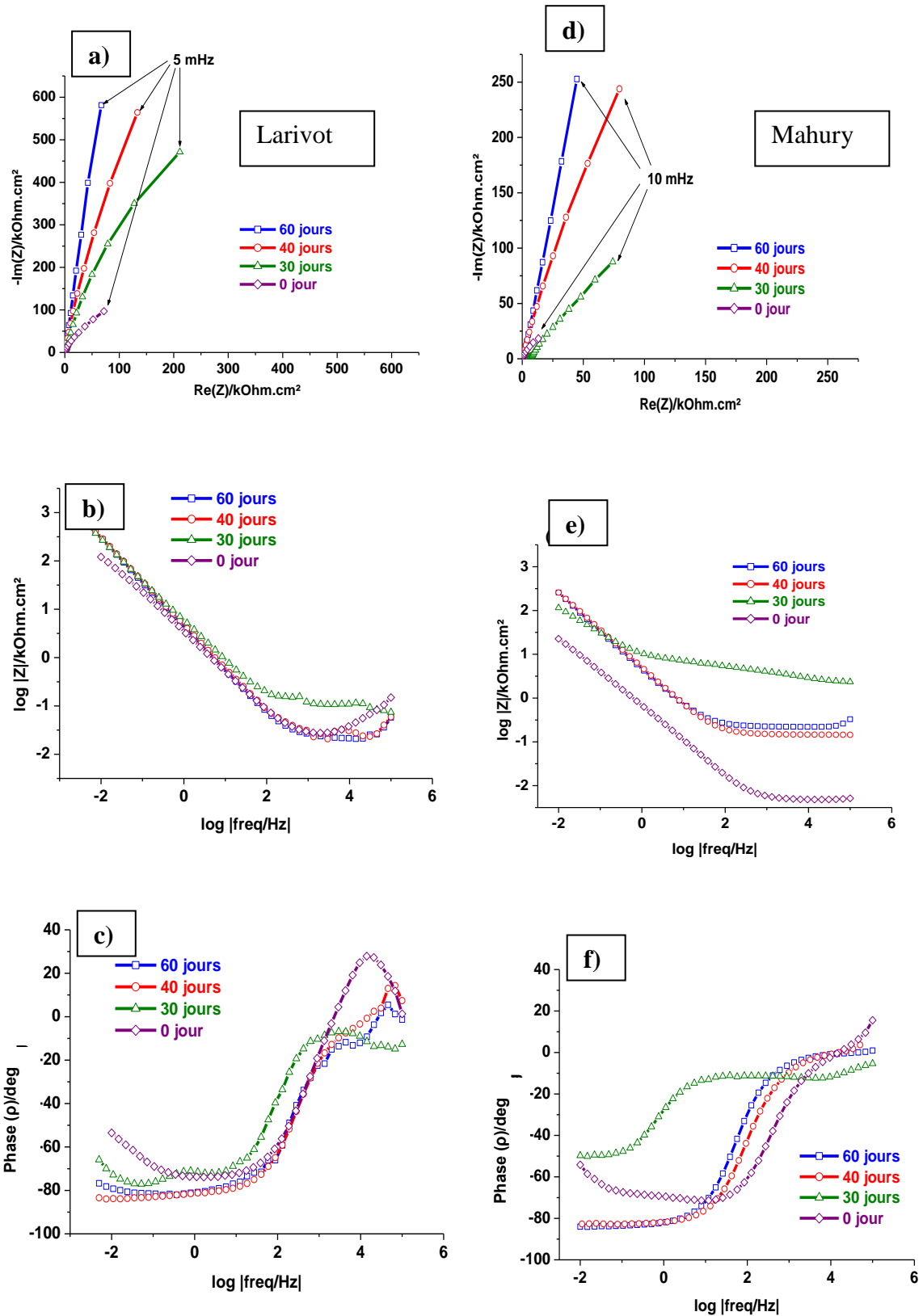


Figure III.15 : Diagrammes de Nyquist obtenus avec l'acier inoxydable 254 SMO brut immergé en Larivot (a) et Mahury (d) respectivement ; diagramme de Bode en module/phase Larivot (b)/(c) Mahury (e)/(f) à différents temps d'immersion

Si on admet que les points de diagramme de Nyquist représentent le début de la boucle capacitive, alors le diamètre de celle-ci représentant la résistance à l'interface augmente avec la durée d'immersion. Cela est traduit dans la littérature par une augmentation de la résistance du film passif [190,191] avec la durée d'immersion. Concernant le Larivot, on observe toutefois que l'impédance passe par un minimum pour les fréquences d'environ 9000 Hz.

Les auteurs divergent sur la modélisation de l'interface métal/couche passive/biofilm lors de l'immersion d'aciers inoxydables en eau de mer ou dans des milieux contenant des souches bactériens purs. Ainsi Gonzalez et al [192] proposent plusieurs modèles de schémas électriques caractérisant l'interface électrochimique d'un acier inoxydable 316 en présence de bactéries sulfato-réductrice. Il différencie la couche passive du biofilm et prend également en compte la compacité du biofilm (compact ou poreux). Ainsi en présence de BSR la résistance affectée au film passif atteint $9,5.10^5 \Omega.cm^{-2}$ tandis que celle affectée au biofilm compact vaut $6,8.10^7 \Omega.cm^{-2}$ pour 3 semaines d'immersion.

Une autre étude [193] s'est également intéressée au comportement de l'acier 316 en présence de bactéries ferro-oxydantes et mangano-oxydantes. Les auteurs proposent un schéma électrique avec 3 éléments de résistance : résistance de l'électrolyte, résistance de transfert de charge et résistance de polarisation. Les deux derniers éléments étant montés en parallèle. Les valeurs de la résistance de polarisation sont abaissées en présence des bactéries et évoluent entre 30 et $150 k\Omega.cm^{-2}$. Ce type de schéma est également utilisé par Santana et al. [194] dans le cas de l'étude de la corrosion de l'acier inoxydable AISI 304 en présence de bactéries sulfato-réductrices.

Quelques travaux existent sur le comportement électrochimique de l'acier 254 SMO dans divers milieux agressifs en présence ou en absence de bactéries. Certains travaux ne proposent pas de modèle électrochimique [195,196] mais constatent une augmentation significative du potentiel d'abandon en présence de bactéries. Il semble qu'à ce jour l'interface 254 SMO/couche passive/biofilm n'a pas été réellement modélisé.

Enfin, il semble établi qu'en présence de bactéries le comportement électrochimique d'un acier inoxydable en milieu marin se résume à un schéma à une constante de temps caractérisant la couche passive [197,198]. Les valeurs obtenues lorsque cela était possible

sont reportées dans le tableau III.4. On note une augmentation des valeurs de R_p et a_p quel que soit le milieu d'immersion, traduisant respectivement la résistance du film passif et l'homogénéité de la surface avec le temps.

Tableau III.4 : Paramètres électriques obtenus du meilleur ajustement des diagrammes d'impédance expérimentaux à l'interface acier inoxydable/d'électrolyte, dans les milieux Larivot et Mahury

	Temps (jours)	0 jrs	30 jrs	40 jrs	60 jrs
Acier brut immergé dans le Larivot	$R_p, \Omega \cdot \text{cm}^{-2}$	$20 \cdot 10^3$	$340 \cdot 10^3$	$629 \cdot 10^3$	$801 \cdot 10^3$
	$Y_p, \mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$	4633	1660	1265	1269
	a_p	0,83	0,84	0,90	0,91
Acier brut immergé dans le Mahury	$R_p, \Omega \cdot \text{cm}^{-2}$	$2 \cdot 10^3$	-	$82 \cdot 10^3$	$578 \cdot 10^3$
	$Y_p, \mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$	2710	-	2823	4222
	a_p	0,81	-	0,86	0,86

III.2.2 Influence de l'agitation et de l'ajout du biofilm gratté sur le ponton

L'eau du Mahury est l'électrolyte utilisé, le montage statique a été réalisé avec un saladier de 3L et 16,5 g de biofilms solides sont grattés du ponton et ajoutés dans certaines expériences. La figure III.16 montre l'évolution du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable en fonction du temps d'exposition, dans les différentes conditions expérimentales telles l'agitation (avec ou sans), la stérilité (stérile ou non stérile) et biofilm "gratté" sur le ponton (présence ou absence) à la température ambiante (25°C). Le tableau III.5 présente ces différentes conditions expérimentales.

L'augmentation du potentiel d'abandon n'est pas immédiate. Comme pour les expérimentations précédentes, un temps est nécessaire au biofilm pour adhérer et se développer à la surface des échantillons. Les valeurs initiales sont comprises entre +40 et +280 mV. Dans le cas des expériences en eau de mer non stérile, le potentiel augmente avec le temps jusqu'à ce qu'il atteigne des valeurs comprises entre +230 et +350 mV suivant les conditions expérimentales.

Les valeurs du potentiel des courbes obtenues en présence d'un biofilm "gratté" sur le ponton sont comprises entre +315 et +350 mV, et celles obtenues en l'absence de celui-ci se situent entre +230 et +280 mV. On peut remarquer que pour l'eau de mer non stérile, les

valeurs du potentiel sont proches à la fin de l'expérience (22 jours), suggérant que la présence du biofilm "gratté" n'aurait pas d'influence sur des expériences de longues durées. Les valeurs de potentiel sont relativement proches pour des périodes de courte durée (moins de 5 jours) 2 par 2 en fonction de l'agitation. Mais au-delà (plus de 5 jours) c'est-à-dire, une fois que le biofilm a adhéré au métal, l'agitation ne semble plus avoir une influence sur le développement de ce dernier. Par contre, le potentiel de l'eau de mer stérile a d'abord diminué les cinq premiers jours, et après s'est relativement stabilisé jusqu'à ce qu'il atteigne des valeurs comprises entre +64 et +69 mV durant les 22 jours d'exposition, validant aussi notre expérimentation : les valeurs sont proches de celles obtenues lors des essais préliminaires (figure III.4).

Tableau III.5 : Différentes conditions expérimentales

Conditions expérimentales	1	2	3	4	5	6
Stérile	oui	oui	non	non	non	non
Agitation	oui	non	oui	non	oui	non
Biofilm gratté sur le ponton	non	non	non	non	oui	oui

L'anoblissement des échantillons d'acier est généralement interprété comme le reflet de la présence de biofilm à la surface du métal [175]. On observe de petites perturbations sur les courbes d'évolution du potentiel d'abandon en fonction du temps. Ces perturbations se manifestent d'une part, d'une légère diminution de potentiel (quelques millivolts), et d'autre part de petites augmentations du potentiel, probablement dues aux ruptures de la couche passive, suivies d'une repassivation du métal (figure III.16) [176,177].

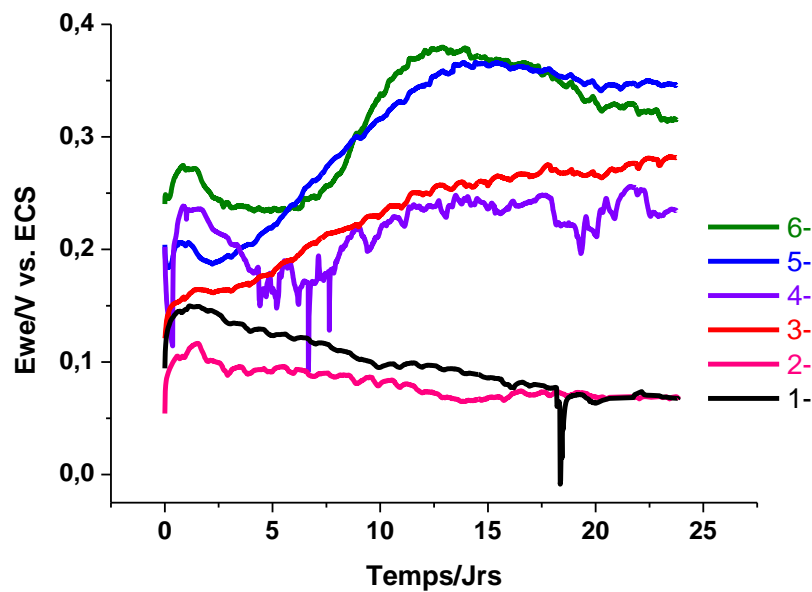


Figure III.16 : Evolution du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut dans les différentes conditions expérimentales représentées dans le tableau 3.5

Des mesures d'impédance électrochimique sont effectuées pour caractériser les interfaces du système métal/film-passif/biofilm/électrolyte en eau de mer naturelle. Ces expériences sont réalisées à 24 jours.

La figure III.17 montre les courbes en repère de Nyquist obtenues avec l'acier inoxydable 254 SMO dans les six conditions expérimentales indiquées dans le tableau III.5. Toutes les courbes sont proches les unes des autres, elles ne donnent pas de véritables informations sur le rôle des paramètres étudiés.

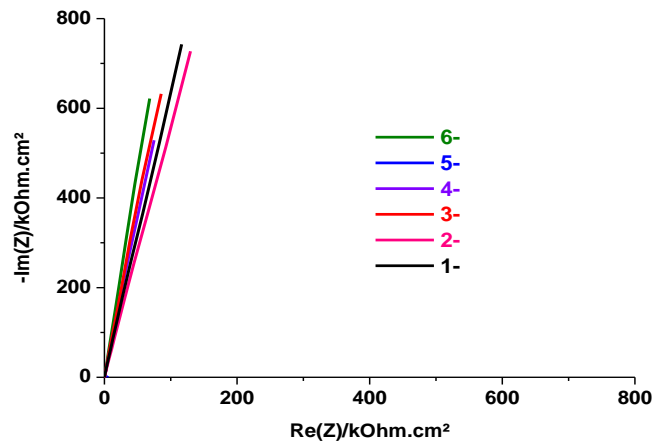


Figure III.17 : Diagramme de Nyquist obtenus pour l'acier inoxydable 254 SMO brut dans les conditions 1-2-3-4-5-6 après 22 jours d'expérience

Les valeurs des paramètres électriques obtenues par simulation des diagrammes expérimentaux, sont présentées dans le tableau III.6 (seules les expériences sans agitation sont mentionnées). Les valeurs des données pour chaque paramètre affichaient moins de 20% d'erreur. On constate que globalement la présence du biofilm n'affecte pas le comportement électrochimique du système comme en témoignent les valeurs du même ordre de grandeur obtenues pour R_p . La valeur de la capacité diminue légèrement en présence d'un biofilm tandis que les valeurs a_p augmentent, cela pourrait s'expliquer par la tendance du biofilm à se fixer dans les hétérogénéités de la surface.

Néanmoins, les diagrammes de Bode (figure III.18) montrent qu'aux hautes fréquences, l'impédance du système est supérieure à l'état non stérile. Cela confirme les résultats obtenus lors des essais préliminaires. Les hautes fréquences mettent en évidence les phénomènes rapides tels que le transfert de charge. Il est possible que cette différence soit liée à un changement de la semi-conductivité de la couche passive liée à la présence du biofilm comme énoncé par plusieurs auteurs dans la littérature [120,195,199,200]. Les variations de R_s seraient elle dues à un confinement sous biofilm ?

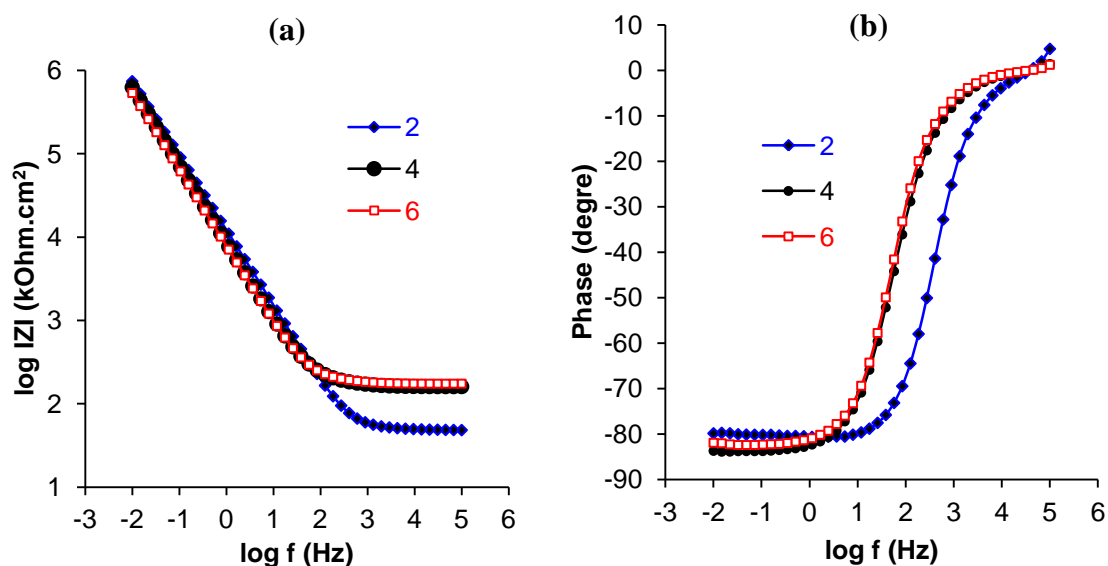


Figure III.18 : Diagrammes de Bode obtenus avec l'acier inoxydable dans les conditions 2-4-6 après 22 jours d'immersion ; a) Module de l'impédance en fonction de la fréquence, b) Angle de phase en fonction de la fréquence.

Tableau III.6 : Paramètres électriques obtenus du meilleur ajustement des diagrammes d'impédance expérimentaux à l'interface acier inoxydable/d'électrolyte, dans les conditions expérimentales 2, 4, 6

Conditions expérimentales	R_p ($\Omega \cdot \text{cm}^2$)	Y_0 ($\mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$)	a_p
2	3,96E6	1435	0,89
4	1,21E6	831	0,92
6	5,62E6	739	0,93

La voltamétrie cyclique a été utilisée pour tenter de mettre en évidence l'activité des biofilms sur les surfaces des électrodes. La figure III.19 montre les premiers cycles des expériences réalisées dans des conditions sans agitation 2, 4 et 6 (tableau III.5). Le pic d'oxydation de l'eau (H_2O) est communément observé au-dessus du potentiel de 1V [199]. Sur les 3 courbes, on observe également un petit pic d'oxydation autour de +0,6 V et le pic de réduction correspondant à - 0,2 V par rapport à SCE. Ces pics correspondent probablement à la signature de la couche passive formée sur l'acier inoxydable 254 SMO. Dans des conditions non stériles, deux autres pics sont présents dans l'oxydation à +0,8 V et +0,95 V environ par rapport à SCE, ils ne présentent pas de correspondance en conditions réductrices.

Ces pics sont probablement liés à l'oxydation de Fe (II) en Fe (III) et Cr (III) en Cr (VI) respectivement [25].

Néanmoins, le fait que les réductions associées n'apparaissent pas, suggèrent que ces nouvelles espèces formées lors du balayage d'oxydation ont probablement disparu. Si l'élément fer peut provenir à la fois du métal et du milieu (probablement pas du milieu tel indiqué dans le paragraphe 3.5.2), ce n'est pas le cas du chrome qui est totalement absent du milieu. Ce qui confirme que la présence du biofilm à l'interface métal/milieu modifie la composition chimique de la couche passive et donc probablement ses propriétés semi-conductrices.

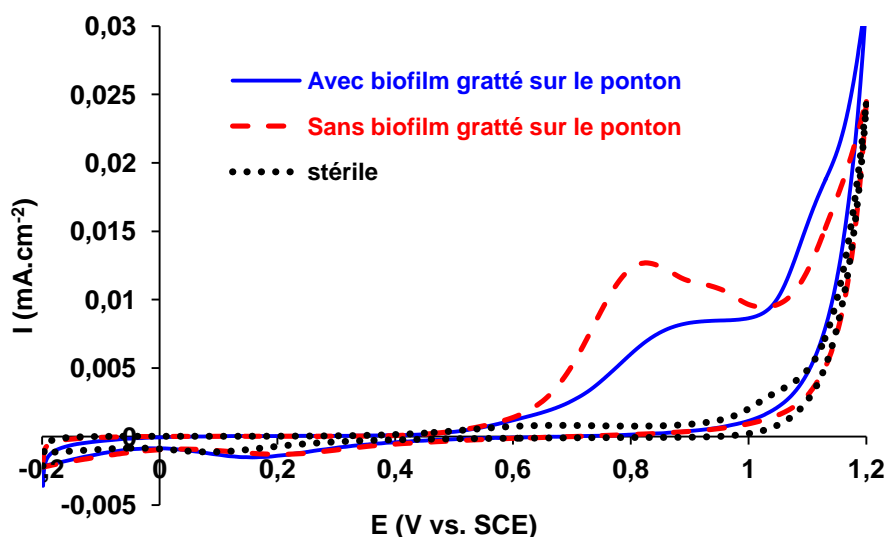


Figure III.19 : Voltammogrammes cycliques des premiers cycles de chaque condition expérimentale sans agitation, de l'acier inoxydable 254 SMO après 22 jours d'immersion.

Les figures III.20.a et III.20.b présentent quatre cycles successifs respectivement pour les échantillons dans des conditions 4 et 6. Ces courbes confirment la disparition des pics d'oxydations à +0,8 et +0,95 V par rapport à SCE car ils n'apparaissent plus dans les cycles 2, 3 et 4, pour lesquelles les courbes sont superposées. L'étude de la voltammétrie cyclique montre, cependant, que la présence du biofilm modifie la chimie de l'interface. Il est possible que la présence d'espèces qui s'oxydent (Cr^{3+} et Fe^{2+}) reflète une modification chimique de la couche de passivation due à un changement dans le régime diffusion.

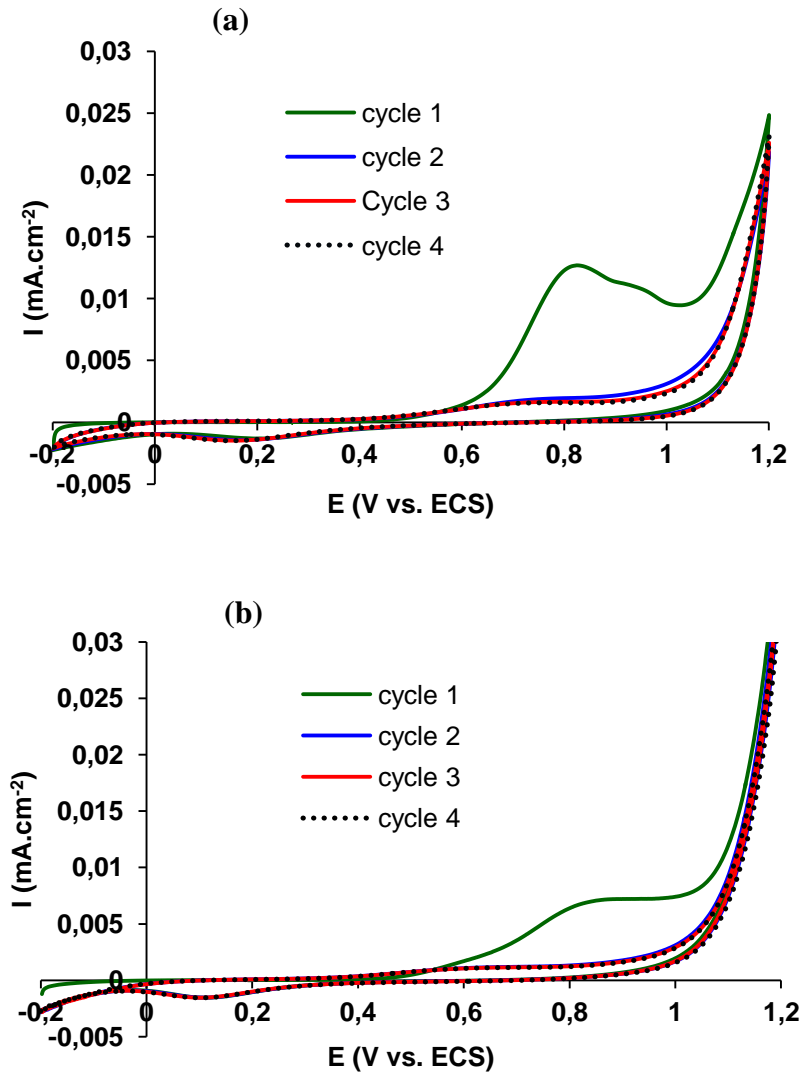


Figure III.20 : Voltammogrammes cycliques de l'acier inoxydable 254 SMO brut après 22 jours d'immersion dans les conditions expérimentales, sans agitation, (a) avec biofilm gratté sur le ponton et (b) sans biofilm gratté sur le ponton : conditions 4 et 6 respectivement.

La figure III.21 montre la partie anodique de la courbe de polarisation linéaire pour des expériences stériles et non stériles effectuées sans agitation. Il convient de noter qu'il existe une zone de passivation sur les 3 courbes. Cependant, elle commence à un potentiel plus faible (environ +0,5 V) pour l'échantillon dans un environnement stérile et se termine à +0,9 V. Pour les environnements non stériles, le plateau de passivation se situe entre +0,8 et environ +1,05 V, elle est décalée vers des courants plus élevés. Cela confirme également que la couche passive est affectée par la présence d'un biofilm. L'augmentation du courant de

passivation par un facteur de 10 en présence d'un biofilm indique que l'échange électronique est augmenté pour une tension donnée.

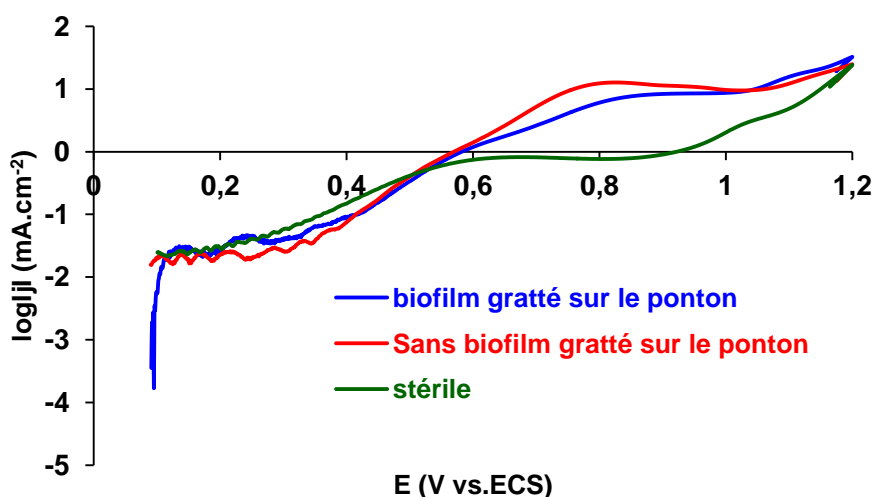


Figure III.21 : Courbes anodiques de l'acier inoxydable 254 SMO brut pour chaque condition expérimentale sans agitation

Des observations et analyses de surface sont effectuées sur les échantillons d'acier inoxydable immergés dans l'eau de mer naturelle, afin de caractériser le biofilm et d'avancer des hypothèses quant au mécanisme conduisant à l'augmentation du potentiel d'abandon.

Les observations de surface d'échantillons immergés durant 4 semaines dans le Mahury ont été réalisées par microscopie à épifluorescence. Pour cela, les électrodes ont été colorés pendant 10 minutes avec de l'acridine orange à 0,01 %, et le DAPI à 0,01%. Une fois que les électrodes ont été séchées à l'air ambiant, le microscope à épifluorescence nous a permis de visualiser la colonisation de la surface des échantillons par le biofilm. Les observations de l'acier immergé en milieu Larivot (non représentées ici) et en milieu Mahury (figure III.20) sont assez semblables.

Trois filtres ont été utilisés pour l'observation de la surface des échantillons : 2 filtres DAPI (01 DAPI- figure III.22.c et 49 DAPI- figure III.22.b) et 1 filtre Acridine orange (AF 488-figure III.22.a), Les images obtenues sont en noir et blanc. Les taches blanches indiquent les zones de l'électrode colonisée par les bactéries et le biofilm. Les zones noires

correspondent à la surface de l'électrode non colonisée. Des recolorisations ont été effectuées grâce au logiciel de traitement d'images Axio Vision release. Ainsi le biofilm ayant colonisé la surface de l'acier fluoresce en vert (figure III.22.d), on constate alors que le biofilm ne recouvre pas la totalité de la surface des échantillons au bout de 4 semaines d'immersion. Les filaments déposés sur l'acier pourraient être attribués aux matières en suspension présentes dans l'eau de mer.

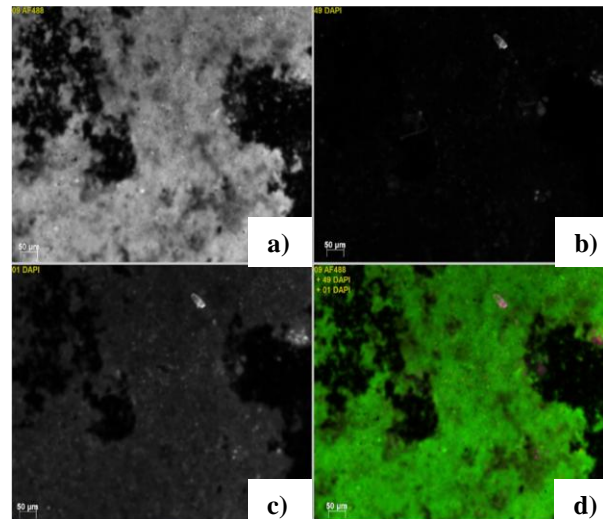


Figure III.22 : Observations de la surface d'échantillon d'acier inoxydable immergé dans l'eau du Mahury pendant 4 semaines avec 2 filtres DAPI - c) 01 DAPI et - b) 49 DAPI ; 1 filtre Acridine orange -a) AF 488 et -c) les 3 filtres ensemble

Afin d'imager la surface avec une meilleure résolution et d'effectuer des micro-analyses chimiques sur nos échantillons, nous avons utilisé la microscopie électronique à balayage environnementale (MEBE). Le système ESEM / EDS (Energy Dispersive Spectroscopy) a permis : i) d'observer l'évolution de la colonisation du biofilm sur la surface de l'acier pendant les 30 premiers jours d'immersion, ii) de confirmer la présence de bactéries et d'exopolymères sur sa surface et iii) de quantifier les compositions chimiques des biofilms adhérents.

Les images de la surface des échantillons d'aciers avant immersion (figure III.23.a), en milieu non stérile avec ajout du biofilm "gratté" sur le ponton (figure III.23.b), en milieu non stérile sans ajout du biofilm gratté sur le ponton (figure III.23.c) montrent l'influence de l'ajout du biofilm "gratté" sur la colonisation de notre acier 254 SMO brut. En effet, on

observe des taches blanches plus importantes en présence de ce dernier qu'en absence de celui-ci, signifiant une présence de microorganismes plus importante.

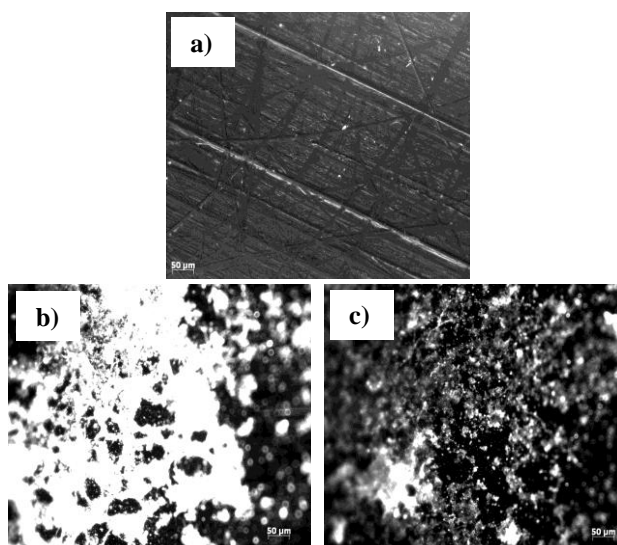


Figure III.23 : Observations à l'aide de microscope à épifluorescence de l'acier inoxydable 254 SMO brut : a) avant immersion, b) en milieu non stérile + ajout de biofilm gratté sur le ponton, c) en milieu non stérile sans ajout de biofilm gratté sur le ponton, pendant 22 jours d'expériences

La figure III.24 montre les images réalisées avec un détecteur BSED (détecteur d'électrons rétrodiffusés). On observe donc l'évolution de la colonisation du biofilm sur la surface de l'acier immergé dans l'eau du Mahury et le taux de couverture associé. Les éléments entrant dans la composition du biofilm, ayant un numéro atomique plus léger que les éléments de l'acier inoxydable utilisé comme électrode (254 SMO brut), apparaissent en gris foncé ou noir sur l'image. Le calcul du taux de couverture a été fait avec le logiciel de traitement d'image en divisant la zone blanche par la superficie de l'acier. Le taux de couverture augmente avec le temps d'immersion, mais tend vers une limite d'environ 42% après 30 jours d'immersion. Les essais sont effectués en montage statique (récipient de 3 L). Il est possible alors de considérer que cette limite peut être liée au fait que la quantité de nutriment nécessaire au développement du biofilm sur la surface de l'acier s'amenuise. La technique du montage statique montre alors ces limites (dans la durée).

Les images de la figure III.25.a, b, c et d représentent la morphologie du biofilm à différents grossissements utilisant plusieurs détecteurs. Ceux-ci montrent la présence d'un biofilm complexe comprenant des agrégats régulièrement réparties sur la surface et bordée d'exopolymères. Ils montrent clairement que de nombreuses bactéries sont présentes.

La composition chimique du biofilm sur la surface du matériau (faite par EDS) est représentée dans la figure III.26. Les biofilms contiennent majoritairement des silicates d'aluminium (Al-Si-O), du Fe et du C ainsi que des traces de sels minéraux (Na, Cl, K, Mg).

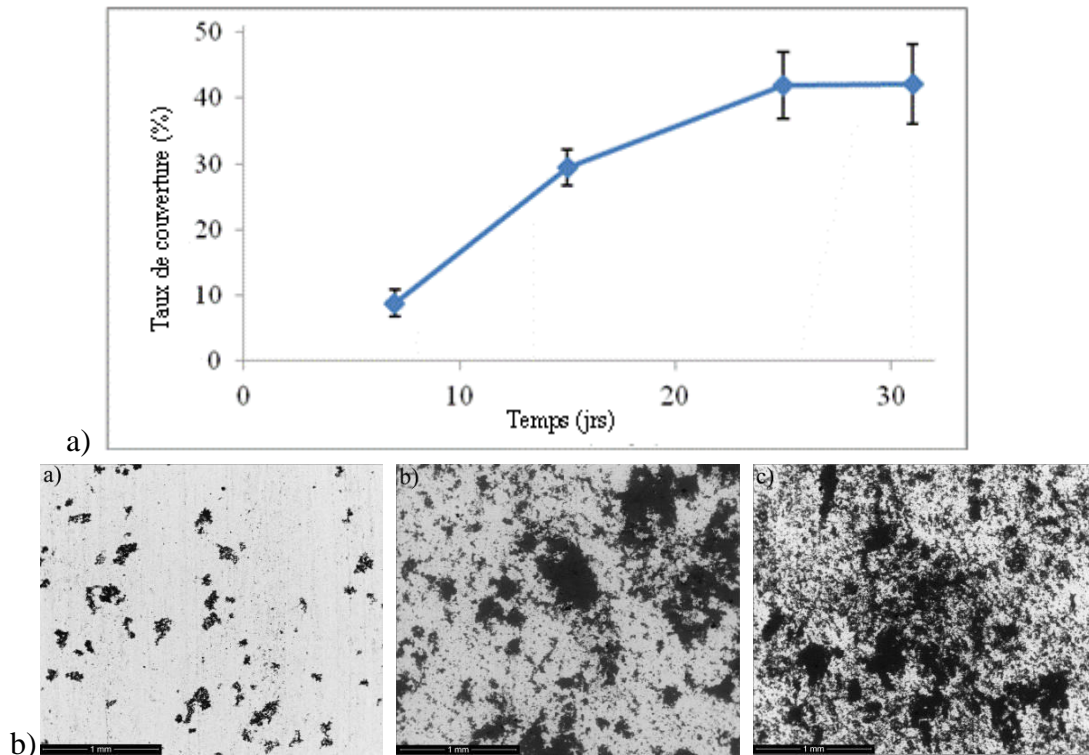


Figure III.24 : a) Evolution du taux de recouvrement en fonction du temps ; b) les images BSED de la surface de l'acier 254 SMO brut immergé durant 7, 15 et 30 jours en Mahury

La figure III.26 est une image réalisée avec un détecteur BSED sur la surface de l'acier en Mahury. Deux analyses EDS aux points 1 et 2 sont données dans la figure III.27.b et c. L'analyse du point 1 correspond à la composition de l'acier inoxydable. L'analyse du point 2 donne une composition chimique qui comprend les éléments présents dans l'alliage et dans le biofilm. Dans le chapitre 2 (figure II.6) nous avons constaté la présence de défauts sur la surface de l'acier. Les biofilms semblent s'y installer préférentiellement. Cela contribue à « lisser » la surface de notre alliage et va dans le sens d'une augmentation des valeurs a_p (tableau III.6).

Après le nettoyage de l'échantillon par un léger décapage par ultrasons, une cartographie de la composition chimique, au moyen d'une analyse EDS sur la surface de

l'échantillon recouvrant un défaut de forme circulaire (figure III.28), révèle la présence d'éléments d'aluminosilicate Al-Si-O (composant majoritaire du biofilm signifiant que le décapage par ultrasons ne suffit pas pour décrocher ces composés présents dans les défauts) et d'éléments Fe-Cr-Ni-Mo attribués à l'acier. Là aussi le biofilm semble s'être installé dans cette zone à "fort" relief.

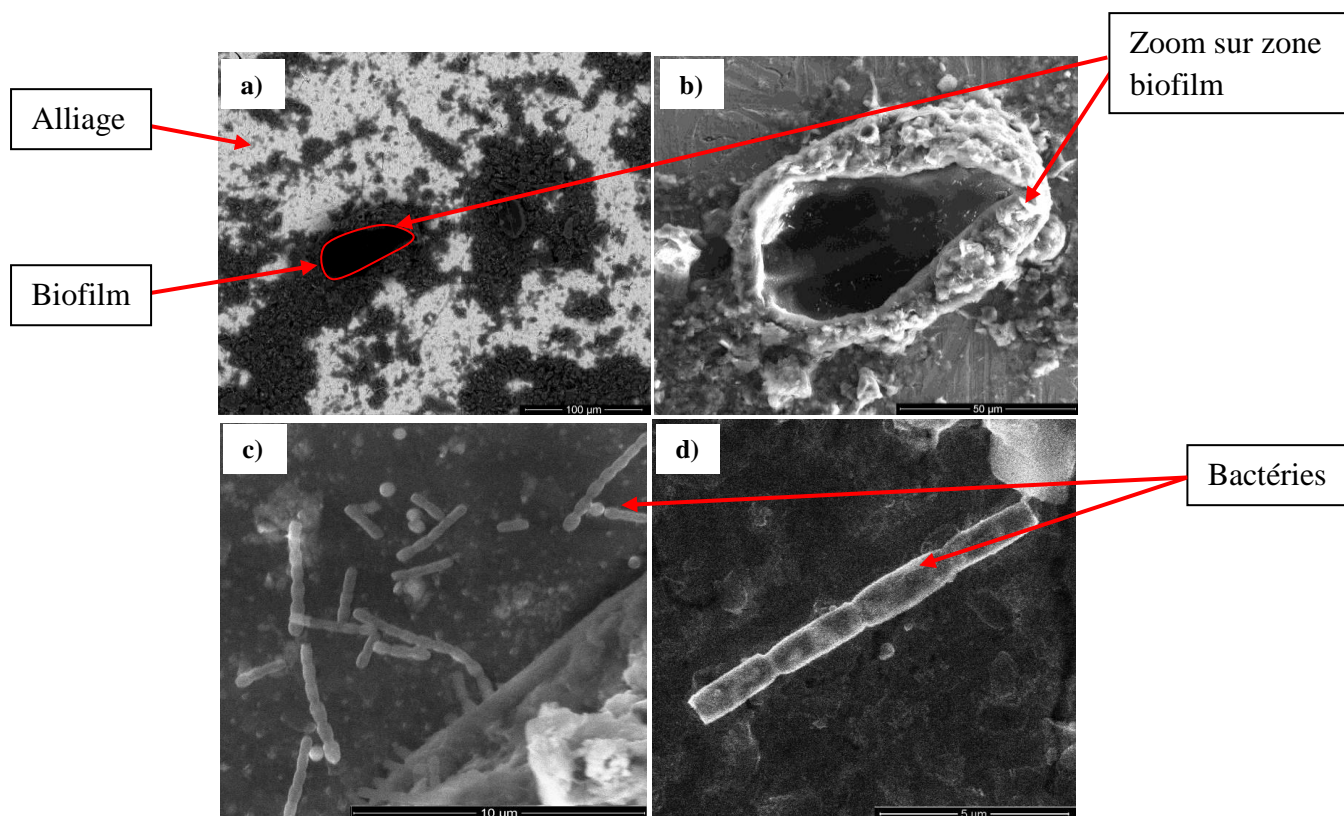


Figure III.25 : Images du biofilm et des bactéries adhérents à la surface de l'acier inoxydable après 22 jours d'immersion en milieu Mahury ; a) Détecteur BSED, x 400, Pression 60 Pa, Energie d'accélération 15 Kev ; b) Détecteur LFD, x 1 200, Pression 60 Pa, Energie d'accélération 15 Kev ; c) Détecteur LFD, x 16 000, Pression 60 Pa, Energie d'accélération 10 Kev ; Détecteur GSED, x 24 000, Pression 600 Pa Energie d'accélération 10 Kev

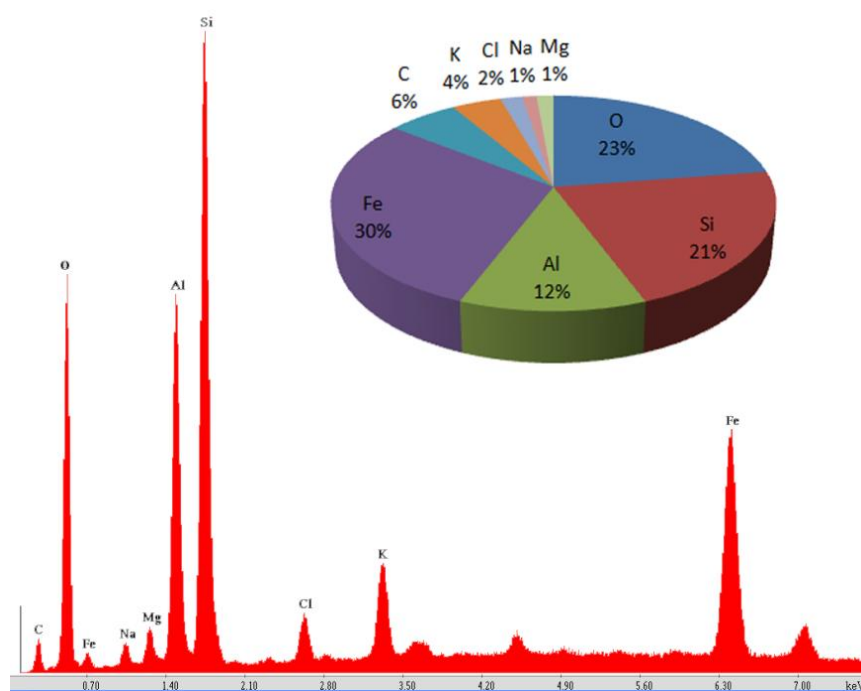
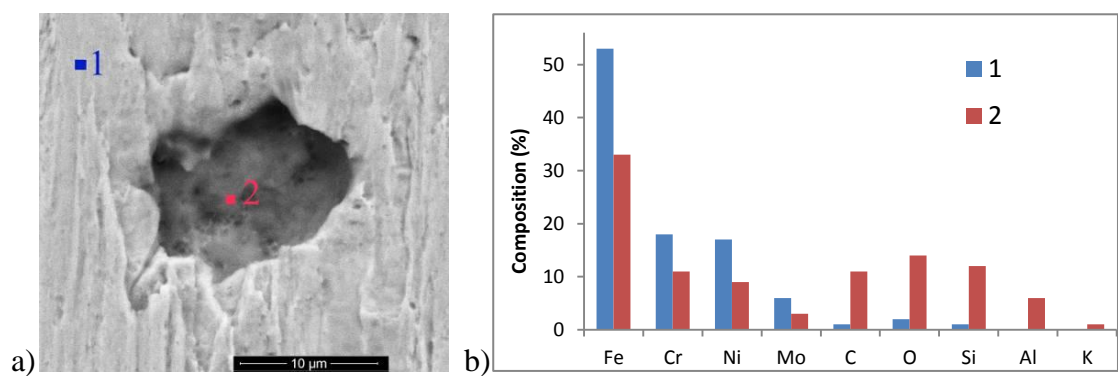


Figure III.26 : Analyse EDX du biofilm en Mahury avec la détecteur BSED, x 4000, Pression $1,10^{-4}$ Pa, Energie d'accélération 20 Kev



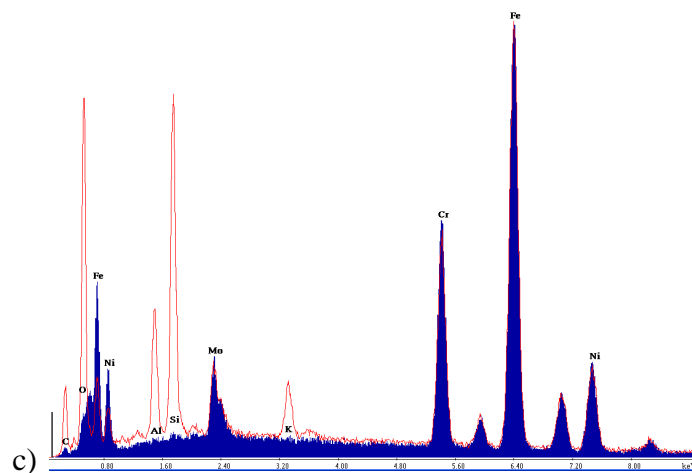


Figure III.27 : Analyse EDX réalisée avec le détecteur BSED sur l'acier inoxydable immergé en Mahury, avec une pression de $1,10^{-4}$ Pa, une énergie d'accélération de 20 Kev après 22 jours d'expérience, a) EDS image aux points 1 et 2, b) correspondant aux résultats quantitatives, c) spectres correspondant

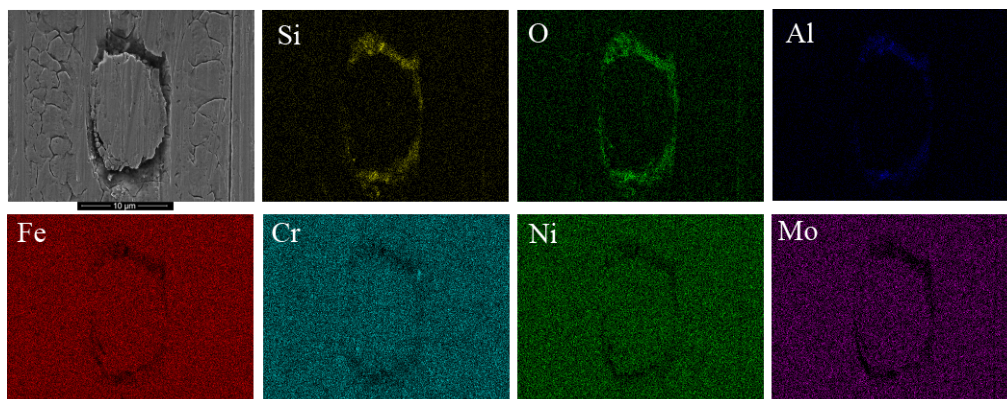


Figure III.28 : Cartographie EDS après nettoyage, de la zone visualisée sur les défauts métalliques de l'acier inoxydable 254 SMO brut, après 22 jours d'immersion en Mahury

III.2.3 Identification des espèces bactériennes des biofilms

La DGGE et l'identification des espèces bactériennes ont été réalisées avec l'aide de Matthieu de Ryvoire (microbiologiste du L3MA). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau III.7. L'homologie qui désigne le même caractère observé chez deux espèces différentes, ayant hérité d'un ancêtre commun mais dont la fonction chez chacune des espèces n'est pas forcément la même, est également mentionné en pourcentage, dans le tableau III.7.

Il ressort de ce tableau que la majorité des espèces présente une homologie supérieure à 90%. L'espèce *Desulfuromonas acetexigens* retrouvée dans le biofilm du Mahury, appartient à la famille des bactéries sulfato-réductrices (BSR). Elle est référencée comme étant présente dans la corrosion anaérobie de la surface des métaux [201,202]. Quant à l'espèce *Thalassolituus oleivorans*, comme son nom l'indique, elle est capable de dégrader l'huile (-oleivorans), elle joue un rôle important dans la biodégradation des hydrocarbures pétroliers [203]. Les espèces *Oceanospirales* et *Oceanobacter kriegii* sont également connus comme étant des bactéries dégradant les hydrocarbures du pétrole dans les milieux marins [204,205]. Il est important de noter ici, que les lieux étudiés sont des lieux soit de transit de bateaux, (le Mahury menant au port de Degrad des cannes où la totalité des produits importés arrive en Guyane) soit d'arrimage (le port du Larivot est un port de pêche principalement crevettier). Il n'est donc pas étonnant de trouver des spectres microbiens dont le métabolisme est lié à la présence d'hydrocarbures.

L'espèce *Roseobacter sp*, identifiée dans le Larivot représente 25% des bactéries marines côtières et les membres de cette lignée traitent une partie significative du carbone total dans l'environnement marin [206]. Les espèces *Marinobacterium stanieri*, et *Spirochaeta caldaria* sont retrouvées en eau de mer également, *Sphingobacterium* est quant à elle référencée comme étant impliquée dans la corrosion du cuivre de plomberie [207].

Tableau III.7 : Espèces bactériennes identifiées dans les biofilms adhérents à l'acier inoxydable 254 SMO brut aux cours des expériences

Milieux	Espèces bactériennes identifiées (% d'homologie)
Mahury	- <i>Desulfuromonas acetexigens</i> (97%) - <i>Thalassolituus oleivorans</i> (96%) - <i>Oceanospirales</i> (95%) - <i>Oceanobacter kriegii</i> (94%)
Larivot	- <i>Roseobacter sp</i> , (98%) - <i>Marinobacterium stanieri</i> (97%) - <i>Spirochaeta caldaria</i> (92%) - <i>Sphingobacterium</i> (84%)

Les espèces identifiées diffèrent d'une eau de mer (Mahury) à une autre (Larivot). Elles sont toutes connues comme étant présentes dans les milieux marins. Ainsi, on a pu obtenir un aperçu des communautés bactériennes composant les biofilms. Cependant on ne

peut démontrer qu'une espèce précise est responsable d'un comportement électrochimique observé à la surface de l'acier inoxydable, d'où la nécessité d'isoler et cultiver chacune des bactéries présentes dans le biofilm pour éventuellement évaluer leur rôle respectif.

III.2.4 Remarques d'ordre général sur la caractérisation électrochimique

La plupart des résultats obtenus dans le cadre de la caractérisation électrochimique de notre acier sont en bonne adéquation avec la littérature.

- Le biofilm semble augmenter la résistance de l'interface [101] et notamment augmente l'impédance du système aux hautes fréquences (phénomènes rapides).
- Ce phénomène pourrait être lié à une modification de la couche passive comme en témoignent les voltammogrammes cycliques avec la présence de 2 pics supplémentaires lors de la première oxydation [208] et les analyses chimiques.
- Il a été montré également que les biofilms s'installaient préférentiellement (dans un premier temps) dans les défauts métalliques [209].

A ce stade, il nous est apparu opportun de réaliser des manipulations *in-situ* afin de confirmer nos résultats, mais également parce que les expériences en mode statique semblent, pour des durées importantes s'éloigner de la réalité du terrain.

**Chapitre IV : Etude du comportement
électrochimique de l'acier inoxydable
immergé dans l'eau de mer naturelle sur le
terrain ("*in situ*")**

Ce chapitre est construit en quatre parties.

La première partie consiste en une étude préliminaire qui a pour objet de poser les jalons d'une étude plus complète.

La deuxième partie propose une étude plus poussée intégrant une modélisation électrochimique de la surface.

Les conclusions des deux premières parties nous ont amené à réaliser des expérimentations « mixtes » où la période d'incubation du biofilm se déroule *in-situ* et la période de « croissance » du biofilm au laboratoire.

Enfin la quatrième partie compile les résultats des chapitres 3 et 4 et tente d'interpréter les phénomènes électrochimiques.

IV.1 Etude préliminaire

Les travaux menés en laboratoire (*ex-situ*) dans le chapitre III ont permis d'améliorer la compréhension du comportement électrochimique de l'acier inoxydable 254 SMO en eau de mer. Des études ont également été réalisées sur le terrain (*in-situ*) au port du Larivot, dans le but de comparer les résultats obtenus dans les deux conditions. Les échantillons d'aciers inoxydables 254 SMO sont fixés selon le montage de la figure II.7 (chapitre II) avant immersion. Les termes de surface "brute" et "grenailée" sont employés dans ce paragraphe pour désigner respectivement l'état de surface du premier et le caractère "biphasé" de la surface pour le 2^{ième}.

IV.1.1 Suivi du potentiel d'abandon

Les mesures de potentiel ont été effectuées à l'aide d'un multimètre (BK TOOL KIT 2706A) sur le terrain, toutes les semaines et avant chaque retrait. Concernant les mesures d'impédance électrochimiques, elles ont été réalisées en laboratoire sur l'échantillon prélevé en montage statique (3L prélevé également le même jour du terrain).

L'observation de la figure IV.1 montre que le potentiel d'abandon des 2 échantillons fluctue avec le temps d'immersion. Les six premiers jours le potentiel augmente jusqu'à atteindre respectivement +344 mV pour l'acier brut et +82 mV pour l'acier grenailé. Malgré les fluctuations observées au cours du temps, au bout de 40 jours, le potentiel d'abandon de l'acier brut atteint une valeur de +426 mV, comparé à celui de l'acier grenailé qui présente

une valeur de +48 mV. Notons que les expérimentations ont eu lieu au mois de mai-juin (grande saison de pluie). Les valeurs de potentiel d'abandon à chaque retrait en fonction du temps d'immersion sont indiquées dans le tableau IV.1.

L'évolution du potentiel en fonction du temps de l'acier brut subit des fluctuations importantes, notamment lors des 6-7 premiers jours. Néanmoins, le potentiel d'abandon se stabilise avec le temps et tend vers une asymptote. L'évolution du potentiel de l'acier grenailé semble moins fluctuante et relativement constante en fonction du temps : il évolue entre les valeurs de -11 et +113 mV/ECS. Ses valeurs sont largement inférieures à celles de l'acier brut. La présence de grains d' Al_2O_3 sur la surface du matériau a donc une influence significative sur le comportement de l'acier. Dans une publication récente [210], B. Zheng et al. ont montré qu'un alliage d'aluminium revêtu d'un film céramique à forte teneur en Al_2O_3 immergé dans un milieu de culture contenant des SRB se stabilisait à un potentiel d'environ -600mV/ECS au bout de 18 jours. La valeur obtenue pour l'acier grenailé de surface « biphasée » est donc comprise entre les valeurs d'une part du 254 SMO brut et d'autre part de l'aluminium revêtu. D'autres publications ont fait état de potentiels du même ordre de grandeur concernant divers alliages d'aluminium [211,212].

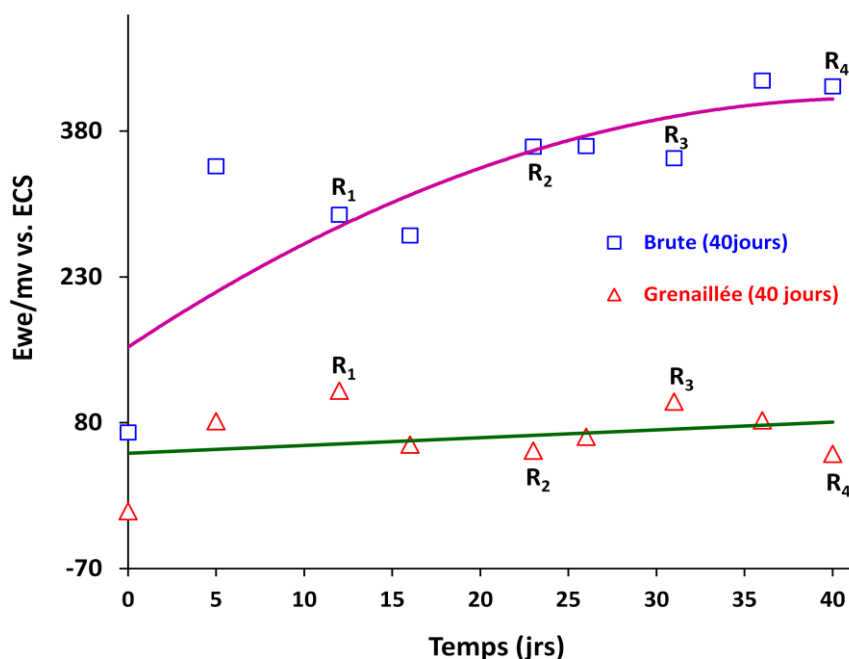


Figure IV.1 : Suivi du potentiel d'abandon des deux échantillons brut et grenailé de l'acier inoxydable 254 SMO immergés dans l'eau du Larivot *in-situ* (R désigne la date du retrait)

Les valeurs des potentiels relevées quel que soit l'échantillon ne semblent pas corrélées à l'instant de prélèvement (marée montante ou descendante). La valeur de potentiel pour l'acier brut à 31 jours (+352 mV/ECS) est supérieure mais relativement proche de celle obtenue en montage statique (+280 mV/ECS) pour une même durée d'immersion (ex-situ chapitre III).

Tableau IV.1 : Valeurs de potentiel d'abandon mesurées lors des 40 jours d'immersion *in-situ* dans l'eau du Larivot

Temps (jrs)	Ewe/mV vs. ECS (acier brut)	Ewe/mV vs. ECS (acier grenailé)	Type de marée
0	70	-11	Descendante
5	344	82	Montante
12 (R1)	294	113	Descendante
16	273	57	Descendante
23 (R2)	364	51	Montante
26	365	66	Descendante
31(R3)	352	102	Descendante
36	432	82	Montante
40 (R4)	426	48	Montante

IV.1.2 Impédance électrochimique

Les diagrammes d'impédance concernant l'acier brut (figure IV.2 a et b) font apparaître une évolution cohérente du comportement sur les diagrammes en fonction du temps d'immersion. L'impédance haute fréquence augmente avec la durée d'immersion, tendance que nous avons déjà observée au Chapitre 3. Cela traduit une résistance accrue du système pour les phénomènes rapides notamment les phénomènes de transfert de charges à l'interface métal/couche passive/biofilm.

L'impédance à basses fréquences propose des valeurs identiques quelque soit le temps d'immersion. Les diagrammes d'impédance pour l'acier grenailé (figure IV.2 c et d) montrent également une évolution logique des paramètres $|z|$ et ρ en fonction de la fréquence exceptée pour le retrait R₃. Les valeurs obtenues sont très différents de celles des trois autres manipulations, il est probable que cette expérimentation soit un artéfact.

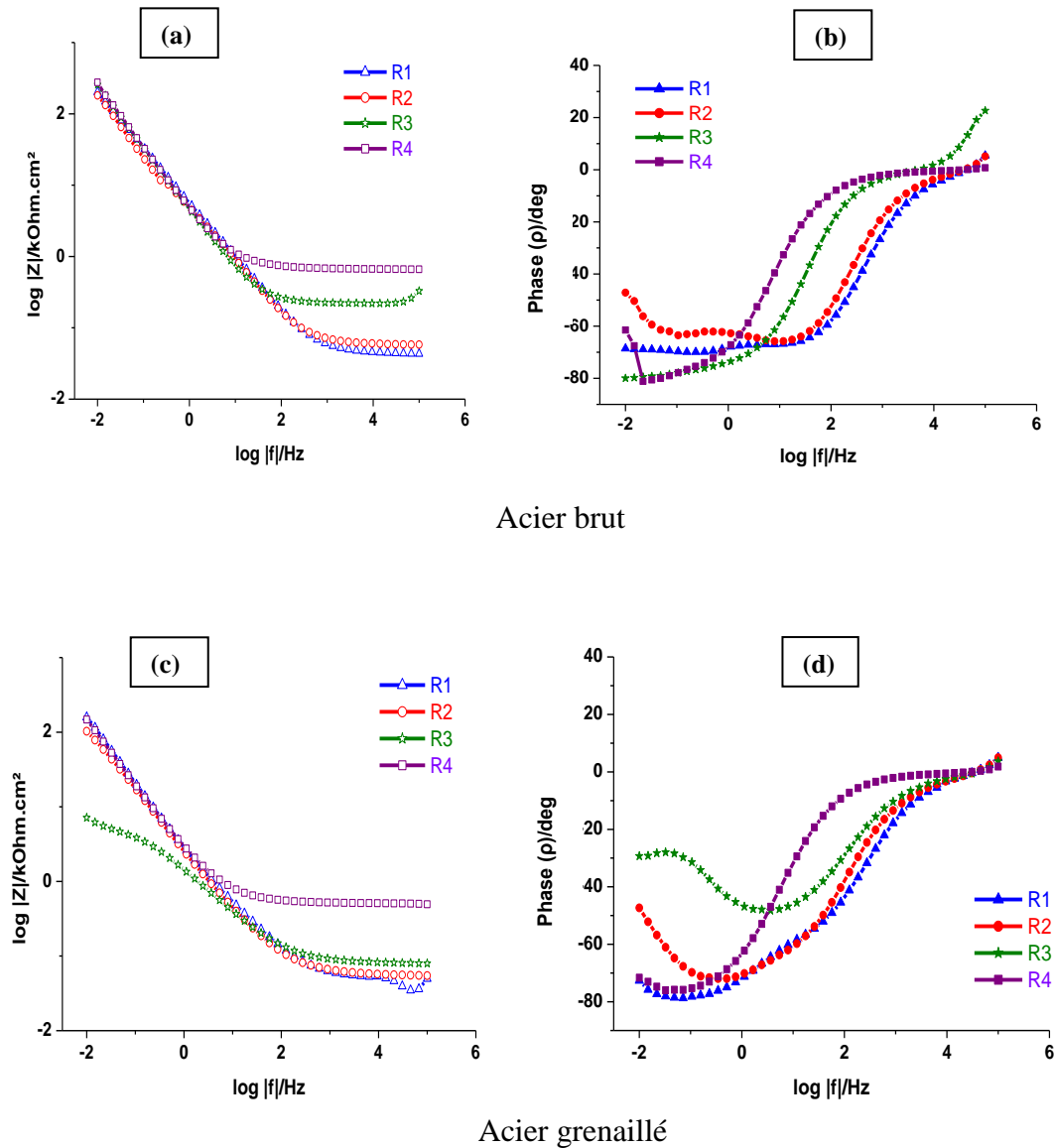


Figure IV.2 : Diagrammes de bode obtenus à chaque retrait avec les aciers brut et grenailé immergés in-situ pendant 40 jours dans l'eau du Larivot module (a)/(c) et (b)/(d) en fonction de la fréquence

IV.1.3 Observation au microscope électronique à balayage

La figure IV.3 réalisée en microscopie électronique à balayage environnementale (sous une faible tension d'accélération) montre une colonisation de la surface de l'acier inoxydable 254 SMO brut en fonction de la date des retraits.

On constate la présence de bactéries dans les premiers jours (12 jours) d'immersion. Celles-ci restent visibles et semblent plus nombreuses lorsque le temps d'immersion augmente (figure IV.4 **a**, **b**, **c**, et **d**). La matrice d'exopolymères apparaît logiquement plus

dense avec l'augmentation du temps d'immersion. Concernant la surface de l'acier grenailé, on constate également la présence de bactéries et d'exopolymères dans des proportions similaires à celle de l'acier brut. On remarque également la présence de petits crustacés pour des temps d'immersion de 14 et 28 jours (figure IV.4 e et f).

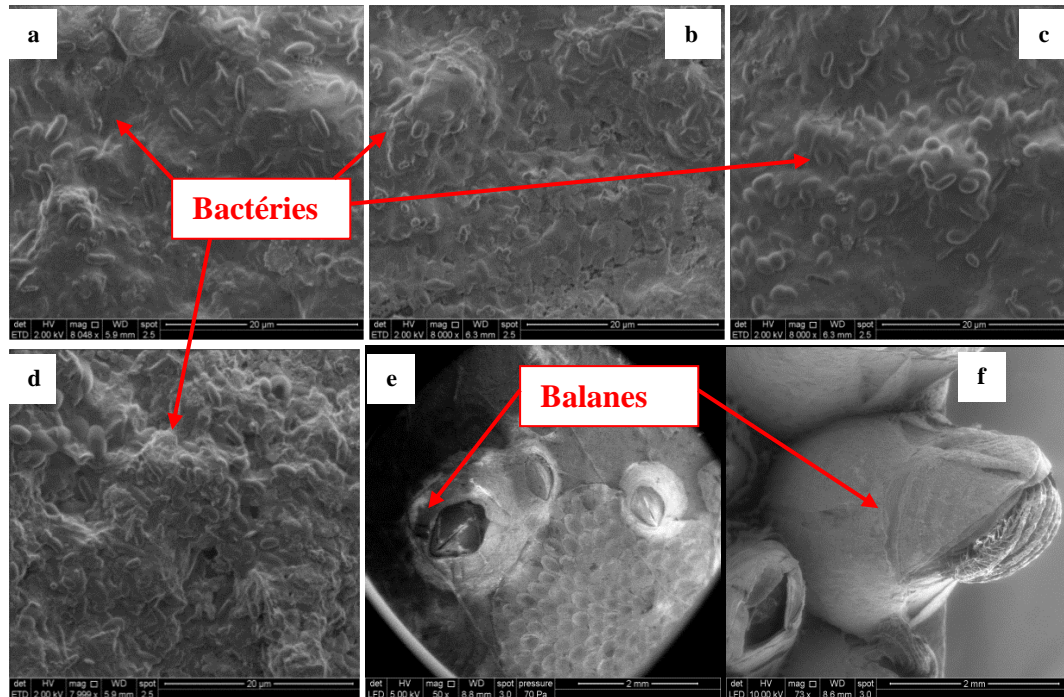


Figure IV.3 : Observations de la surface de l'acier brut en fonction de la date des retraits a) 12jours, b) 23 jours, c) 31 jours et d) 40 jours, de l'acier grenailé e) 14 jours et f) 28 jours

IV.2 Caractérisation électrochimique de l'interface hétérogène : influence de la surface (état et composition) de la phase solide.

IV.2.1 Suivi du potentiel d'abandon

Cette partie du chapitre IV propose une étude plus approfondie du comportement de l'interface complexe métal/couche passive/biofilm. Elle incorpore également un troisième matériau : l'acier 254 SMO poli suivant le protocole décrit dans le chapitre II. Les mesures de potentiel d'abandon des trois différents coupons d'aciers inoxydables ont été réalisées *in situ* sur le site du Larivot, à la même heure, le même jour de chaque semaine (tous les lundis). On constate une fluctuation assez marquée du potentiel d'abandon avec le temps.

En effet, les valeurs du potentiel effectuées au 7^{ième} et 14^{ième} jours d'immersion (figure IV.4) sont éloignées de celles obtenues dans le paragraphe précédent. Des valeurs relevées aux 21^{ième} et 28^{ième} jours semblent plus cohérents avec celles obtenues lors de l'étude préliminaire. Le potentiel de la surface brute est d'environ +300mV à 28 jours et celui de la surface grenailée à environ -100 mV. Celui relatif à la surface polie aux alentours de +100mV. Les valeurs mesurées à 21 et 28 jours (et 14 jours pour la surface grenailée) semblent cohérentes en comparaison des résultats obtenus lors de nos études antérieures.

Nous avons cherché une corrélation entre ces fluctuations et les types de marée observés (montante ou descendante tableau IV.2), s'il semble bien qu'un lien existe, nous n'avons néanmoins jamais retrouvé cette dépendance lors des expérimentations antérieures et postérieures.

Tableau IV.2 : Etat de la marée à chaque date de retrait des échantillons de l'eau du Larivot

Dates à chaque retrait	Marées
t=0jour	Descendante
t=7jour	Montante
t=14jour	Descendante
t=21jour	Montante
t=28jour	Descendante

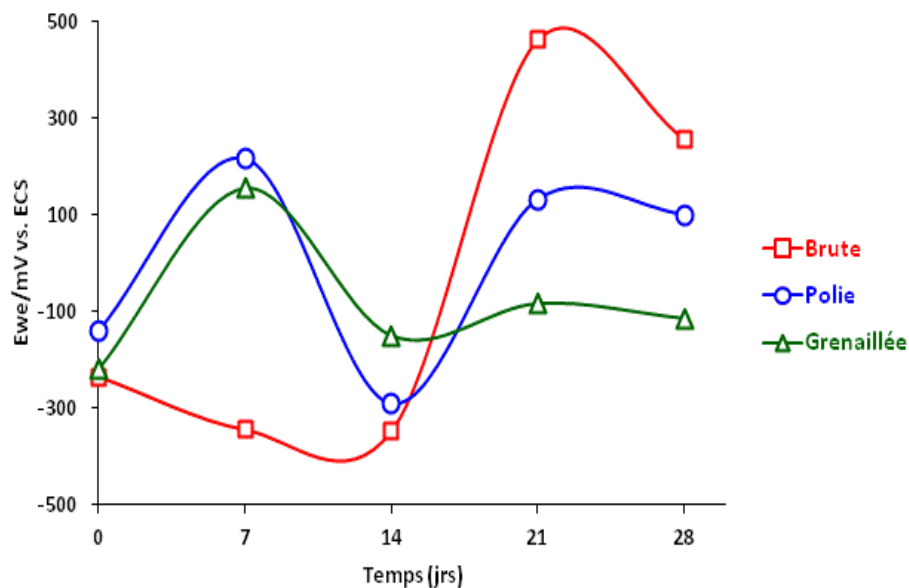
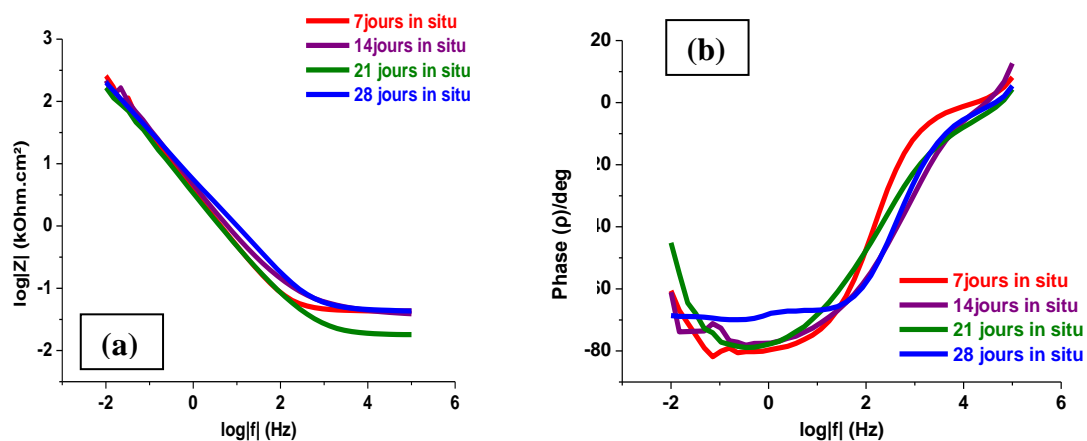


Figure IV.4 : Evolution du potentiel d'abandon des trois différents échantillons d'acier immergés *in situ* sur le site du Larivot

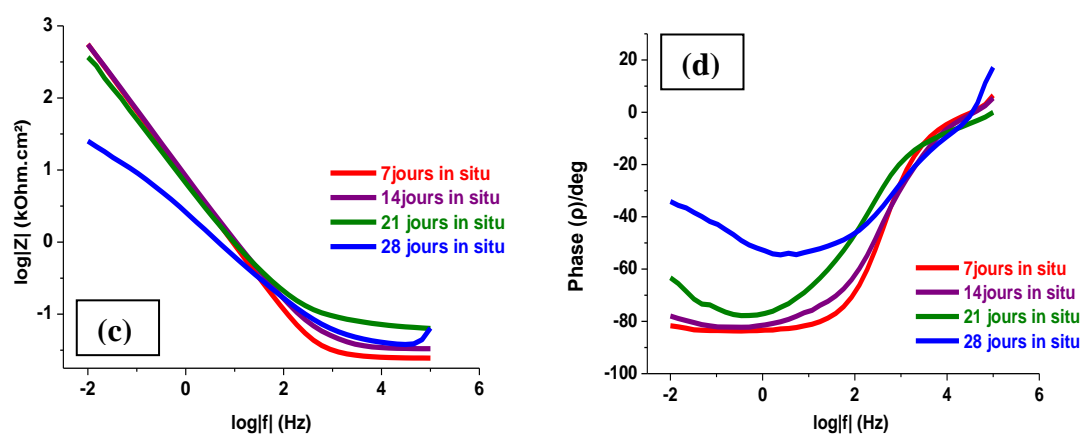
IV.2.2 Impédance électrochimique

La figure IV.5. Présente les diagrammes de Bode en module (a, c, e) et en phase (b, d, f) des trois différents types d'acier inoxydable 254 SMO (brut, poli et grenailé) immergés *in situ* pendant 4 semaines. Les diagrammes amènent les remarques suivantes :

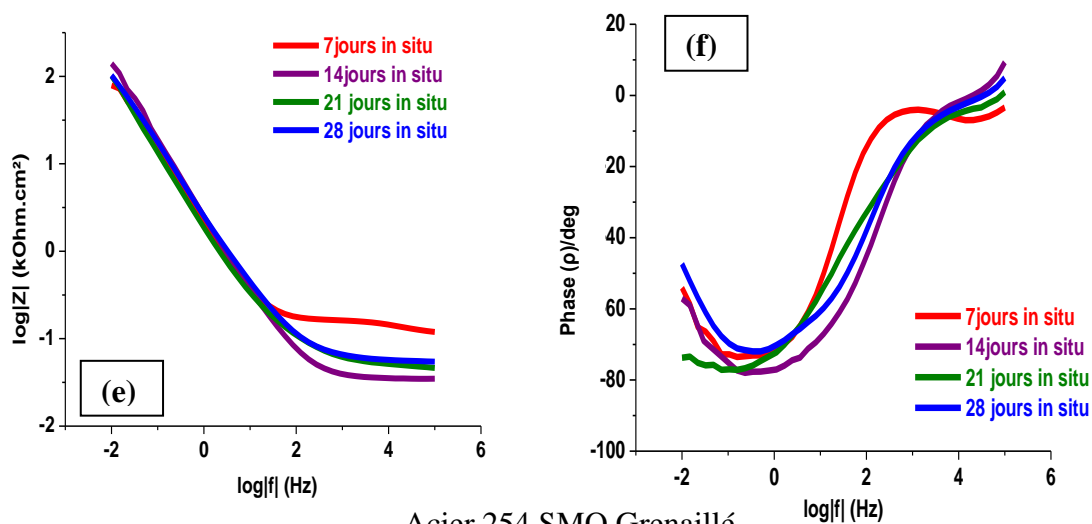
- Concernant l'acier brut (figure IV.5 a et b), les courbes ne traduisent pas une évolution flagrante du comportement électrochimique de l'interface en fonction du temps d'immersion. On peut simplement constater au niveau de la phase (ρ), l'apparition d'un plateau dans les fréquences proches de 1 Hz pour l'expérimentation à 28 jours. Ce phénomène est également visible pour les expérimentations préliminaires (cf : figure IV.2). Mais pour les temps d'immersion courts, contrairement aux expérimentations préliminaires, on n'observe pas une variation marquée de l'impédance aux hautes fréquences.
- Concernant l'acier poli (figure IV.5 c et d), les 3 premières mesures correspondant aux 3 premières durées d'immersion, montrent une évolution cohérente de l'interface telle que nous l'avons observés par ailleurs et notamment une augmentation de l'impédance aux hautes fréquences traduisant probablement une augmentation de la résistance de transfert de charge. La courbe obtenue à 28 jours traduit un comportement très différent quelque soit la fréquence. L'unicité de cette expérimentation ne nous permet pas de savoir si celle-ci est le reflet d'un artefact ou si elle traduit réellement le comportement de l'interface. D'autres manipulations devront être menées pour répondre à cette question.
- Concernant l'acier grenailé (figure IV.5 e et f), le comportement à 7 jours d'immersion s'écarte de ceux observés pour les autres durées d'immersion, ainsi que celui de la figure VI.2 effectué à 12 jours. La dispersion des résultats pour des durées d'immersion relativement courtes et probablement plus importante du fait qu'ils traduisent l'« installation » du biofilm. On peut imaginer que, pour des durées d'immersion plus longues, une certaine homogénéisation de la colonisation de la surface se produit conduisant à une dispersion moins importante.



Acier 254 SMO Brut



Acier 254 SMO Poli



Acier 254 SMO Grenaillé

Figure IV.5 : Diagrammes de Bode en module (a, c, e) et en phase (b, d, f) des trois différents échantillons d'acier immergés *in situ* pendant 4 semaines.

- D'un point de vue comparatif, on remarque qu'à hautes fréquences, les valeurs d'impédance sont plus élevées pour l'acier poli que pour les 2 autres types d'échantillons présentant des valeurs les plus petites. Il convient de prendre en compte que la surface a une influence sur les mesures d'impédances. En effet, la rugosité de la surface implique une augmentation de la surface réelle. Par conséquent, la surface réelle est probablement plus importante pour l'échantillon grenailé que pour les deux autres.

Afin de comparer nos résultats avec ceux de la littérature, nous avons proposé les schémas suivants (figures IV.7) permettant la caractérisation de notre interface. Par souci de cohérence avec les résultats précédents, nous avons choisi le modèle a) pour les aciers poli et brut et b) pour l'acier grenailé. Ce dernier modèle prend en compte la présence des grains d'alumine (issus du grenailage) qui court-circuitent la couche passive et sont ainsi directement en contact, d'une part, avec le milieu biologique, et d'autre part, avec le métal. Les résultats des différents paramètres sont donnés dans le tableau IV.3. La figure IV.6 montre, pour 2 exemples, la bonne adéquation entre les 2 modèles et les données expérimentales.

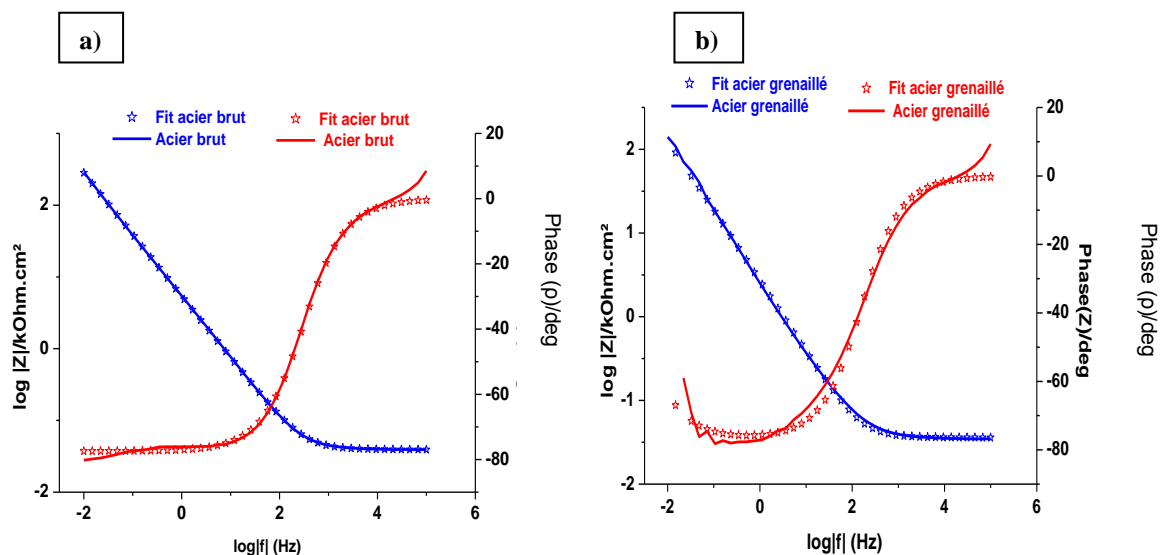


Figure IV.6 : Exemples d'ajustements des modèles aux données expérimentales : a) pour l'acier brut et b) pour l'acier grenailé

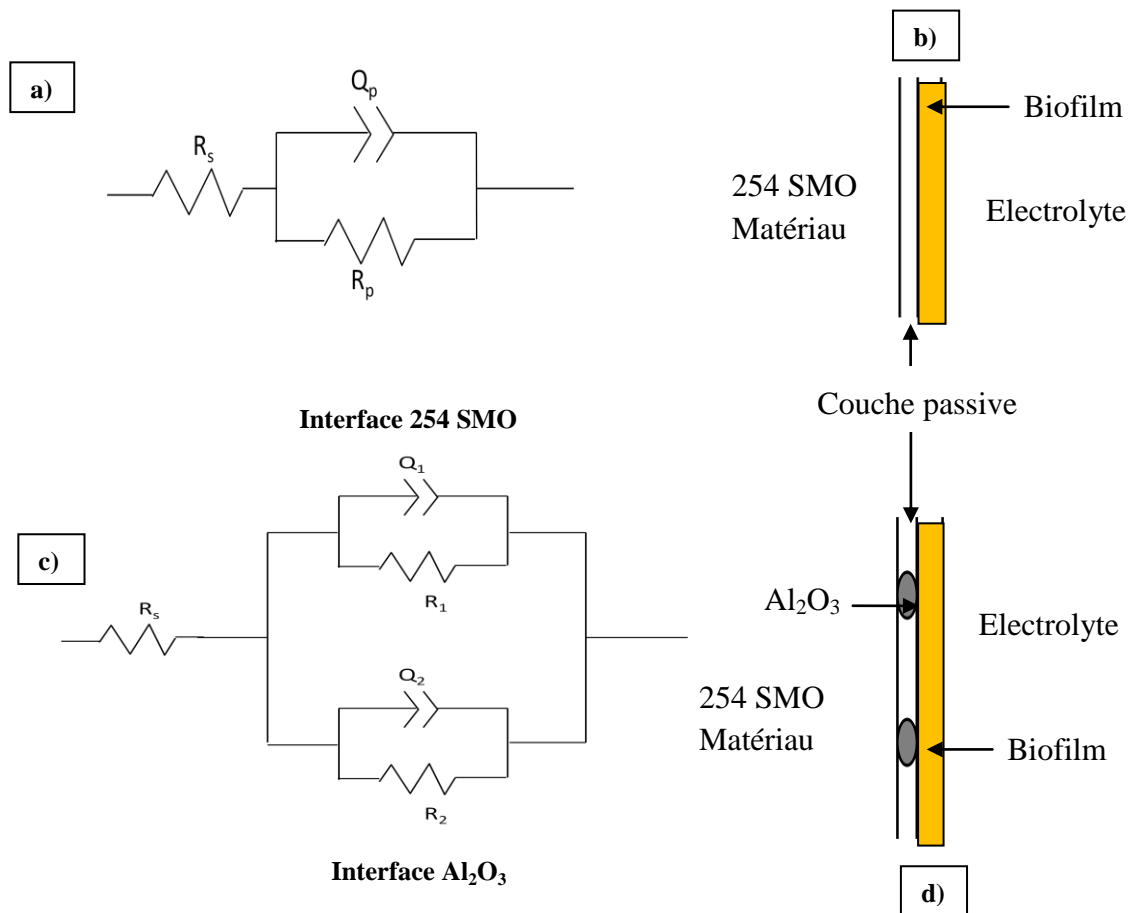


Figure IV.7 : Les circuits équivalents utilisés pour modéliser les spectres d'impédance obtenus avec l'acier brut (a), grenailé (c). (b) et (d) représentent une modélisation du schéma de la surface de l'acier brut et grenailé respectivement.

Tableau IV.3 : Paramètres électriques obtenus du meilleur ajustement des diagrammes d'impédance expérimentaux à l'interface acier inoxydable/d'électrolyte des trois différents échantillons d'acier en eau du Larivot (*in situ*)

*Valeurs obtenues des expériences préliminaires

	Temps (jours)	7 jours "in situ"	14 jours "in situ"	21 jours "in situ"	28 jours "in situ"
Acier brut	$R_p, \Omega.cm^{-2}$	604.10^3	697.10^3	597.10^3	311.10^3
	$Y_p, \mu F. cm^{-2}$	4339	7555	8320	7931
	a_p	0,88	0,81	0,82	0,77
Acier Poli	$R_p, \Omega.cm^{-2}$	909.10^3	949.10^3	965.10^3	-
	$Y_p, \mu F. cm^{-2}$	1291	2002	1623	-
	a_p	0,90	0,87	0,82	-
Acier grenailé	$R_1, \Omega.cm^{-2}$	$69.10^3 *$	235.10^3	123.10^3	88.10^3
	$Y_1, \mu F. cm^{-2}$	6868 *	7491	9798	7313
	a_1	0,93 *	0,92	0,88	0,83
	$R_2, \Omega.cm^{-2}$	$19.10^3 *$	94.10^3	27.10^3	17.10^3
	$Y_2, \mu F. cm^{-2}$	442 *	1609	1666	466
	a_2	1 *	1	1	1

Toutes les valeurs présentées dans le tableau IV.4 présentent une incertitude inférieure à 20%. Les résultats obtenus montrent que :

La résistance de l'interface R_p est systématiquement plus faible pour l'acier brut comparativement à l'acier poli. Néanmoins les valeurs restent du même ordre de grandeur. Les valeurs de a_p sont également plus importantes dans le cas de l'acier poli (par rapport à l'acier brut), ce qui en sort est logique si on considère que l'écart de a_p à l'unité traduit l'hétérogénéité de la surface. Toutefois la valeur de a_p diminue avec le temps d'immersion, ce qui traduit une augmentation de l'hétérogénéité de la surface. Les valeurs de capacités sont élevées.

Le choix du schéma électrique permettant la modélisation électrochimique de l'interface de l'acier grenailé, bien que prenant en compte la présence des grains d'alumine ne permet pas à priori, de différencier les valeurs de R , a et ρ représentatives respectivement de l'interface métal/couche passive/biofilm et de l'interface métal/ Al_2O_3 /biofilm. Nous affectons les indices 1 et 2 aux deux phénomènes. Nous pouvons remarquer toutefois que les résistances R_1 et R_2 diminuent conjointement en fonction du temps d'immersion. Une étude menée par Rosliza et al. [213] évalue la résistance de la couche passive Al_2O_3 en eau de mer à environ $12 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^{-2}$. Dans un autre article Zheng et al. calculent, avec un modèle différent du notre [210] (ils séparent la couche passive Al_2O_3 du biofilm dans leur modélisation) pour un alliage d'aluminium exposé à des souches pures de bactéries, les valeurs de résistance de la couche passive sont de l'ordre de $11 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^{-2}$ et également de $11 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^{-2}$ pour la résistance de biofilm. Dans les 2 cas cités, la couche d' Al_2O_3 concerne toute la surface et repose sur un alliage d'aluminium, alors que dans notre cas, les grains discontinus d' Al_2O_3 reposent sur le 254 SMO.

Si on considère les valeurs de résistance de l'interface métal/couche passive/biofilm obtenues pour l'acier brut ou poli, on peut penser que l'hypothèse la plus probable est que l'indice 1 soit représentatif de la résistance de l'interface métal/couche passive/biofilm et que l'indice 2 soit représentatif de la résistance de l'interface métal/ Al_2O_3 /biofilm.

On peut noter également que pour toutes les durées d'immersion, le coefficient a_2 vaut 1. Ce qui signifie que, dans le schéma intégrant 2 CPE, celui-ci pourrait être modifié par la présence d'une capacité C_2 pure en lieu et place de Q_2 .

A titre comparatif des expérimentations menées *in situ* et *ex-situ*, la résistance R_1 *in situ* à 28 jours et celle *ex-situ* à 30 jours (chapitre III tableau III.3) donnent des valeurs très proches. Cependant les valeurs de a_p divergent ; respectivement 0,77 *in situ* contre 0,84 *ex-situ*. De même, les observations de surface montrent une population en microorganismes plus importante, une matrice exopolymères plus dense ainsi qu'une surface totalement recouverte pour les expériences menées *in-situ*.

On peut donc en déduire que la valeur de la résistance R_p semble traduire principalement le comportement de la couche passive. Les valeurs de a_p traduisent par contre la rugosité de la surface et, à ce titre, semblent plutôt liés à la présence du biofilm.

Afin d'essayer de relier les résultats *in-situ* et *ex-situ* nous avons réalisé l'expérience suivante (partie 3) qui consiste à laisser 7 jours nos échantillons sur le terrain (les 7 jours sont généralement nécessaires à la formation du biofilm) puis à les exposer 3 semaines en laboratoire dans un montage dynamique de volume 40L.

IV.2.3 Observation au microscope électronique à balayage et au microscope à épifluorescence

Les observations des figures IV.8 et IV.9 ont été acquises respectivement par microscope à épifluorescence et par microscopie à balayage électronique sur l'acier inoxydable 254 SMO brut immergé *in situ* sur le site du Larivot. On remarque sur les figures IV.8 a et b une surface colonisée par des espèces regroupées dans des amas qui ressemblent à des nids de forme circulaire (abris de microorganismes). Ces capsules fluorescent en présence du DAPI et de l'acridine Orange (figure IV.8.b). Cette observation ressort également sur la figure IV.9 acquise par le MEBE, on note également la présence de bactéries, de crustacés connus sous le nom de balanes [214-217] à la surface de l'acier.

La figure IV.9 réalisée au microscope à balayage donne un aspect de l'amas décrit plus haut (a), des alvéoles ou capsules (b) qui sont présents à sa surface et met en évidence la présence de nombreuses bactéries de formes sphériques ou allongée.

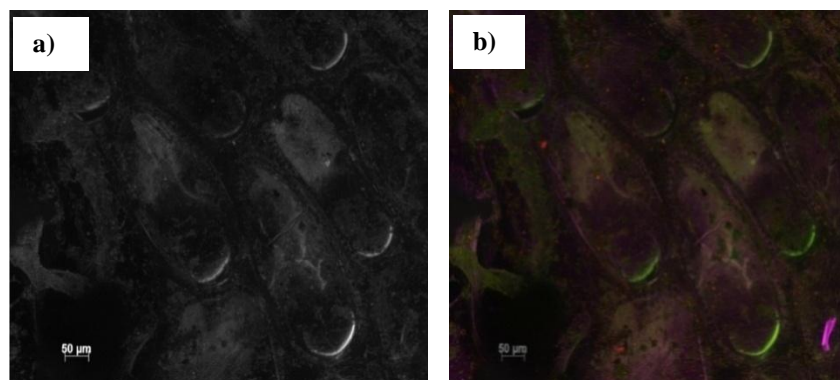


Figure IV.8 Caractérisation du biofilm à la surface de l'acier inoxydable 254 SMO brut par épifluorescence immergé *in situ* pendant 4 semaines où a) en noir et blanc et b) en couleur

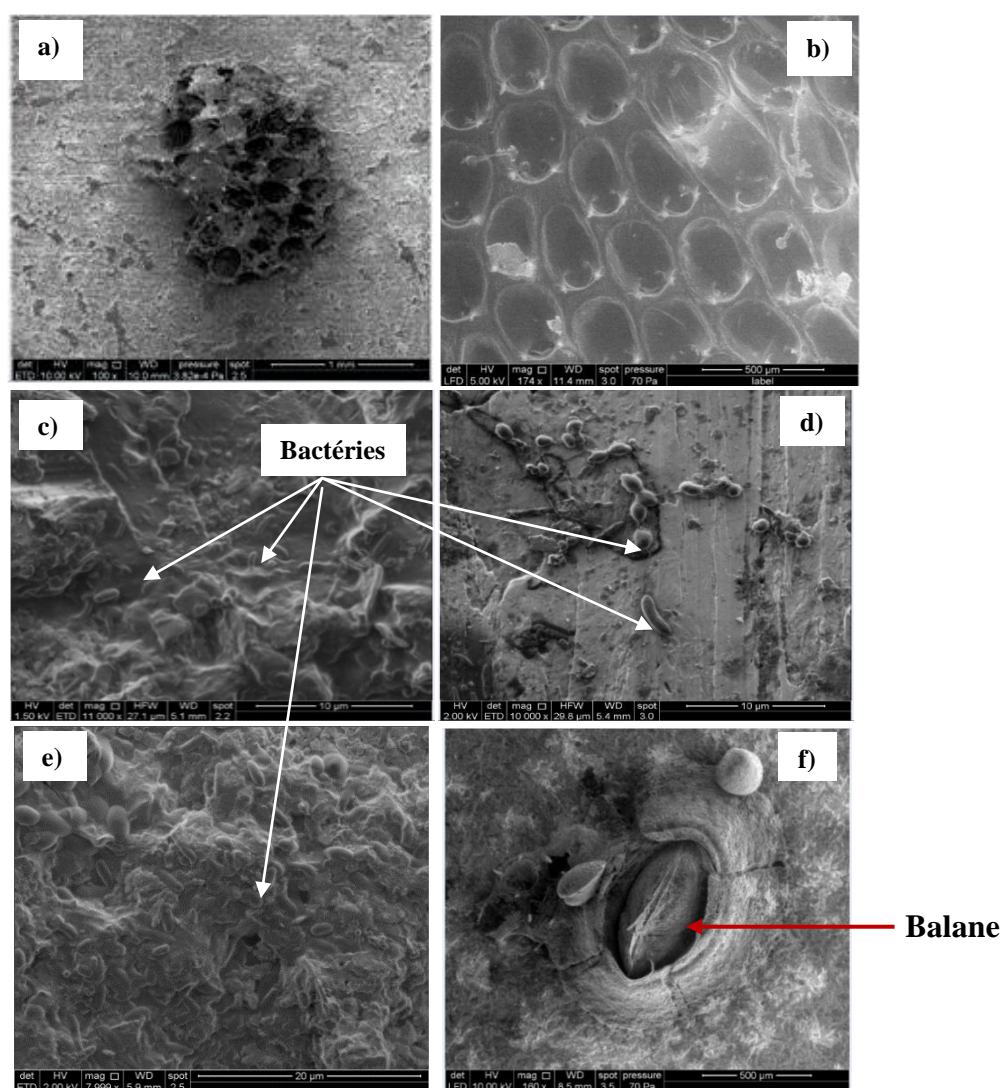


Figure IV.9 : Les observations MEBE de la surface de l'acier inoxydable 254 SMO immergé *in situ* pendant 4 semaines avec : a) et b) nids de balane à 7 jours environ – c) d) et e) présence des bactéries respectivement à la surface de l'acier grenailé, brut et poli après 7 jours d'immersion – et f) présence de balane à 28 jours sur l'acier brut.

IV.3 Effet d'une semaine d'incubation *in-situ* sur le comportement des aciers *ex-situ*

IV.3.1 Suivi du potentiel d'abandon

L'eau de mer du Larivot constitue l'électrolyte dans cette étude expérimentale. Les différents échantillons d'acier sont immergés au préalable pendant une semaine sur le terrain (*in situ*), ils sont ensuite retournés au laboratoire (*ex situ*), où ils restent immergés en eau du Larivot (prélevée au moment du retrait) durant 3 autres semaines dans un montage dynamique qui est le montage qui se rapproche le plus du milieu naturel (pour une durée d'un mois). La durée pour obtenir un biofilm mature a été estimée lors du chapitre précédent à une semaine. C'est donc à priori un film mature qui est transporté au laboratoire.

A la sortie d'une semaine d'incubation (figure IV.10), les potentiels des 3 échantillons sont très proches (environ 120 mV pour l'acier poli et grenailé, et 180 mV pour l'acier brut). Les aciers bruts et polis évoluent ensuite parallèlement en laboratoire et se stabilisent respectivement à environ +175 et +130 mV après 21 jours en système dynamique. L'acier grenailé présente un potentiel d'abandon qui décroît après une semaine en laboratoire puis se positionne aux alentours de -55 mV.

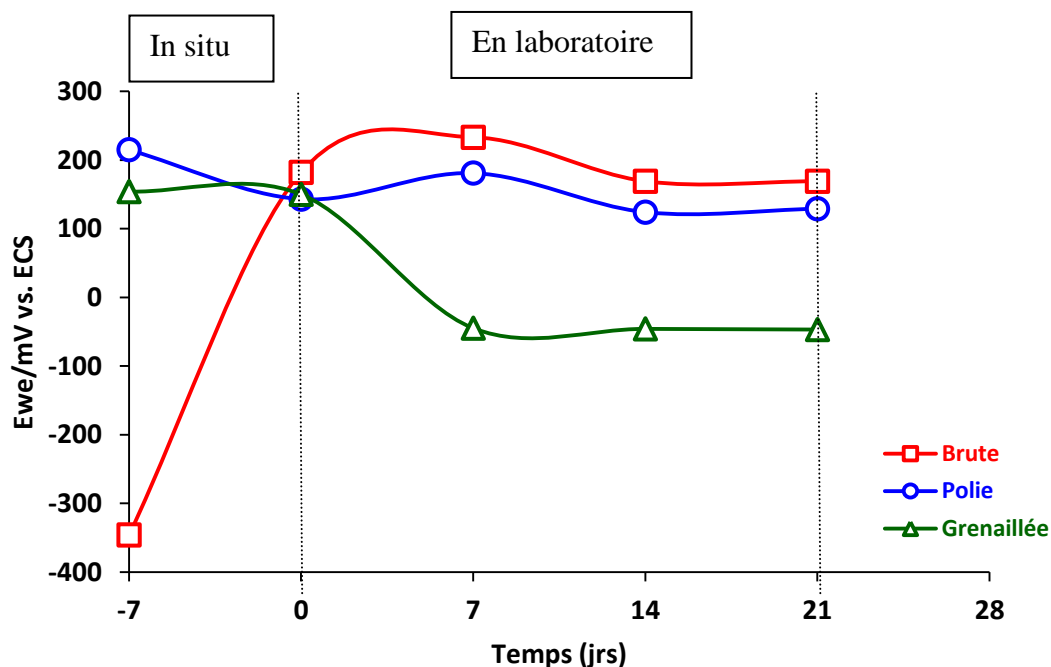


Figure IV.10 Evolution du potentiel d'abandon des trois différents échantillons d'acier immergés dans l'eau du Larivot en laboratoire

Il est probable que le potentiel affiché par l'acier grenailé ait une valeur moyenne entre d'une part celui de l'alliage 254 SMO et d'autre part celui des particules d' Al_2O_3 (pour la fraction de surface en contact avec le milieu). Certains alliages d'aluminium présentent en eau de mer des potentiels variant de -950 mV [218] à -600 mV [210].

IV.3.2 Impédance électrochimique

Les diagrammes d'impédances en représentation de Bode sont présentés sur la figure IV.11 (a à f). Les circuits ayant servi à la modélisation sont toujours ceux de la figure IV.7. Les valeurs des paramètres électriques sont répertoriées dans le tableau IV.4. L'étude des courbes et des paramètres met en évidence une très faible différence de comportement de l'interface pour un même milieu lors des 3 prélèvements réalisés au laboratoire à 7, 14, 21 jours.

L'impédance des aciers brut et poli (figures IV.11 a, b, c et d), augmente dès la sortie du port du Larivot et reste ensuite stable en fonction du temps. Les valeurs relevées sont proches pour ces 2 échantillons. Ce qui traduit un comportement identique et montre que l'état de surface semble avoir peu d'importance. Néanmoins, le paramètre a_p est légèrement plus élevé pour l'échantillon poli indiquant une rugosité plus faible de l'interface. Pour les 2 échantillons, les valeurs de a_p diminuent avec le temps, montrant probablement une augmentation de la rugosité liée à la croissance du biofilm.

Pour l'acier grenailé (figures IV.11 e et f), nous avons représenté en plus des 4 courbes réalisés aux 4 prélèvements successifs, la courbe à 12 jours in situ obtenue lors des essais préliminaires (figure IV.12). L'objectif était de montrer (confirmer) que la mesure de sortie du port du Larivot à 7 jours était un artéfact. La courbe rajoutée s'insère dans le faisceau composé des 3 autres courbes. Le tableau IV.4 traduit en chiffre ce phénomène. Nous pouvons également remarquer que les valeurs des paramètres a_1 et a_2 diminuent sensiblement en prenant les valeurs nettement inférieures (à 14 et 21 jours) à celles des aciers brut et poli. Le fait de ne pouvoir estimer les valeurs de Y dans plusieurs cas montre probablement que le modèle proposé pour estimer les paramètres électriques atteint ses limites.

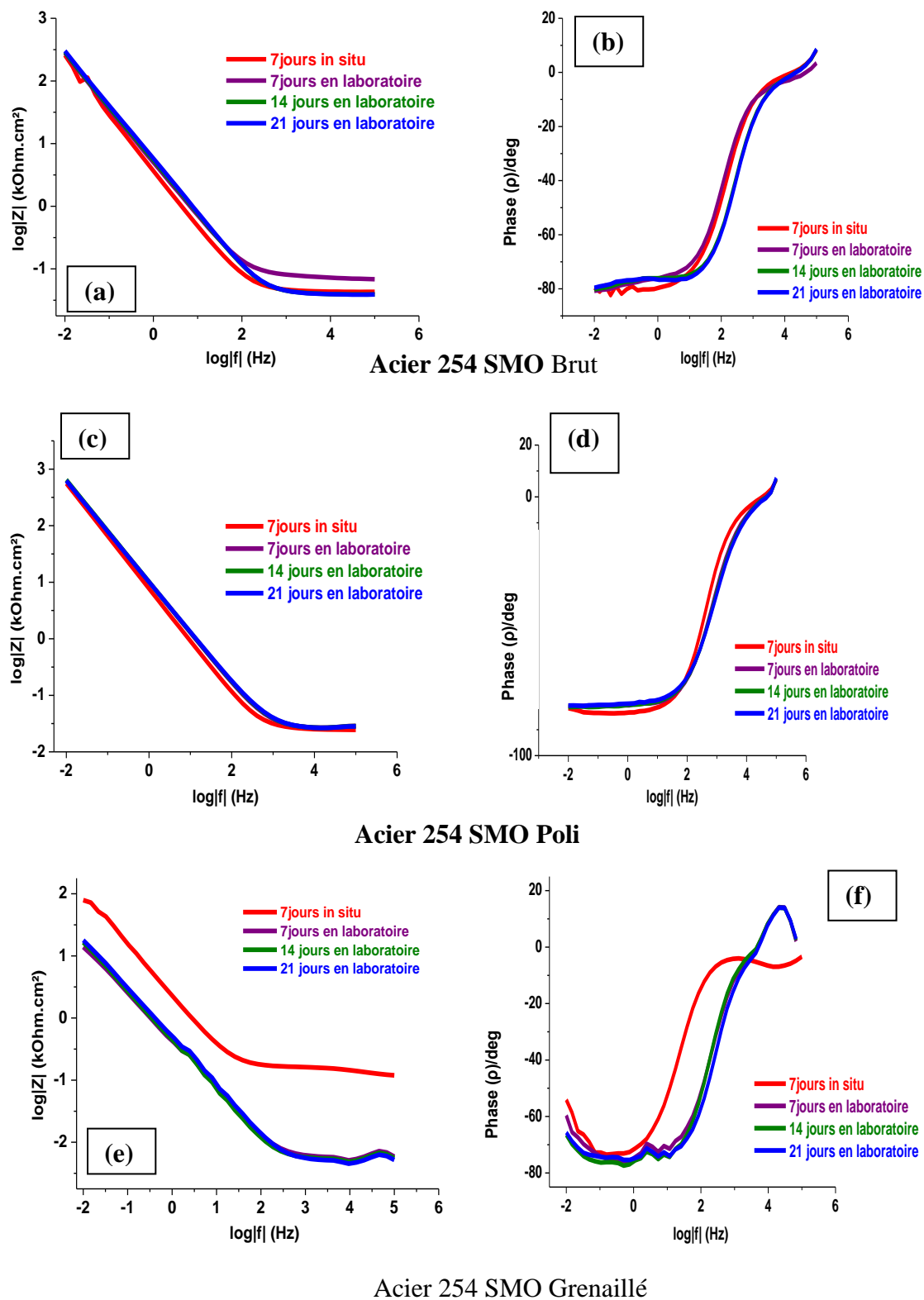


Figure IV.11 : Diagrammes de Bode en module (a, c, e) et en phase (b, d, f) des trois différents échantillons d'acier immergés en laboratoire pendant 3 semaines après avoir passé 1 semaine au préalable in situ

Tableau IV.4 : Paramètres électriques obtenus du meilleur ajustement des diagrammes d'impédance expérimentaux à l'interface acier inoxydable/d'électrolyte des trois différents échantillons d'acier en eau du Larivot *ex-situ*

*Valeurs obtenues des expériences préliminaires

	Temps (jours)	7 jours " <i>in situ</i> "	7 jours au laboratoire	14 jours au laboratoire	21 jours au laboratoire
Acier brut	$R_p, \Omega \cdot \text{cm}^{-2}$	$604 \cdot 10^3$	$4958 \cdot 10^3$	$7019 \cdot 10^3$	$6088 \cdot 10^3$
	$Y_p, \mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$	4339	5422	5368	4739
	a_p	0,88	0,86	0,86	0,86
Acier Poli	$R_p, \Omega \cdot \text{cm}^{-2}$	$909 \cdot 10^3$	$5442 \cdot 10^3$	$5791 \cdot 10^3$	$6397 \cdot 10^3$
	$Y_p, \mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$	1291	1640	1623	1808
	a_p	0,90	0,89	0,89	0,88
Acier grenailé	$R_1, \Omega \cdot \text{cm}^{-2}$	$69 \cdot 10^3 *$	$13 \cdot 10^3$	$13 \cdot 10^3$	$12 \cdot 10^3$
	$Y_1, \mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$	6868 *	-	-	958
	a_1	0,93 *	0,76	0,76	0,75
	$R_2, \Omega \cdot \text{cm}^{-2}$	$19 \cdot 10^3 *$	$6 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^3$
	$Y_2, \mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$	442 *	1446	-	-
	a_2	1 *	1	0,85	0,81

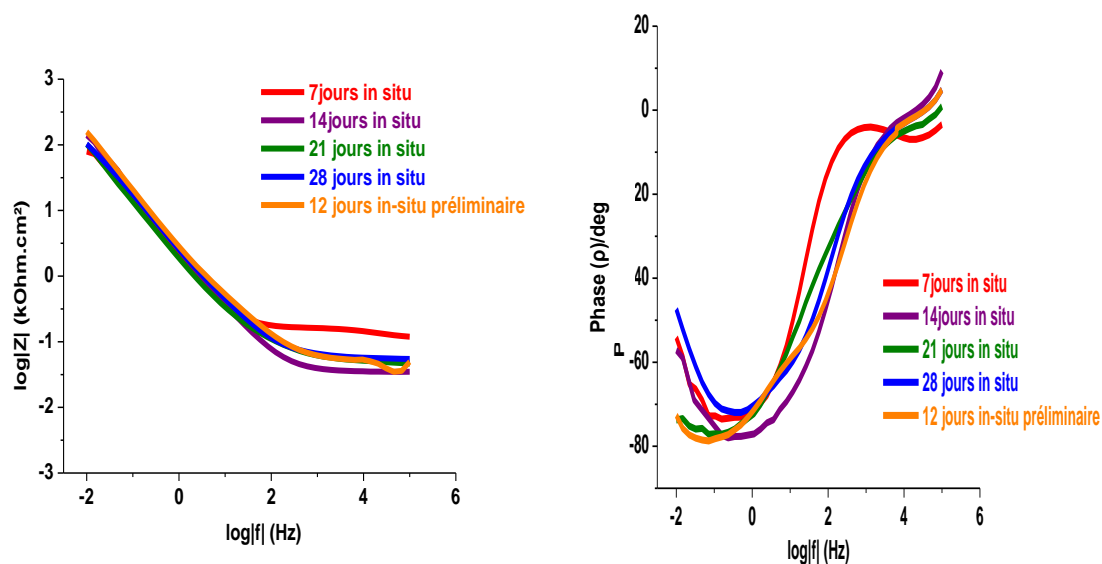


Figure IV.12 : Diagrammes de Bode en module d'impédance a) et de phase b) pour l'acier grenailé obtenus avec les expériences à chaque retrait in-situ et à 12 jours in-situ (expériences préliminaires)

IV.4 Etude comparative des milieux

Cette partie a pour objectif de comparer le comportement électrochimique de l'acier 254 SMO (dans ses différentes finitions) immergés dans quatre différents milieux lorsque cela est possible (acier brut) :

- *In-situ*
- *Ex-situ* 3L statique
- *Ex-situ* 40 L dynamique
- *In situ* (1semaine) + *ex-situ* 40L dynamique (3 semaines)

IV.4.1 Suivi du potentiel d'abandon

Les potentiels d'abandon dans les 4 conditions expérimentales différents sont représentés dans la figure IV.13 pour l'acier brut. La valeur de potentiel de l'acier brut *in-situ* est très proche de celle observée pour une expérimentation *ex-situ* de 30 jours en montage dynamique (figure III.11) et à un degré moindre de l'expérimentation "mixte". Par contre les expérimentations statiques en volume de 3L semblent s'écarter de la réalité du terrain. En première approximation, on peut dire également que la semaine d'incubation a peu d'influence sur l'évolution du potentiel d'abandon de l'acier brut.

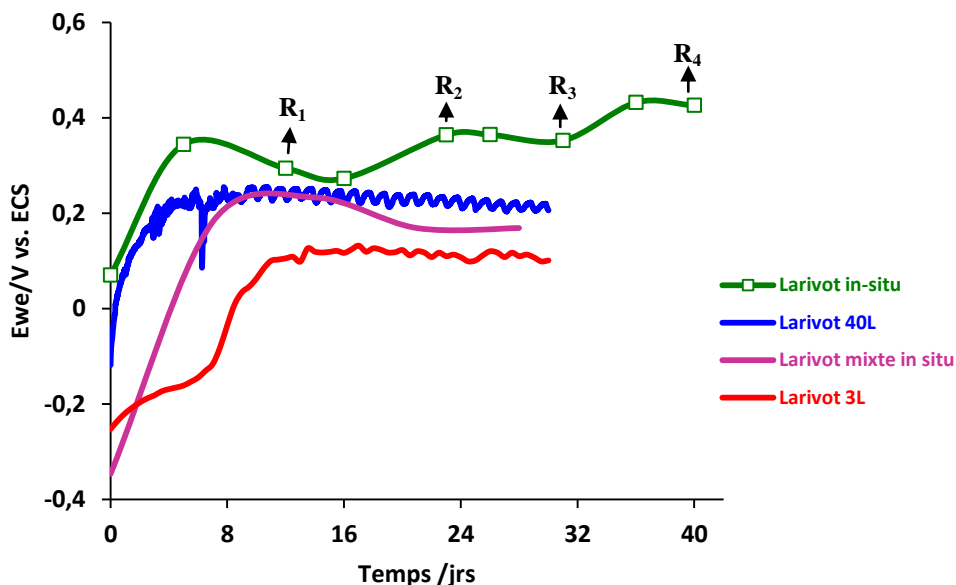


Figure IV.13 : Evolution du potentiel d'abandon de l'acier brut dans 4 différents conditions expérimentales : Larivot in-situ, Larivot 40 L, Larivot mixte+in-situ, Larivot 3L

IV.4.2 Impédance électrochimique

Des diagrammes de Bode comparant pour chaque échantillon les différents milieux sont donnés respectivement sur la figure IV.14 à 21 jours et sur la figure IV.15 à 28 jours.

Pour l'acier grenailé à 21 et 28 jours, les différences entre *in-situ* et incubé sont très différents en termes de valeurs. Des facteurs 10 et 5 sont observés respectivement sur les résistances R_1 et R_2 . Les valeurs de a_1 et a_2 sont également très différents à 21 et 28 jours. Paradoxalement le relief semble plus important pour les manipulations incubées. On peut imaginer que la présence du biofilm peut affecter la valeur de a de deux manières. La présence d'un biofilm mature augmente le relief de la surface de l'échantillon. Mais d'autre part, si la rugosité existe sur la surface de l'échantillon au départ de l'expérimentation, on peut également comprendre que le biofilm s'installe dans les rugosités et contribue ainsi initialement à lisser la surface et donc à augmenter les valeurs de a .

Pour l'acier brut, le milieu affecte la zone des hautes fréquences de façon significative. L'interface est moins "résistif" lors des expériences menées *in-situ*. A basses fréquences les comportements des trois échantillons sont très proches même si, là aussi, l'impédance est moins importante pour l'expérimentation *in-situ*. Ces diverses remarques sont confirmées au regard des valeurs de R_p calculées et présentes dans les différents tableaux des chapitres III et IV. Ce comportement est vérifié à 21 et 28 jours.

Pour l'acier poli, le phénomène observé est identique à celui de l'acier brut aux basses fréquences à 21 et 28 jours (même si à 28 jours, il persiste un doute sur la fiabilité de la manipulation *in-situ*). Par contre, le phénomène observé est inversé à celui de l'acier brut pour les hautes fréquences.

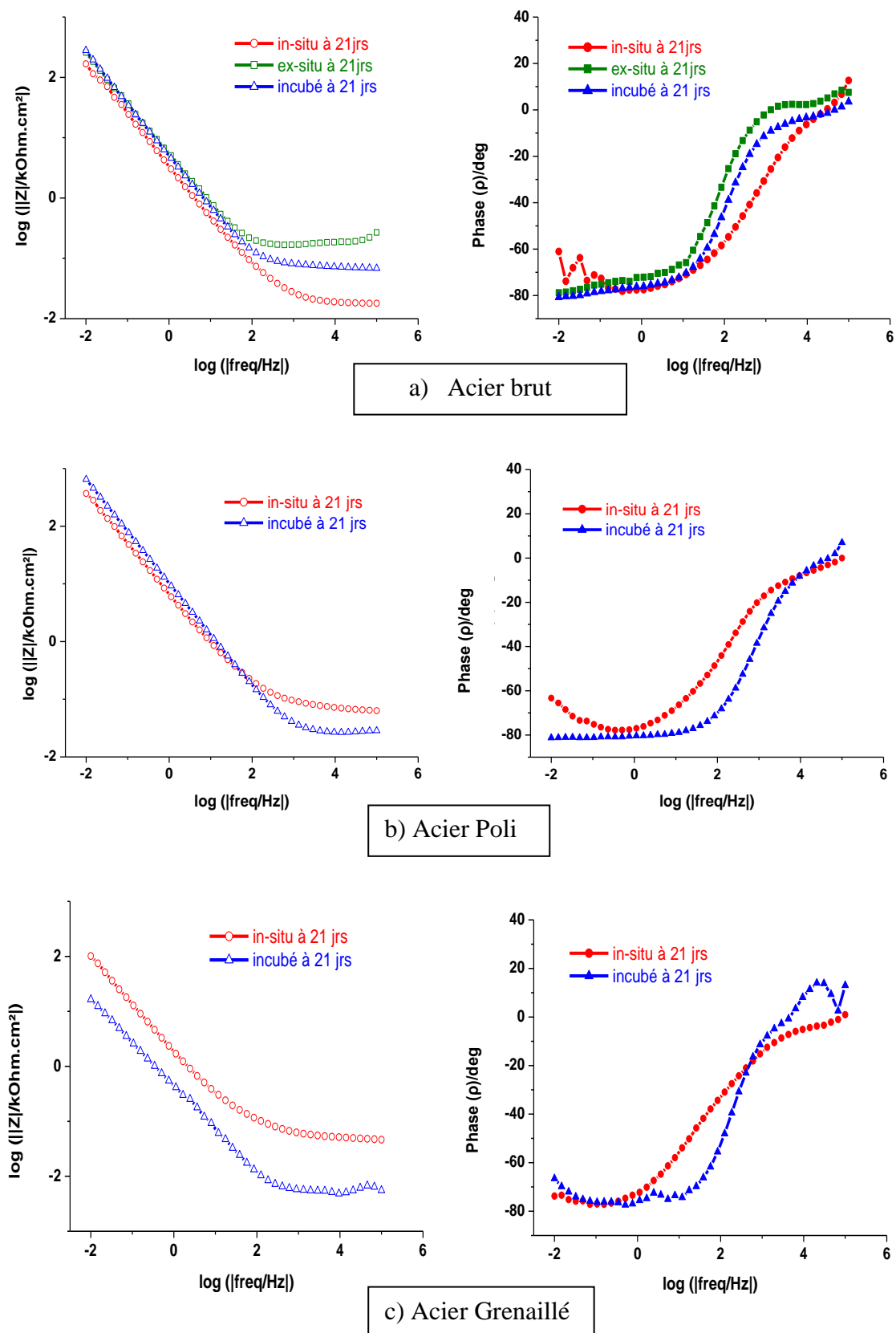


Figure IV.14 : Diagrammes comparatifs après 21 jours d'immersion pour les trois types d'échantillons étudiés

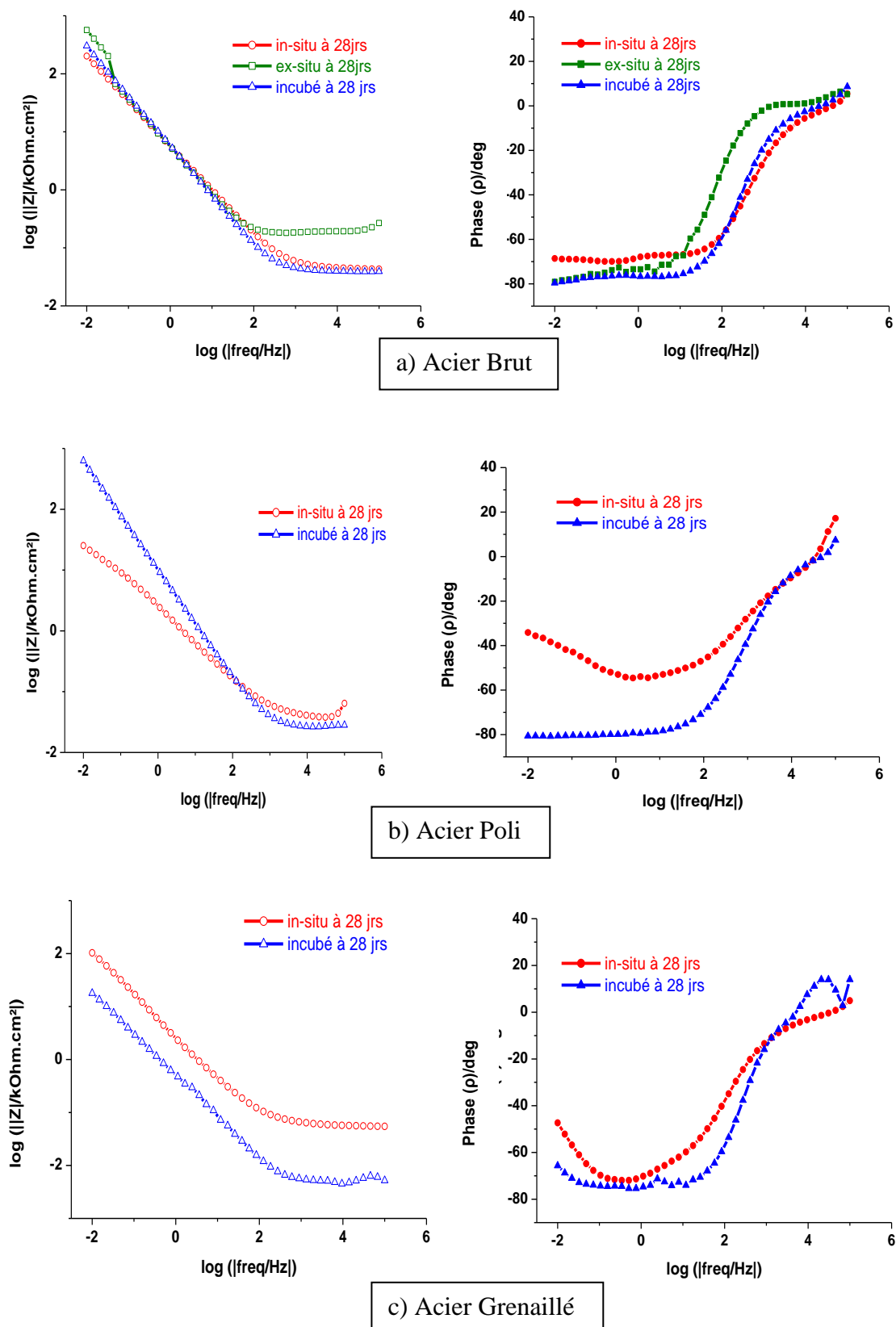


Figure IV.15 : Diagrammes comparatifs après 28 jours d'immersion pour les trois types d'échantillons étudiés

A la lumière des résultats obtenus, le premier point qui nous vient à l'esprit est que l'interprétation des résultats est ardue. Plusieurs raisons à cela, notamment que l'étude du vivant est très compliquée et que ce "défaut" le caractérisant apporte beaucoup de variabilité à nos résultats.

L'objectif de ce travail était multiple :

- Pouvoir étudier en laboratoire les phénomènes électrochimiques de nos eaux naturelles. A ce titre nous avons réalisé deux montages différents : statique 3L et dynamique 40 L. Il semble que les écarts entre *in-situ* et *ex-situ* sont importants et que des progrès sont nécessaires pour avoir une étude en laboratoire parfaitement représentative des phénomènes du terrain. Le volume du milieu en laboratoire semble être très important, et la première piste à explorer se situe peut être en une augmentation du volume (puisque à 40L les résultats sont encourageants).
- Séparer l'agression chimique de l'agression biologique. Le 254 SMO est un acier inoxydable reconnu pour sa grande résistance à la corrosion chimique liée à l'installation instantanée d'un film passif à sa surface.

Dans les eaux de Guyane étudiées, la corrosion liée à la présence de microorganismes n'a pas été mise en évidence sur nos échantillons. L'agression biologique n'a donc pas eu lieu. Néanmoins nous avons mis en évidence des réponses différentes de l'interface métal/couche passive/biofilm en présence d'un biofilm, notamment dans les gammes des hautes fréquences suggérant une modification des propriétés électroniques de la couche passive.
- Connaître l'influence de divers paramètres sur le comportement électrochimique de l'interface. De nombreuses informations ont été récoltées et serviront à des travaux futurs.
- Identifier les bactéries présentes au sein des biofilms amazoniens. Plusieurs espèces ont déjà été relevées. Nul doute que ce point mérite à lui seul d'être profondément approfondi.

Conclusions et perspectives

L'objectif de ce travail de thèse était d'une part d'explorer quelques sites de la Guyane Française afin de choisir les différents sites de prélèvements d'eau de mer, et d'autre part d'étudier et de caractériser le comportement électrochimique de l'acier inoxydable 254 SMO en milieux aqueux naturels amazoniens. Sachant qu'aucune étude semblable n'a encore jamais été réalisée en Guyane, et compte tenu de la complexité de l'étude, il fut important d'acquérir des compétences pluridisciplinaires (microbiologique, chimie, physique des matériaux). C'est ainsi que dans un premier temps, afin de mieux connaître nos milieux, nous avons effectué l'analyse physico-chimique des différentes eaux de mer issues des sites sélectionnées. Puis, dans un second temps des études en laboratoire sur les échantillons, tenant compte de certains paramètres (saisons, marées, salinité, éclairage...) ont été effectuées et enfin dans un troisième temps les études ont été réalisées sur le terrain afin de comparer les résultats obtenus avec ceux obtenus en laboratoire.

Il est important de noter également que cette étude a demandé un fort investissement pour réaliser les montages fiables et robustes sur le terrain (notamment). Ce savoir est important pour les prochains travaux qui seront menés au L3MA.

L'évolution du potentiel d'abandon réalisée avec les eaux prélevées sur les 5 sites de la Guyane a permis d'en choisir 2 : le Mahury et le Larivot. L'analyse physicochimique de ces milieux d'immersion, révèle une salinité élevée. Les travaux menés avec ces eaux sélectionnées ont mis en évidence l'influence du milieu d'immersion, l'influence des saisons, l'influence de l'éclairage, l'influence de la marée et l'influence du montage expérimental. D'un point de vue du dispositif expérimental, il a été démontré que l'usage d'un grand volume d'électrolyte entraîne une augmentation des valeurs de potentiel comparables à celles obtenues *in-situ*.

Au cours de ce travail de recherche, l'effet de l'agitation et de l'ajout du biofilm gratté sur le ponton, démontre que l'agitation n'a pas d'impact sur le comportement électrochimique de l'acier inoxydable 254 SMO immergé en eau de mer naturelle. Quant à la présence du biofilm, la voltammétrie cyclique montre que celui-ci joue un rôle important en modifiant probablement les propriétés électroniques de la couche passive du métal.

Les expériences préliminaires réalisées in situ nous ont permis d'avoir un aperçu du comportement de l'acier à plusieurs temps d'immersion. C'est après ces dernières, qu'une étude plus complète a été effectuée, intégrant une modélisation électrochimique de la surface de l'acier. Dans cette partie du travail, comparé aux premiers travaux réalisés exclusivement ex-situ (chapitre 3), trois échantillons d'aciers (brut, poli et grenailé) ont été utilisés, et ce dans les conditions *in-situ* et mixte (*in-situ+ex-situ*).

Nous avons observé, lors des expériences mixtes, l'augmentation de l'impédance électrochimique de l'interface des aciers bruts et polis, dès la sortie du site du port du Larivot qui se stabilise par la suite en laboratoire en fonction du temps. Ces 2 échantillons ont présenté des valeurs proches, traduisant un comportement identique et montrant que l'état de surface semble avoir peu d'importance. Néanmoins, le paramètre a_p est légèrement plus élevé pour l'échantillon poli indiquant une rugosité plus faible de l'interface. Pour les 2 échantillons, les valeurs de a_p diminuent avec le temps, traduisant probablement une augmentation de la rugosité liée à la croissance du biofilm. Concernant l'acier grenailé, on note des différences de valeurs en conditions in-situ et ex-situ.

L'acier inoxydable 254 SMO n'a montré aucun signe de corrosion durant toutes les expériences réalisées. Quelques expérimentations (suivi de potentiel, impédance, imagerie et analyses EDS) ont été réalisés sur le cuivre, elles sont proposées en annexe. Elles montrent une stabilisation relative de potentiel d'abandon aux alentours de -280 mV dans nos 2 milieux d'études. En effet, l'absence de corrosion observée avec l'acier 254 SMO s'explique par la nature de sa composition chimique (notamment présence de Molybdène, Chrome et Nickel).

L'identification des espèces révèle la présence d'une espèce de bactérie sulfatoréductrice : l'espèce *Desulfuromonas acetexigens* en eau du Mahury.

Ces travaux s'inscrivent dans une thématique récente du L3MA. Ils ont déjà apportés une multitude d'informations intéressantes. Ils ont également fourni des pistes qui devront être explorées par la suite et notamment :

- Réaliser une approche microbiologique conduisant à l'identification des bactéries et de leurs modes d'action (dans le cadre d'un matériau bio-attaquable),

- Travailler sur des matériaux de construction utilisés en Guyane dans le cadre de la réalisation d'ouvrage d'art (ponts notamment) comme l'acier S355.
- À plus long termes, orienter les travaux sur l'identification des molécules Guyanaises inhibitrices de la corrosion.

Annexes

Annexe n°1 : Expériences réalisées avec le cuivre en milieu Larivot et Mahury

L'étude du comportement électrochimique du métal de cuivre pur dans les milieux Larivot et Mahury, a été réalisée en laboratoire en petit volume (3L), montage stationnaire et à température ambiante.

3. 1- Evolution du potentiel d'abandon du Cuivre en fonction du temps

Nous avons relevé tous les 5 jours les valeurs du potentiel, résultant des réactions qui se déroulent à l'interface métal/solution et cela jusqu'au 30^{ième} jour. Les résultats enregistrés sont représentés sur la figure 1.

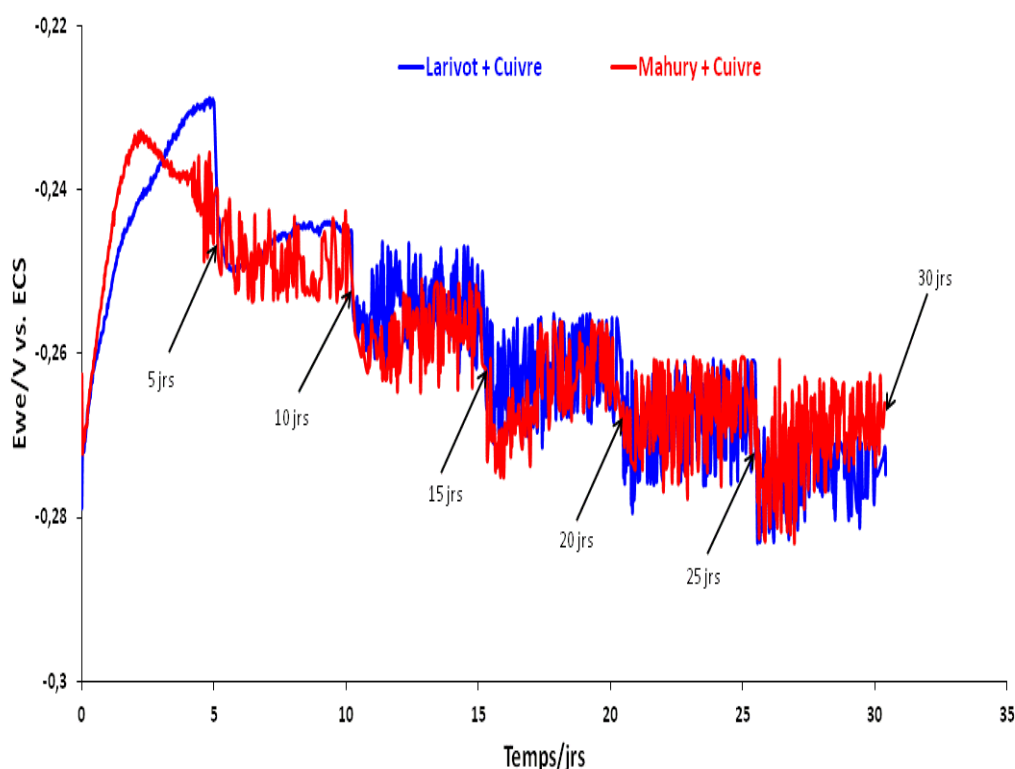


Figure 1 : Evolution du potentiel d'abandon du cuivre en fonction du temps dans le Larivot et le Mahury

Les courbes ont la même allure dans les deux milieux d'immersion. Nous notons dans un premier temps, une augmentation du potentiel d'une part les 5 premiers jours pour le métal

de cuivre immergé dans le Larivot et d'autre part les 3 premiers jours pour le métal de cuivre immergé dans le Mahury. Et dans un deuxième temps, on remarque une diminution du potentiel avec le temps d'immersion pour atteindre après 25 jours d'immersion, une valeur quasi- stationnaire de l'ordre de -263 mV vs. ECS.

3.2- Mesures d'impédance électrochimique

L'examen des spectres d'impédances (figure 2) permet de constater que l'allure des courbes reste similaire quelqu'en soit le milieu d'immersion.

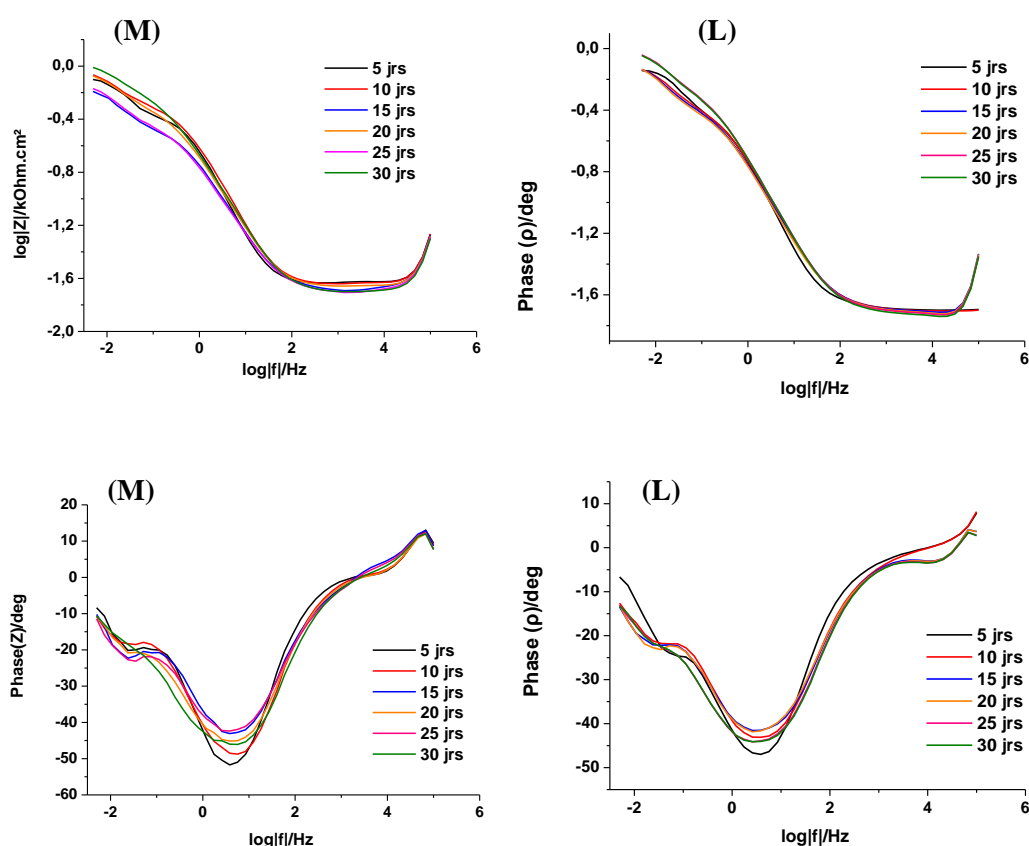


Figure 2 : Spectres d'impédance pour le cuivre en milieu Mahury (M) et en milieu Larivot (L)

Le tableau 1 présente les valeurs de I_{corr} et E_{corr} obtenues pour le cuivre en milieu Mahury et en milieu Larivot tous les 5 jours. Au bout d'un mois d'immersion, les valeurs de I_{corr} obtenues par polarisation linéaire en utilisant les droites de Tafel, en Larivot, sont plus élevées que celles mesurées en Mahury. Ce constat pourrait s'expliquer par le taux de salinité

plus élevé en milieu Larivot qu'en milieu Mahury. On remarque également une diminution des valeurs de E_{corr} avec le temps d'immersion.

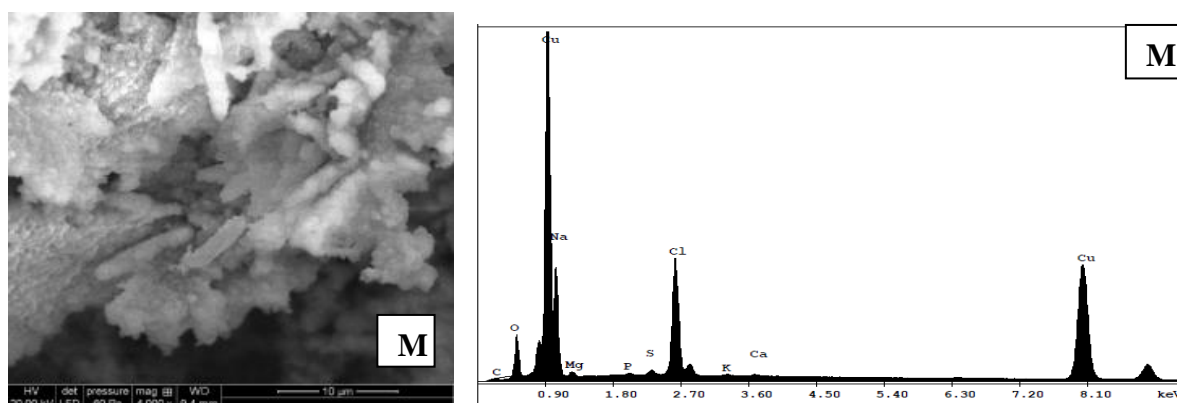
Tableau 1 : Valeurs de I_{corr} et E_{corr} obtenues pour le cuivre en milieu Mahury et en milieu Larivot tous les 5 jours

Temps	I_{corr} (μA)		E_{corr} (mV vs. Ref)	
	Mahury	Larivot	Mahury	Larivot
5 jours	596	569	-228	-228
10 jours	660	521	-263	-255
15 jours	751	582	-281	-265
20 jours	584	496	-281	-271
25 jours	563	735	-287	-279
30 jours	510	675	-287	-289

3.3 Observation et caractérisation de surface (MEBE+EDS)

L'observation de la surface du métal de cuivre après 30 jours d'immersion a montré la présence des microorganismes. Les images du biofilm adhérent à la surface du cuivre en milieu Mahury et Larivot est présenté sur la figure 3. Les résultats d'analyse EDS de la surface pour les 2 milieux sont données dans le tableau 2.

On note la présence de sels à la surface du métal. Ceux-ci sont plus présents en milieu Larivot ce qui est en bon accord avec les relevés des tableaux du chapitre 2.



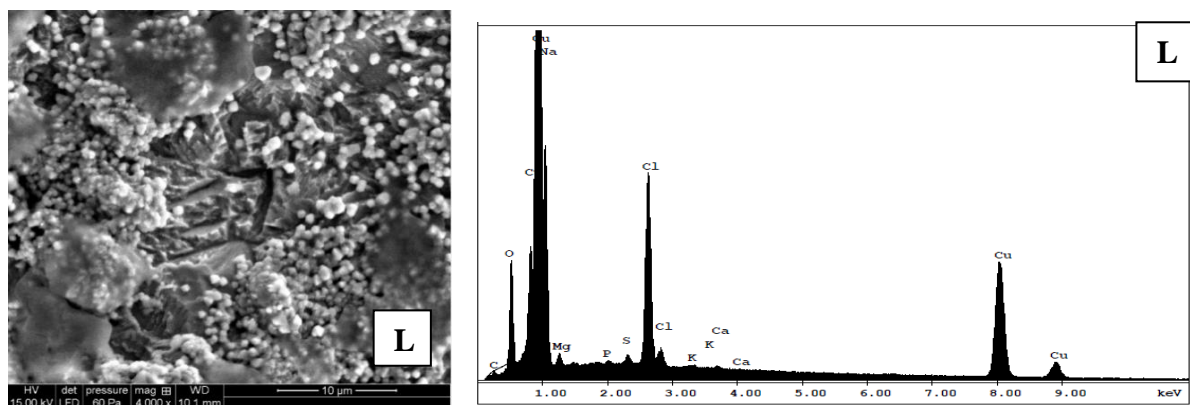


Figure 3 : Images du biofilm adhérent à la surface du cuivre en milieu Mahury (M) et en milieu Larivot (L) et analyse EDS de la surface

Tableau 2 : Composition chimique de la surface des échantillons de cuivre après 30 jours d'immersion en milieu Mahury et en milieu Larivot

	C	O	Na	Mg	P	S	Cl	K	Ca	Cu
Cu	0,33	0,63								99,04
Cu+Mahury	0,00	4,49	13,56	0,72	0,18	0,47	9,57	0,18	0,21	70,62
Cu+Larivot	0,00	5,12	18,58	0,81	0,21	0,49	10,53	0,17	0,22	63,85

Références

1. Dickson A.G. and Goyet C., *Handbook of methods for the analysis of the various parameters of the carbon dioxide system in sea water*. ORNL/CDIAC-74, (1994).
2. Beech I.B., *Corrosion of technical materials in the presence of biofilms-current understanding and state-of-the art methods of study*. International biodeterioration & biodegradation. **53** (2004) 177-183.
3. Durmoo S., Richard C., Beranger G., and Moutia Y., *Biocorrosion of stainless steel grade 304L (SS304L) in sugar cane juice*. Electrochimica Acta. **54** (2008) 74-79.
4. Le Bozec N., *Réaction de réduction de l'oxygène sur les aciers inoxydables en eau de mer naturelle. Influence du biofilm sur les processus de corrosion*, thèse, Université de Bretagne Occidentale (2000).
5. Sanders P.F. and Maxwell S., *Microfouling, Macrofouling, and Corrosion of Metal Test Specimens in Seawater*. Microbial Corrosion (1983) 74-83.
6. Dupont I., *Influence des bactéries et de leur activité sur l'évolution du potentiel des aciers inoxydables en eau de mer naturelle*, thèse, Université de Caen (1996).
7. Beech I.B., Campbell S.A., and Walsh J., *cases studies of marine microbial corrosion. A practical manual on microbially influenced corrosion*. 1994.
8. Crolet J.L., *Corrosion bactérienne dans l'industrie pétrolière*. Biodétérioration des matériaux, C. Lemaitre, N. Pèbère, D. Festy,(eds.), Les Editions de Physique, Les Ulis, (1998) 268-280.
9. Sutherland I., *Microbial exopolysaccharides-their role in microbial adhesion in aqueous systems*. Critical reviews in microbiology. **10** (1982) 173-201.
10. Marshall K.C., *Microbial adhesion and aggregation: report of the Dahlem Workshop on Microbial Adhesion and Aggregation, Berlin 1984, January 15-20*. 1984: Springer Verlag.
11. Didier N., *Etude de cas de corrosion bactérienne dans les industries nucléaires*. Biodétérioration des matériaux. 1998.
12. Daumas S., *Corrosion bactérienne en géothermie basse température: Mécanismes de corrosion par les bactéries sulfato-réductrices*, thèse, Université de Provence Aix-Marseille I (1987).

13. Ignatiadis I., Amalhay M., Abou A., and Cotiche C., *Analyse et conséquences de la prolifération bactérienne dans les puits géothermiques du Bassin de Paris*. Biodétérioration des matériaux, (1998).
14. Wagner D. and Chamberlain A., *Microbiologically influenced copper corrosion in potable water with emphasis on practical relevance*. Biodegradation. **8** (1997) 177-187.
15. Lopes F., Morin P., Oliveira R., and Melo L., *Impact of biofilms in simulated drinking water and urban heat supply systems*. International Journal of Environmental Engineering. **1** (2009) 276-294.
16. Touzin M., *évaluation de la stabilité d'une couche mince de simili-téflon déposée par plasma sur un substrat d'acier inoxydable*, thèse, Université Laval (2009).
17. Costerton J., Lewandowski Z., DeBeer D., Caldwell D., Korber D., and James G., *Biofilms, the customized microniche*. Journal of bacteriology. **176** (1994) 2137-2142.
18. Jones DA A.P., *A thermodynamic interpretation of microbiologically influenced corrosion*. corrosion. **58** (2002) 638-645.
19. Little B. and Ray R., *A perspective on corrosion inhibition by biofilms*. Corrosion. **58** (2002) 424-428.
20. Örnek D., Hsu C., Mansfeld F., Sun Z., and Wood T., *Pitting corrosion control of aluminum 2024 using protective biofilms that secrete corrosion inhibitors*. Corrosion. **58** (2002) 761-767.
21. Beech I. and Coutinho C., *Biofilms on corroding materials*. Biofilms in Medicine Industry and Environmental Biotechnology. Characteristic, Analysis and Control, (2003) 115-131.
22. Baker P.W., Ito K., and Watanabe K., *Marine prosthecate bacteria involved in the ennoblement of stainless steel*. Environmental microbiology. **5** (2003) 925-932.
23. Kjellerup B.V., Olesen B., Nielsen J.L., Frølund B., Odum S., and Nielsen P.H., *Monitoring and characterisation of bacteria in corroding district heating systems using fluorescence in situ hybridisation and microautoradiography*. Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research. **47** (2003) 117-122.
24. Zhang T., Fang H., and Ko B., *Methanogen population in a marine biofilm corrosive to mild steel*. Applied microbiology and biotechnology. **63** (2003) 101-106.

25. Carpén L., Raaska L., Kujanpää K., and Hakkarainen T., *Effects of Leptothrix discophora on the potential behavior of stainless steel*. Materials and Corrosion. **54** (2003) 515-519.
26. Dexter S., Xu K., and Luther 3rd G., *Mn cycling in marine biofilms: effect on the rate of localized corrosion*. Biofouling. **19** (2003) 139-149.
27. Shi X., Avci R., and Lewandowski Z., *Microbially Deposited Manganese and Iron Oxides on Passive Metals Their Chemistry and Consequences for Material Performance*. Corrosion. **58** (2002) 728-738.
28. Shi X., Avci R., and Lewandowski Z., *Electrochemistry of passive metals modified by manganese oxides deposited by Leptothrix discophora: two-step model verified by ToF-SIMS*. Corrosion science. **44** (2002) 1027-1045.
29. Heakal F.E.-T., Hefny M.M., and El-Tawab A.M.A., *Electrochemical behavior of 304L stainless steel in high saline and sulphate solutions containing alga Dunaliella Salina and β -carotene*. Journal of Alloys and Compounds. **491** (2010) 636-642.
30. Zhang T., Jing H.Y., Han Y.D., and Xu L.Y., *Electrochemical Behavior of Corrosion Resistance Alloys*. Advanced Materials Research. **418** (2012) 1097-1101.
31. Cristobal A.B., Arenas M.A., Conde A., and de Damborenea J., *Corrosion of stainless steels covered by exopolymers*. Electrochimica Acta. **52** (2006) 546-551.
32. De Franca F.P. and Lutterbach M.T.S., *Study of the variation in the microflora during the formation of a biofilm on stainless steel AISI 304*. International Biodeterioration and Biodegradation. **37** (1996) 128.
33. Machuca L.L., Bailey S.I., Gubner R.L., Watkin E.L., and Kaksonen A.H., *Microbiologically influenced corrosion of high resistance alloys in seawater*, in *Corrosion*. 2011, NACE International: Houston, Texas.
34. Beech I.B. and Sunner J., *Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals*. Current Opinion in Biotechnology. **15** (2004) 181-186.
35. Beech I.B., Sunner J.A., and Hiraoka K., *Microbe-surface interactions in biofouling and biocorrosion processes*. International microbiology. **8** (2005) 157-168.
36. Sunny Cheung C.W., Walsh F.C., Campbell S.A., Chao W.T., and Beech I.B., *Microbial contributions to the marine corrosion of steel piling*. International Biodeterioration and Biodegradation. **34** (1994) 259-274.

37. Zinkovich V., Bogdarina I., Kang H., Hill M.A.W., and Beech I.B., *Exopolymers produced by marine sulfate-reducing bacteria*. International Biodeterioration and Biodegradation. **37** (1996) 128-128.
38. Bertolini L., Bolzoni F., Pastore T., and Pedferri P., *Behaviour of stainless steel in simulated concrete pore solution*. British Corrosion Journal. **31** (1996) 218-222.
39. Gamby J., Pailleret A., Boucher C., Pradier C.M., and Tribollet B., *Caractérisations par microscopie, spectroscopie et électrochimie d'un biofilm à partir d'une eau potable sur acier inoxydable*. Matériaux & Techniques. **94** (2006) 441-454.
40. Filloux A. and Vallet I., *Biofilm: mise en place et organisation d'une communauté bactérienne*. M/S: médecine sciences. **19** (2003) 77-83.
41. Briandet R., Fechner L., Naitali M., and Dreanno C., *Biofilms, quand les microbes s'organisent*. 2012.
42. Porter J., *Antony van Leeuwenhoek: tercentenary of his discovery of bacteria*. Bacteriological reviews. **40** (1976) 260-269.
43. Zobell C.E., *The effect of solid surfaces upon bacterial activity*. Journal of bacteriology. **46** (1943) 39-56.
44. Lewandowski; Z. and Beyenal H., *Fundamentals of Biofilm Research*. 2007.
45. Iverson W.P., *Microbial corrosion of metals*. Adv. Appl. Microbiol. **32** (1987) 1-35.
46. Millero F.J., Feistel R., Wright D.G., and McDougall T.J., *The composition of Standard Seawater and the definition of the Reference-Composition Salinity Scale*. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers. **55** (2008) 50-72.
47. Mattila K., *Biofilms on stainless steels exposed to process waters*, thèse, University of Helsinki (2002).
48. Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E., Korber D.R., and Lappin-Scott H.M., *Microbial biofilms*. Annual Reviews in Microbiology. **49** (1995) 711-745.
49. Marshall K., *Colonization, adhesion, and biofilms*. Manual of Environmental Microbiology, (CJ Hurst, GR Knudsen, MJ McInerney, LD Stetzenbach and MV Walter, eds), ASM Press, Washington DC, USA, (1997) 358-365.
50. Marshall K.C., *Adhesion and growth of bacteria at surfaces in oligotrophic habitats*. Canadian journal of microbiology. **34** (1988) 503-506.

51. Korber D.R., Lawrence J.R., Lappin-Scott H.M., and Costerton J.W., *Growth of microorganisms on surfaces*. Microbial biofilms, (1995) 15-45.
52. Davey M.E. and O'toole G.A., *Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics*. Microbiology and molecular biology reviews. **64** (2000) 847-867.
53. De Beer D., Stoodley P., and Lewandowski Z., *Liquid flow and mass transport in heterogeneous biofilms*. Water Research. **30** (1996) 2761-2765.
54. Rodriguez G., Phipps D., Ishiguro K., and Ridgway H., *Use of a fluorescent redox probe for direct visualization of actively respiring bacteria*. Applied and Environmental Microbiology. **58** (1992) 1801-1808.
55. Santegoeds C.M., Damgaard L.R., Hesselink G., Zopfi J., Lens P., Muyzer G., and De Beer D., *Distribution of sulfate-reducing and methanogenic bacteria in anaerobic aggregates determined by microsensor and molecular analyses*. Applied and Environmental Microbiology. **65** (1999) 4618-4629.
56. Lawrence J., Korber D., Hoyle B., Costerton J., and Caldwell D., *Optical sectioning of microbial biofilms*. Journal of bacteriology. **173** (1991) 6558-6567.
57. Stoodley P., Sauer K., Davies D., and Costerton J., *Biofilms as complex differentiated communities*. Annual Reviews in Microbiology. **56** (2002) 187-209.
58. Whitman W.B., Coleman D.C., and Wiebe W.J., *Prokaryotes: the unseen majority*. Proceedings of the National Academy of Sciences. **95** (1998) 6578-6583.
59. Caumette P., *Développement des bactéries phototrophes et des bactéries sulfato-réductrices dans les lagunes peu profondes et des lagunes stratifiées. Etude de leur rôle dans le cycle du soufre et dans la production de biomasse*, thèse, Université d'Aix Marseille III (1985).
60. Leloup J., *Etude de la communauté microbienne sulfato-réductrice (portant le gène dsrAB) dans les vasières de l'estuaire de Seine*, thèse, Université de Rouen (2004).
61. Beech I.B. and Gaylarde C.C., *Recent advances in the study of biocorrosion: an overview*. Revista de microbiologia. **30** (1999) 117-190.
62. Bermont-Bouis D., Janvier M., Grimont A., Dupont I., and Vallaeys T., *Both sulfate-reducing bacteria and Enterobacteriaceae take part in marine biocorrosion of carbon steel*. Applied Microbiology **102** (2007) 161-168.
63. Lee W., Lewandowski Z., Nielsen P.H., and Hamilton W.A., *Role of sulfate reducing bacteria in corrosion of mild steel: a review*. Biofouling. **8** (1995) 165-194.

64. Pineau S., *Interactions entre les communautés bactériennes et les processus de corrosion accélérée des structures métalliques en environnement marin*, thèse, Université de technologie de Compiègne (2006).
65. Pineau S., Sabot R., Quillet L., Jeannin M., Caplat C., Dupont-Morral, and Refait P., *Formation of the Fe (II-III) hydroxysulphate green rust during marine corrosion of steel associated to molecular detection of dissimilatory sulphite-reductase*. Corrosion science. **50** (2008) 1099-1111.
66. Pedersen A. and Hermanson M., *Bacterial corrosion of iron in seawater in situ and in aerobic model systems*. FEMS microbiology ecology. **86** (1991) 139-148.
67. Gubner R.J., *Biofilms and accelerated low-water corrosion of carbon steel piling in tidal waters*, thèse, University of Portsmouth (1998).
68. Knoblauch C., Jørgensen B.B., and Harder J., *Community size and metabolic rates of psychrophilic sulfate-reducing bacteria in Arctic marine sediments*. Applied and Environmental Microbiology. **65** (1999) 4230-4233.
69. Boudaud N., Pineau S., and Amiel C., *Caractérisation de la flore microbienne associée aux phénomènes de corrosion marine: apport de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)*. Matériaux & Techniques. **98** 69-79.
70. Hansen T.A., *Metabolism of sulfate-reducing prokaryotes*. Ant. Van. Leeuw. **66** (1994) 165-185.
71. Pelmont J., *Bactéries et environnement - Adaptions physiques*. 2ème édition. 1993.
72. Le Faou A., Rajagopal B.S., Daniels L., and Fauque G., *Thiosulfate, polythionates and elemental sulfur assimilation and reduction in the bacterial worl*. FEMS microbiology ecology. **75** (1990) 351-382.
73. Garcia J.L., Patel B.K.C., Fardeau M.L., Ravot G., Magot M., Cayol J.L., and Ollivier B., *Thiosulfate reduction by non-sulfate-reducing anaerobic prokaryotes*. Recent research developments in microbiology. **4** (2000) 701-724.
74. Magot M., Ravot M., Campaignolle X., Ollivier B., Patel B.K.C., Fardeau M.L., Thomas P., Crolet J.L., and Garcia J.L., *Dethiosulfovibrio peptidovorans gen. Nov., SP. Nov., a nex anaerobic, slightly halophilic, thiosulfate-reducing bacterium from corroding offshore oil wells International*. Journal of systematic bacteriology. **47** (1997) 818-824.
75. Ravot G., Ollivier B., Magot M., Patel B.K.C., Crolet J.L., Fardeau M.L., Thomas P., Crolet J.L., and Garcia J.L., *Thiosulfate reduction : an important physiological feature shared by members of thermotogales*. Applied and Environmental Microbiology. **61** (1995) 2053-2055.

76. Fardeau M.L., Cayol J.L., Magot M., and Ollivier B., *Hydrogen Oxidation Abilities in the Presence of Thiosulfate as Electron Acceptor Within the Genus Thermoanaerobacter*. Current Opinion in Biotechnology. **29** (1994) 269-272.
77. Widdel F. and Pfennig N., *Studies on dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. I- Isolation of new sulfate-reducing bacteria enriched with acetate from saline environments. Description of Desulfobacter postgatei gen. nov., sp. nov.* Archives of Microbiology. **129** (1981) 395-400.
78. Imhoff J.F. and Caumette P., *Recommended standards for the description of new species of anoxygenic phototrophic bacteria*. International journal systematic evolutionary microbiology. **54** (2004) 1415-1421.
79. Postgate J.R., *Economic importance of sulfur bacteria*. Philosophical transactions of the Royal society London **B298** (1982) 583-600.
80. Langumier M., *Biodétérioration des structures portuaires en acier: synergie entre la physico-chimie du fer en milieu marin et les micro-organismes sulfurogènes*, thèse, Université de La Rochelle (2011).
81. Straub K.L., Benz M., and Schink B., *Iron metabolism in anoxic environments at near neutral pH*. FEMS microbiology ecology. **34** (2001) 181-186.
82. Hallberg K.B. and Johnson D.B., *Novel acidophiles isolated from moderately acidic mine drainage waters*. Hydrometallurgy. **71** (2003) 139-148.
83. Johnson D.B., Okibe N., and Roberto F.F., *Novel thermo-acidophilic bacteria isolated from geothermal sites in Yellowstone National Park : physiological and phylogenetic characteristics*. Archives of Microbiology. **180** (2003) 60-68.
84. Lopez-Archilla A.I., Gérard E., Moreira D., and Lopez-Garcia P., *Macrofilamentous microbial communities in the metal-rich and acidic River Tinto, Spain*. FEMS microbiology ecology. **235** (2004) 221-228.
85. Duongruitai N., D. W.A., and H. T.O., *Microbial populations identified by fluorescence in situ hybridization in a constructed wetland treating acid coal mine drainage*. Journal of environmental quality. **35** (2006) 1329-1337.
86. Videla H.A., *Manual of biocorrosion*. CRC Lewis Publishers (Eds.). 1996.
87. Bilgin A.A., Silverstein L., and Jenkins L.D., *Iron respiration by Acidiphilium cryptum at pH 5*. FEMS microbiology ecology. **49** (2004) 137-143.
88. Neubauer S.C., Emerson D., and Megonigal J.P., *Life at the energetic edge: kinetics of circumneutral iron oxidation by lithotrophic iron-oxidizing bacteria isolated from the*

- wetland-plant rhizosphere*. Applied and Environmental Microbiology. **68** (2002) 3988-3995.
89. Miot J., Benzerara K., Morin G., Kappler A., Bernard S., Obst M., Férard C., Skouri-Panet F., Guigner J.M., and Posth N., *Iron biomineralization by anaerobic neutrophilic iron-oxidizing bacteria*. Geochimica et cosmochimica Acta. **73** (2009) 696-711.
 90. Ehrenreich A. and Widdel F., *Anaerobic oxidation of ferrous iron by purple bacteria, a new type of phototrophic metabolism*. Applied and Environmental Microbiology. **60** (1994) 4517-4526.
 91. Benz M., Brune A., and Schink B., *Anaerobic and aerobic oxidation of ferrous iron at neutral pH by chemoheterotrophic nitrate-reducing bacteria*. Archives of Microbiology. **169** (1998) 159-165.
 92. Lovley D.R., *Dissimilatory Fe (III) - and Mn (IV)-Reducing Prokaryotes*. Prokaryotes. **2** (2006) 635-658.
 93. Lovley D.R., *Organic matter mineralization with the reduction of ferric iron : a review*. Geomicrobiology Journal. **5** (1987) 375-399.
 94. Lonergan D.J., Jenter H.L., Coates J.D., Phillips E.J., Schmidt T.M., and Lovley D.R., *Phylogenetic analysis of dissimilatory Fe (III)- reducing bacteria*. Journal of Bacteriology. **178** (1996) 2402-2408.
 95. Caccavo F., Frolund J., Van Ommen K., and Nielsen P.H., *Deflocculation of activated sludge by the dissimilatory Fe (III) - Reducing Bacterium Shewanella alga BrY*. Applied and Environmental Microbiology. **62** (1996) 1487-1490.
 96. Lee A.K. and Newman D.K., *Microbial iron respiration : impact on corrosion processes*. Applied Microbiology Biotechnology, (2003) 134-139.
 97. Monnartz P., *Beitrag zum Studium der Eisenchromlegierungen:(unter besonderer Berücksichtigung der Säurebeständigkeit)*, thèse, (1911).
 98. Stevens R. and Holah J., *The effect of wiping and spray•wash temperature on bacterial retention on abraded domestic sink surfaces*. Journal of Applied Microbiology. **75** (1993) 91-94.
 99. Sundgren J.E., *Structure and properties of TiN coatings*. Thin Solid Films. **128** (1985) 21-44.

100. Holah J. and Thorpe R., *Cleanability in relation to bacterial retention on unused and abraded domestic sink materials*. Journal of Applied Microbiology. **69** (1990) 599-608.
101. Marconnet C., Dagbert C., Roy M., and Féron D., *Stainless steel ennoblement in freshwater: From exposure tests to mechanisms*. Corrosion science. **50** (2008) 2342-2352.
102. Pons L., Délia M.L., Basséguy R., and Bergel A., *Effect of the semi-conductive properties of the passive layer on the current provided by stainless steel microbial cathodes*. Electrochimica Acta. **56** 2682-2688.
103. Mehanna M., *Mécanismes de transfert direct en corrosion microbienne des aciers: Application à Geobacter sulfurreducens et à l'hydrogénase de Clostridium acetobutylicum*, thèse, Université de Toulouse (2009).
104. Davis J.R., *Surface Engineering of Stainless Steel*. (1994) 741-761.
105. Maller R.R., *Passivation of stainless steel*. Trends in Food Science & Technology. **9** (1998) 28-32.
106. Olsson C.O.A. and Landolt D., *Passive films on stainless steels--chemistry, structure and growth*. Electrochimica Acta. **48** (2003) 1093-1104.
107. DeBold T., *Passivation of stainless steel*. Tappi Journal, (1988) 196-198.
108. Baroux B., Béranger G., Lemaitre C., and Lacombe P., *Passivité et rupture de la passivité des aciers inoxydables*. Les aciers inoxydables, (1990) 161-181.
109. Baroux B. and Gorse D., *Physique des films passifs*. Corrosion localisée, Les Editions de Physique, (1994) 91-147.
110. Hakiki N.E. and Da Cunha Belo M., *Influence du molybdène sur la structure électronique des films passifs formés sur les aciers inoxydables ferritiques à 17% de chrome*. Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série II, Mécanique, physique, chimie, astronomie. **320** (1995) 613-618.
111. MacDougall B. and Graham M.J., *Growth and stability of passive films*. Corrosion mechanisms in theory and practice, (1995) 143-173.
112. Clayton C., Olefjord I., Marcus P., and Oudar J., *Corrosion Mechanisms in Theory and Practice*. Marcel Decker, New York, (1995) 173-199.

113. Yang W., Costa D., and Marcus P., *Resistance to Pitting and Chemical Composition of Passive Films of a Fe-17% Cr Alloy in Chloride-Containing Acid Solution*. Journal of The Electrochemical Society. **141** (1994) 2669-2676.
114. Kirchheim R., Heine B., Fischmeister H., Hofmann S., Knotte H., and Stolz U., *The passivity of iron-chromium alloys*. Corrosion science. **29** (1989) 899-917.
115. Montemor M., Simões A., Ferreira M., and Belo M., *The role of Mo in the chemical composition and semiconductive behaviour of oxide films formed on stainless steels*. Corrosion science. **41** (1999) 17-34.
116. Ramasubramanian N., Preocanin N., and Davidson R., *Analysis of passive films on stainless steel by cyclic voltammetry and Auger spectroscopy*. Journal of The Electrochemical Society. **132** (1985) 793-798.
117. Boudinar Y., Innal F., Chadli H., and Belmokre K., *Electrochemical study of stainless steels used in an oil company by electrochemical impedance*. Materials and Corrosion. **61** 626-634.
118. Maurice V., Yang W., and Marcus P., *X-Ray Photoelectron Spectroscopy and Scanning Tunneling Microscopy Study of Passive Films Formed on (100) Fe-18Cr-13Ni Single-Crystal Surfaces*. Journal of The Electrochemical Society. **145** (1998) 909-920.
119. Wijesinghe T. and Blackwood D.J., *Electrochemical and photoelectrochemical characterization of the passive film formed on AISI 254SMO super-austenitic stainless steel*. Journal of The Electrochemical Society. **154** (2007) C16-C23.
120. Marconnet C., Wouters Y., Miserque F., Dagbert C., Petit J.P., Galerie A., and Féron D., *Chemical composition and electronic structure of the passive layer formed on stainless steels in a glucose-oxidase solution*. Electrochimica Acta. **54** (2008) 123-132.
121. Hakiki N., Boudin S., Rondot B., and da Cunha Belo M., *The electronic structure of passive films formed on stainless steels*. Corrosion science. **37** (1995) 1809-1822.
122. Sato N., *Interfacial ion-selective diffusion layer and passivation of metal anodes*. Electrochimica Acta. **41** (1996) 1525-1532.
123. Boudin S., *Etude analytique et électrochimique des films de passivation formés en milieu borate à la surface d'alliage inoxydable à base de fer ou de nickel : influence de la teneur en chrome*, thèse, Université Paris VI (1993).
124. Little B., Wagner P., and Mansfeld F., *Microbiologically influenced corrosion of metals and alloys*. International Materials Reviews. **36** (1991) 253-272.

125. Linhardt P., *Corrosion of metals in natural waters influenced by manganese oxidizing microorganisms*. Biodegradation. **8** (1997) 201-210.
126. Horvath J. and Uhlig H.H., *Journal electrochemical society*. **115** (1968).
127. Johnsen R., *The effect of a microbiological slime layer on stainless steel in natural seawater*. Corrosion NACE. **86** (1986) Paper N°227.
128. Dexter S. and Gao G., *Effect of seawater biofilms on corrosion potential and oxygen reduction of stainless steel*. Corrosion. **44** (1988) 717-723.
129. Eashwar M. and Maruthamuthu S., *Mechanism of biologically produced ennoblement: ecological perspectives and a hypothetical model*. Biofouling. **8** (1995) 203-213.
130. Seeliger W. and Hamnett A., *Novel electrocatalysts for oxygen reduction*. Electrochimica Acta. **37** (1992) 763-765.
131. Dexter S.C., *Mechanism of Ennoblement by Biofilms on Active/Passive Alloys Immersed in Seawater*, Tri-Service Committee on Corrosion Proceedings. 1994, DTIC Document.
132. Xu K., Dexter S., and Luther III G., *Voltammetric microelectrodes for biocorrosion studies*. Corrosion. **54** (1998) 814-823.
133. Tarasevich M., *Bioelectrocatalysis*. Comprehensive Treatise of Electrochemistry. **10** (1985) 231-295.
134. McLendon G. and Hake R., *Interprotein electron transfer*. Chemical reviews. **92** (1992) 481-490.
135. Isied S.S., Ogawa M.Y., and Wishart J.F., *Peptide-mediated intramolecular electron transfer: long-range distance dependence*. Chemical reviews. **92** (1992) 381-394.
136. Olesen B.H., Avci R.H., and Lewandowski Z.H., *Ennoblement of stainless steel studied by X-ray photoelectron spectroscopy*, in *CORROSION* 1998.
137. Salvago G., Taccani G., Fumagalli G., and Galelli L., *Acidification Effects on the Electrochemical Behaviour of Stainless Steel in Seawater*. Proc. Microbially Influenced Corrosion and Biodeterioration, (1990) 8-11.
138. S.C. D. and H-J. Z., *11th International Corrosion Congres*. Associazione Italiana di Metallurgia : Florence, Italie. **4** (1990) 333.

139. Landoulsi J., Pulvin S., Richard C., and Féron D., *Intérêt d'une approche enzymatique en corrosion microbienne des aciers inoxydables en eaux naturelles*. Matériaux & Techniques. **93** (2005) 59-67.
140. Derjaguin B. and Landau L., *Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and the adhesion of strongly charged particles in solution of electrolytes*. Acta Physiochim. **14** (1941) 733-762.
141. Verwey E.J.W. and Overbeek J.T.G., *Theory of the Stability of Lyophobic Colloids*. 1948.
142. van Oss C.J., Good R.J., and Chaudhury M.K., *The Role of van der Waals Forces and Hydrogen Bonds in Hydrophobic Interactions Between Biopolymers and Low Energy Surfaces*. Journal Colloid Interface Science, (1986) 111-378.
143. Guillemot G., *Compréhension des mécanismes à l'origine de l'adhésion de Saccharomyces cerevisiae sur acier inoxydable: Implications pour l'hygiène des surfaces en industrie agroalimentaire*, thèse, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse (2006).
144. Israelachvili J.N., *Intermolecular and surface forces*. Academic press.
145. James A.M., *Electrophoresis and other electrokinetic phenomena*. Surface and colloid Science, (1979) 121-188.
146. Keesom W.H., Physik. **22** (1921).
147. Debye P., Physik. **21** (1920.).
148. London F., Physik. **63** (1930).
149. Van Oss C.J., *Forces interfaciales en milieu aqueux*. 1996.
150. Elimelech M., Gregory J., Jia X., and Williams R., *Particle Deposition and Aggregation: Measurement, Modelling and Simulation*. 1995.
151. Ghigo J.M., *Are there biofilm-specific physiological pathways beyond a reasonable doubt?* Research in microbiology. **154** (2003) 1-8.
152. Mozes N., Marchal F., Hermesse M.P., Van Haecht J.L., Reuliaux L., Leonard A.J., and Rouxhet P.G., *Immobilization of microorganisms by adhesion: Interplay of electrostatic and nonelectrostatic interactions*. Biotechnology and Bioengineering. **30** (1987) 439-450.

153. Kuhn D., Chandra J., Mukherjee P., and Ghannoum M., *Comparison of biofilms formed by Candida albicans and Candida parapsilosis on bioprosthetic surfaces*. Infection and immunity. **70** (2002) 878-888.
154. Gallardo-Moreno A.M., González-Martín M.L., Pérez-Giraldo C., Garduño E., Bruque J.M., and Gómez-García A.C., *Thermodynamic analysis of growth temperature dependence in the adhesion of Candida parapsilosis to polystyrene*. Applied and Environmental Microbiology. **68** (2002) 2610-2613.
155. Hawser S.P. and Douglas L.J., *Biofilm formation by Candida species on the surface of catheter materials in vitro*. Infection and immunity. **62** (1994) 915-921.
156. Chandra J., Kuhn D.M., Mukherjee P.K., Hoyer L.L., McCormick T., and Ghannoum M.A., *Biofilm formation by the fungal pathogen Candida albicans: development, architecture, and drug resistance*. Journal of bacteriology. **183** (2001) 5385-5394.
157. Gallardo-Moreno A., González-Martín M., Perez-Giraldo C., Bruque J., and Gómez-García A., *The measurement temperature: an important factor relating physicochemical and adhesive properties of yeast cells to biomaterials*. Journal of Colloid and Interface Science. **271** (2004) 351-358.
158. Boulange-Petermann L., Rault J., and Bellon-Fontaine M.N., *Adhesion of Streptococcus thermophilus to stainless steel with different surface topography and roughness*. Biofouling. **11** (1997) 201-216.
159. Klotz S., Drutz D., and Zajic J., *Factors governing adherence of Candida species to plastic surfaces*. Infection and immunity. **50** (1985) 97-101.
160. Rouxhet P., Caillou S., Nonckreman C., Alves A., and Gerin P., *Enzymes et micro-organismes aux interfaces: mécanismes physico-chimiques et propriétés*. Matériaux & Techniques. **93** (2005).
161. Aminot A., Kirkwood D.S., and Kérouel R., *Determination of ammonia in seawater by the indophenol-blue method: Evaluation of the ICES NUTS I/C 5 questionnaire*. Marine Chemistry. **56** (1997) 59-75.
162. Mehanna M., *Mécanismes de transfert direct en corrosion microbienne des aciers: Application à Geobacter sulfurreducens et à l'hydrogénase de Clostridium acetobutylicum*. (2009).
163. Monk P.M.S., Mortimer R.J., and Rosseinsky D.R., *Electrochromism: fundamentals and applications*. 2008: Wiley-VCH.
164. Bard A. and Faulkner L., *Electrochemical methods : Fundamentals and applications*. John Miley & sons, Inc. 2001.

165. Ribaut C., *Elaboration d'un biocapteur cellulaire impédancemétrique pour la mesure des changements physiologiques affectant la cellule parasitée*, thèse, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier (2008).
166. Schreiber F., *Structure and growth of self-assembling monolayers*. Progress in Surface Science. **65** (2000) 151-256.
167. Ulman A., *An introduction to ultrathin organic films: From Langmuir–Blodgett to selfassembly*. New York: Academic Press. 1991.
168. Dubois L.H. and Nuzzo R.G., *Synthesis, Structure, and Properties of Model Organic Surfaces*. Annual Review of Physical Chemistry. **43** (1992) 437-463.
169. Landolt D., *Corrosion et Chimie de Surface des Métaux* Presses polytechniques et universitaires romandes. 1993.
170. Diard J.-P., Le Gorrec B., and Montella C., *Cinétique électrochimique*. Hermann. 1996.
171. Elia A., De Wael K., Dowsett M., and Adriaens A., *Electrochemical deposition of a copper carboxylate layer on copper as potential corrosion inhibitor*. Journal of Solid State Electrochemistry. **16** (2012) 143-148.
172. Zhang X., Jiang Z.H., Yao Z.P., Song Y., and Wu Z.D., *Effects of scan rate on the potentiodynamic polarization curve obtained to determine the Tafel slopes and corrosion current density*. Corrosion science. **51** (2009) 581-587.
173. Shi Z., Liu M., and Atrens A., *Measurement of the corrosion rate of magnesium alloys using Tafel extrapolation*. Corrosion science. **52** (2010) 579-588.
174. Bhat J.I. and Alva V.D.P., *Miconazole Nitrate as a Potential Corrosion Inhibitor for Aluminium in Hydrochloric Acid Medium*. Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry. **42** (2012) 951-957.
175. Hobbie J.E., Daley R.J., and Jasper S., *Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy*. Applied and Environmental Microbiology. **33** (1977) 1225-1228.
176. Lazar C.S., *Diversité et activité des communautés microbiennes dans des sédiments marins associés aux émissions de fluides froids*, thèse, Université de Bretagne Occidentale (2010).
177. Erable B., Roncato M.A., Achouak W., and Bergel A., *Sampling natural biofilms: a new route to build efficient microbial anodes*. Environmental science & technology. **43** (2009) 3194-3199.

178. Rastogi G. and Sani R.K., *Molecular Techniques to Assess Microbial Community Structure, Function, and Dynamics in the Environment*. Microbes and Microbial Technology, 29-57.
179. Scotto V., Cintio R.D., and Marcenaro G., *The influence of marine aerobic microbial film on stainless steel corrosion behaviour*. Corrosion science. **25** (1985) 185-194.
180. von der Ohe C., Johnsen R., and Espallargas N., *Multi-degradation behavior of austenitic and super duplex stainless steel -The effect of 4-point static and cyclic bending applied to a simulated seawater tribocorrosion system*. Wear. **288** (2012) 39-53.
181. Landoulsi J., Kirat K.E., Richard C., Feron D., and Pulvin S., *Enzymatic approach in microbial-influenced corrosion: a review based on stainless steels in natural waters*. Environmental science & technology. **42** (2008) 2233-2242.
182. Mansfeld F. and Little B., *A technical review of electrochemical techniques applied to microbiologically influenced corrosion*. Corrosion science. **32** (1991) 247-272.
183. Tanaka K. and Tsujikawa S., *Exposure Test to Evaluate Corrosion Resistance of Water Gates*. Corrosion Engineering. **52** (2003) 495-508.
184. George R.P., Muraleedharan P., Khatak H.S., and Rao T.S., *"Microbially influenced corrosion of AISI type 304 stainless steels under fresh water biofilms"*. Materials and Corrosion. **51** (2000) 213-218.
185. Little B., Ray R., Wagner P., Lewandowski Z., Lee W.C., Characklis W.G., and Mansfeld F., *Impact of biofouling on the electrochemical behaviour of 304 stainless steel in natural seawater*. Biofouling. **3** (1991) 45-59.
186. Motoda S., Suzuki Y., Shinohara T., and Tsujikawa S., *The effect of marine fouling on the ennoblement of electrode potential for stainless steels*. Corrosion science. **31** (1990) 515-520.
187. Maruthamuthu S., Eashwar M., Raja S.S., and Balakrishnan K., *Effects of microfouling and light/dark regimes on the corrosion potentials of two stainless alloys in seawater*. Biofouling. **7** (1993) 257-265.
188. Characklis W., *Bioengineering report: Fouling biofilm development: A process analysis*. Biotechnology and Bioengineering. **23** (2004) 1923-1960.
189. Compere C. and Le Bozec N. *Behaviour of stainless steel in natural seawater*. in *The First Stainless Steel Congress in Thailand, Bangkok, Thailand, December 15-17, 1997*. 1997.

190. C.M. Abreu, M.J. Cristóbal, R. Losada, X.R. Nóvoa, G. Pena, and Pérez M.C., *High frequency impedance spectroscopy study of passive films formed on AISI 316 stainless steel in alkaline medium*. Journal of Electroanalytical Chemistry. **572** (2004) 335-345.
191. Oliveira N. and Guastaldi A., *Electrochemical stability and corrosion resistance of Ti-6Al-4V alloys for biomedical applications*. Acta Biomaterialia. **5** (2009) 399-405.
192. Gonzalez J. and Mirza-rosca J., *Effect of bacterial biofilm on 316 SS corrosion in natural seawater by EIS*. Corrosion science. **40** (1998) 2141-2154.
193. Moradi M., Duan J., Ashassi-Sorkhabi H., and Luan X., *De-alloying of 316 stainless steel in the presence of a mixture of metal-oxidizing bacteria*. Corrosion science. **53** 4282-4290.
194. Santana J., Santana F., González J., Souto R., González S., and Morales J., *Electrochemical Analysis of the Microbiologically Influenced Corrosion of AISI 304 Stainless Steel by Sulphate Reducing Bacteria Associated with Bacillus Cereus*. Int. J. Electrochem. Sci. **7** 711-724.
195. L'Hostis V., Dagbert C., and Féron D., *Electrochemical behavior of metallic materials used in seawater - interactions between glucose oxidase and passive layers*. Electrochimica Acta. **48** (2003) 1451-1458.
196. Abd El Meguid E. and Abd El Latif A., *Electrochemical and SEM study on Type 254 SMO stainless steel in chloride solutions*. Corrosion science. **46** (2004) 2431-2444.
197. Ebrahimi N., Momeni M., Kosari A., Zakeri M., and Moayed M., *A comparative study of critical pitting temperature (CPT) of stainless steels by electrochemical impedance spectroscopy (EIS), potentiodynamic and potentiostatic techniques*. Corrosion science. **59** (2012) 96-102.
198. Capobianco G., Sandona G., Monetta T., and Bellucci F., *Passive films on stainless steels after gamma-ray irradiation, as studied by electrochemical impedance spectroscopy*. Corrosion science. **35** (1993) 35-41.
199. Marconnet C., *Influence de l'adhésion et de l'activité enzymatique du biofilm sur le comportement électrochimique des aciers inoxydables immergés en eaux de rivière*, thèse, Ecole Centrale Paris (2007).
200. Little B.J., Lee J.S., and Ray R.I., *The influence of marine biofilms on corrosion: A concise review*. Electrochimica Acta. **54** (2008) 2-7.
201. Zapata-Peñasco I., Salazar-Coria L., Saucedo-García M., Villa-Tanaka L., and Hernández-Rodríguez C., *Bisulfite reductase and nitrogenase genes retrieved from biocorrosive bacteria in saline produced waters of offshore oil recovery facilities*. International Biodeterioration and Biodegradation, (2012) 1-12.

202. Roden E.E. and Lovley D.R., *Dissimilatory Fe (III) reduction by the marine microorganism Desulfuromonas acetoxidans*. Applied and Environmental Microbiology. **59** (1993) 734-742.
203. van Beilen J.B. and Funhoff E.G., *Alkane hydroxylases involved in microbial alkane degradation*. Applied microbiology and biotechnology. **74** (2007) 13-21.
204. Teramoto M., Suzuki M., Okazaki F., Hatmanti A., and Harayama S., *Oceanobacter-related bacteria are important for the degradation of petroleum aliphatic hydrocarbons in the tropical marine environment*. microbiology. **155** (2009) 3362-3370.
205. González J.M. and Whitman W.B., *Oceanospirillum and related genera*. The prokaryotes. **3** (2006) 887-915.
206. Tang K.H., Feng X., Tang Y.J., and Blankenship R.E., *Carbohydrate metabolism and carbon fixation in Roseobacter denitrificans OCh114*. PLoS One. **4** (2009) e7233.
207. Pavissich J., Vargas I., Gonzalez B., Pasten P., and Pizarro G., *Culture dependent and independent analyses of bacterial communities involved in copper plumbing corrosion*. Journal of Applied Microbiology. **109** (2010) 771-782.
208. DeBerry D.W., *Modification of the electrochemical and corrosion behavior of stainless steels with an electroactive coating*. Journal of The Electrochemical Society. **132** (1985) 1022-1026.
209. Templeton A.S., Trainor T.P., Traina S.J., Spormann A.M., and Brown Jr G.E., *Pb (II) distributions at biofilm metal oxide interfaces*. Proceedings of the National Academy of Sciences. **98** (2001) 11897-11902.
210. Zheng B., Zhao Y., Xue W., and Liu H., *Microbial influenced corrosion behavior of micro-arc oxidation coating on AA2024*. Surface and Coatings Technology, (2012).
211. Wei R.P., Liao C.M., and Gao M., *A transmission electron microscopy study of constituent-particle-induced corrosion in 7075-T6 and 2024-T3 aluminum alloys*. Metallurgical and Materials Transactions A. **29** (1998) 1153-1160.
212. Szklarska-Smialowska Z., *Pitting corrosion of aluminum*. Corrosion science. **41** (1999) 1743-1767.
213. Rosliza R. and Wan Nik W.B., *Improvement of corrosion resistance of AA6061 alloy by tapioca starch in seawater*. Current Applied Physics. **10** (2010) 221-229.
214. Gohad N.V., Aldred N., Orihuela B., Clare A.S., Rittschof D., and Mount A.S., *Observations on the settlement and cementation of barnacle (Balanus amphitrite)*

- cyprid larvae after artificial exposure to noradrenaline and the locations of adrenergic-like receptors*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. **416** (2012) 153-161.
215. Heron-Allen E., *Barnacles in Nature and in Myth*. 2003: Kessinger Publishing.
 216. Bacchetti De Gregoris T., Khandeparker L., Anil A., Mesbahi E., Burgess J., and Clare A., *Characterisation of the bacteria associated with barnacle, Balanus amphitrite, shell and their role in gregarious settlement of cypris larvae*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. **413** (2012) 7-12.
 217. Avelin Mary S., Vitalina Mary S., Rittschof D., and Nagabhushanam R., *Bacterial-barnacle interaction: potential of using juncellins and antibiotics to alter structure of bacterial communities*. Journal of chemical ecology. **19** (1993) 2155-2167.
 218. Ezuber H., El-Houd A., and El-Shawesh F., *A study on the corrosion behavior of aluminum alloys in seawater*. Materials & Design. **29** (2008) 801-805.

Table des figures

Figure I.1: L'initiation de la croissance du biofilm [47].....	13
Figure I.2: Représentation schématique de la formation d'un biofilm [57].....	15
Figure I.3: Cycle biologique du soufre [43].....	16
Figure I.4: Cycle biogéochimique du fer [80].....	22
Figure I.5 : Courbe anodique de polarisation dans le cas d'un acier inoxydable.....	28
Figure I.6: Schéma descriptif des interactions pouvant s'établir entre deux corps et distances pour lesquelles ces interactions sont significatives [143]	35
Figure I.7: Double couche électrique au voisinage d'une surface chargée avec Ψ_0 = potentiel de surface, ζ = le potentiel au plan de cisaillement, Ψ_s = le potentiel dans la couche de Stern, κ^{-1} = épaisseur de la double couche [143]	36
Figure II.1 : Photographie des deux sites : a) Mahury, b) Larivot	45
Figure II.2 : Hauteur de la marée en fonction du temps au moment du prélèvement des eaux de mer.....	47
Figure II.3: Photographie du montage à eau de mer en système dynamique dans les enceintes	48
Figure II.4: Photographie de la cellule électrochimique en verre	49
Figure II.5 : Photographie du montage statique dit à « eau de mer en système statique ».....	49
Figure II.6 : Images observées à l'aide du MEBE de chaque métal avant immersion : a) acier inoxydable 254 SMO brute, b) acier inoxydable 254 SMO poli, c) acier inoxydable 254 SMO grenailé, d) cuivre pur.	51
Figure II.7: Photographies du montage a) avant immersion, b) en immersion.....	52
Figure II.8: Différents processus électrochimiques à l'interface métal/électrolyte.....	53
Figure II.9 : Microscope à fluorescence Zeiss avec ApoTome.2 associé à une caméra digitale (AxioCam MRm)	60
Figure II.10 : Photographie du microscope électronique à balayage environnemental du L3MA	61
Figure II.11: Schéma explicatif du principe physique de la microscopie électronique à balayage.....	61

Figure II.12 : Le diagramme de phase pression en fonction de la température pour l'eau.	63
Figure II.13: DGGE. A. Montage du gel dans la cuve à électrophorèse. B. Schéma du principe de la migration en DGGE. C. Exemple de gel révélé aux UV	64
Figure III.1: Localisation des différents sites de prélèvements pour le screening ; a) carte de la Guyane, b) zoom sur la zone encadrée en rouge	67
Figure III.2 : Graphe du potentiel d'abandon en fonction de la distance d en km séparant chaque site de prélèvement du front de mer	68
Figure III.3 : Suivi de l'évolution du potentiel d'abandon en fonction du temps pour l'acier inoxydable 254SMO brut immergé dans les 5 différents milieux	68
Figure III.4 : Evolution du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut en eau du Mahury (a) et en eau du Larivot (b)	70
Figure III.5 : Observation du biofilm au MEBE, sur l'acier inoxydable 254 SMO brut immergé dans les 2 milieux étudiés avec Lsté ₃₀ et Msté ₃₀ (acier après 30 jours d'immersion pour le Larivot et le Mahury stérile respectivement), Lns ₃₀ et Mns ₃₀ (acier après 30 jours d'immersion dans le Larivot et le Mahury non stérile respectivement).....	71
Figure III.6 : a) Variation moyenne de la température – b) pluviométrie moyenne en Guyane Française (données Météo-France)	72
Figure III.7 : Variation du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut en fonction des saisons.....	73
Figure III.8 : Evolution du potentiel d'abandon en fonction de l'éclairement pour l'acier 254SMO brut immergé dans les deux eaux de mer (Mahury et Larivot).....	74
Figure III.9 : Suivi du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut en fonction des dates de prélèvement.....	75
Figure III.10 : Observations de la surface d'échantillon d'acier a) à marée montante et b) à marée descendante après 2 semaines d'immersion dans l'eau du Mahury	76
Figure III.11 : Evolution du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut en fonction du volume et du montage expérimental	77
Figure III.12 : a) Evolution du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut immergé en Mahury et Larivot, b) histogramme correspondant aux valeurs de potentiel d'abandon obtenu en fonction du temps.	81
Figure III.13 : Diagrammes de Nyquist obtenus avec l'acier inoxydable 254 SMO brut immergé en Larivot (a) et Mahury (d) respectivement ; diagramme de Bode en module/phase Larivot (b)/(c) Mahury (e)/(f) à différents temps d'immersion.....	83

Figure III.14 : Evolution du potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO brut dans les différentes conditions expérimentales représentées dans le tableau 3.5	87
Figure III.15 : Diagramme de Nyquist obtenus pour l'acier inoxydable 254 SMO brut dans les conditions 1-2-3-4-5-6 après 22 jours d'expérience, b) Circuit équivalent utilisé pour modéliser les spectres d'impédance	88
Figure III.16 : Diagrammes de Bode obtenus avec l'acier inoxydable dans les conditions 2-4-6 après 22 jours d'immersion ; a) Module de l'impédance en fonction de la fréquence, b) Angle de phase en fonction de la fréquence.	89
Figure III.17 : Voltammogrammes cycliques des premiers cycles de chaque condition expérimentale sans agitation, de l'acier inoxydable 254 SMO après 22 jours d'immersion. ..	90
Figure III.18 : Voltammogrammes cycliques de l'acier inoxydable 254 SMO brut après 22 jours d'immersion dans les conditions expérimentales, sans agitation, (a) avec biofilm gratté sur le ponton et (b) sans biofilm gratté sur le ponton : conditions 4 et 6 respectivement.	91
Figure III.19 : Courbes anodiques de l'acier inoxydable 254 SMO brut pour chaque condition expérimentale sans agitation	92
Figure III.20 : Observations de la surface d'échantillon d'acier inoxydable immergé dans l'eau du Mahury pendant 4 semaines avec 2 filtres DAPI - c) 01 DAPI et - b) 49 DAPI ; 1 filtre Acridine orange -a) AF 488 et -c) les 3 filtres ensembles	93
Figure III.21 : Observations à l'aide de microscope à épifluorescence de l'acier inoxydable 254 SMO brut : a) avant immersion, b) en milieu non stérile + ajout de biofilm gratté sur le ponton, c) en milieu non stérile sans ajout de biofilm gratté sur le ponton, pendant 22 jours d'expériences.....	94
Figure III.22 : a) Evolution du taux de recouvrement en fonction du temps ; b) les images BSE de la surface de l'acier 254 SMO brut immergé durant 7, 15 et 30 jours en Mahury.....	95
Figure III.23 : Images du biofilm et des bactéries adhérents à la surface de l'acier inoxydable après 22 jours d'immersion en milieu Mahury ; a) Détecteur BSED, x 400, Pression 60 Pa, Energie d'accélération 15 Kev ; b) Détecteur LFD, x 1 200, Pression 60 Pa, Energie d'accélération 15 Kev ; c) Détecteur LFD, x 16 000, Pression 60 Pa, Energie d'accélération 10 Kev ; Détecteur GSED, x 24 000, Pression 600 Pa Energie d'accélération 10 Kev	96
Figure III.24 : Analyse EDX du biofilm en Mahury avec la détecteur BSED, x 4000, Pression $1,10^{-4}$ Pa, Energie d'accélération 20 Kev	97
Figure III.25 : Analyse EDX réalisée avec le détecteur BSED sur l'acier inoxydable immergé en Mahury, avec une pression de $1,10^{-4}$ Pa, une énergie d'accélération de 20 Kev après 22 jours d'expérience, a) EDS image aux points 1 et 2, b) correspondant aux résultats quantitatives, c) spectres correspondant.....	98

Figure III.26 : Cartographie EDS après nettoyage, de la zone visualisée sur les défauts métalliques de l'acier inoxydable 254 SMO brut, après 22 jours d'immersion en Mahury	98
Figure IV.1 : Suivi du potentiel d'abandon des deux échantillons brut et grenailé de l'acier inoxydable 254 SMO immergés dans l'eau du Larivot <i>in-situ</i> (R désigne la date du retrait)	103
Figure IV.2 : Diagrammes de bode obtenus à chaque retrait avec les aciers brut et grenailé immergés <i>in-situ</i> pendant 40 jours dans l'eau du Larivot module (a)/(c) et (b)/(d) en fonction de la fréquence	105
Figure IV.3 : Observations de la surface de l'acier brut en fonction de la date des retraits a) 12 jours, b) 23 jours, c) 31 jours et d) 40 jours, de l'acier grenailé e) 14 jours et f) 28 jours	106
Figure IV.4 : Evolution du potentiel d'abandon des trois différents échantillons d'acier immergés <i>in situ</i> sur le site du Larivot	107
Figure IV.5 : Diagrammes de Bode en module (a, c, e) et en phase (b, d, f) des trois différents échantillons d'acier immergés <i>in situ</i> pendant 4 semaines.....	109
Figure IV.6 : Exemples d'ajustements des modèles aux données expérimentales : a) pour l'acier brut et b) pour l'acier grenailé	110
Figure IV.7 : Les circuits équivalents utilisés pour modéliser les spectres d'impédance obtenus avec l'acier brut (a), grenailé (c). (b) et (d) représentent une modélisation du schéma de	111
Figure IV.8 Caractérisation du biofilm à la surface de l'acier inoxydable 254 SMO brut par épifluorescence immergé <i>in situ</i> pendant 4 semaines où a) en noir et blanc et b) en couleur	114
Figure IV.9 : Les observations MEBE de la surface de l'acier inoxydable 254 SMO immergé <i>in situ</i> pendant 4 semaines avec : a) et b) nids de balane à 7 jours environ – c) d) et e) présence des bactéries respectivement à la surface de l'acier grenailé, brut et poli après 7 jours d'immersion – et f) présence de balane à 28 jours sur l'acier brut.	114
Figure IV.10 Evolution du potentiel d'abandon des trois différents échantillons d'acier immergés dans l'eau du Larivot en laboratoire	115
Figure IV.11 : Diagrammes de Bode en module (a, c, e) et en phase (b, d, f) des trois différents échantillons d'acier immergés en laboratoire pendant 3 semaines après avoir passé 1 semaine au préalable <i>in situ</i>	117
Figure IV.12 : Diagrammes de Bode en module d'impédance a) et de phase b) pour l'acier grenailé obtenus avec les expériences à chaque retrait <i>in-situ</i> et à 12 jours <i>in-situ</i> (expériences préliminaires)	118
Figure IV.13 : Evolution du potentiel d'abandon de l'acier brut dans 4 différentes conditions expérimentales : Larivot <i>in-situ</i> , Larivot 40 L, Larivot mixte+ <i>in-situ</i> , Larivot 3L.....	119

Figure IV.14 : Diagrammes comparatifs après 21 jours d'immersion pour les trois types d'échantillons étudiés.....	121
Figure IV.15 : Diagrammes comparatifs après 21 jours d'immersion pour les trois types d'échantillons étudiés.....	122

Liste des tableaux

Tableau I.1 Nomenclature des aciers inoxydables et leurs domaines d'applications [103].....	25
Tableau I.2 : Composition et structure des films formés par passivation électrochimique.....	30
Tableau I.3 : Hypothèses proposées pour expliquer l'évolution du comportement électrochimique des aciers inoxydables en eau de mer naturelle.	32
Tableau I.4 : facteurs influençant l'adhésion initiale d'un microorganisme sur une surface solide[143].....	40
Tableau II.1: Composition physico-chimique des deux eaux de mer (A) 2/3 de marée montante, (B) marée descendante (début), (C) marée descendante (fin)	45
Tableau II.2: Composition de l'eau de mer artificielle reconstituée	48
Tableau II.3 Composition chimique en pourcentage de masse des électrodes de travail.....	51
Tableau III.1 : Localisation et valeurs de pH pour chaque eau de mer non stérile	67
Tableau III.2 : Moyennes et écarts types sur les valeurs de potentiel d'abandon de l'acier inoxydable 254 SMO en fonction du montage à 30 jours, L : Larivot et M : Mahury	77
Tableau III.3 : Paramètres électriques obtenus du meilleur ajustement des diagrammes d'impédance expérimentaux à l'interface acier inoxydable/d'électrolyte, dans les milieux Larivot et Mahury.....	85
Tableau III.4 : Différentes conditions expérimentales	86
Tableau III.5 : Paramètres électriques obtenus du meilleur ajustement des diagrammes d'impédance expérimentaux à l'interface acier inoxydable/d'électrolyte, dans les conditions expérimentales 2, 4, 6.....	89
Tableau III.6 : Espèces bactériennes identifiées dans les biofilms adhérents à l'acier inoxydable 254 SMO brut aux cours des expériences	99
Tableau IV.1 : Valeurs de potentiel d'abandon mesurées lors des 40 jours d'immersion <i>in-situ</i> dans l'eau du Larivot.....	104
Tableau IV.2 : Etat de la marée à chaque date de retrait des échantillons de l'eau du Larivot	107
Tableau IV.3 : Paramètres électriques obtenus du meilleur ajustement des diagrammes d'impédance expérimentaux à l'interface acier inoxydable/d'électrolyte des trois différents échantillons d'acier en eau du Larivot (<i>in situ</i>).....	111

Tableau IV.4 : Paramètres électriques obtenus du meilleur ajustement des diagrammes d'impédance expérimentaux à l'interface acier inoxydable/d'électrolyte des trois différents échantillons d'acier en eau du Larivot <i>ex-situ</i>	118
---	-----