

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



*Ecole Nationale Supérieure Polytechnique*

Département de Génie de l'Environnement  
Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement

MEMOIRE DE MAGISTER

Présenté par

Mlle MANSOUR DALILA

Ingénieur d'Etat en Génie Biologique de l'Université des Sciences et de la  
Technologie - Houari Boumediene (USTHB)

Pour l'obtention du diplôme de Magister En Génie de l'Environnement  
Option. Génie de l'Environnement

Thème

**Etude du comportement de l'acier API 5L X52  
traité par plasma d'oxygène vis-à-vis  
de la corrosion en milieu aqueux**

Soutenu le 08/10/2009 devant le jury suivant:

Présidente :	M <sup>me</sup> . N. BELHANECHÉ	Professeur	ENSP
Directeur :	Mr. B. DEMRI	Maitre de conférences	ENSP
Examineurs :	M <sup>me</sup> . A. HELLAL	Professeur	ENSP
	Mr. M. LARIBI	Professeur	ENSP
	Mr. A. LOUNIS	Maitre de conférences	USTHB
Invité :	Mr. M. NAIM	Professeur	HCA/Ain Naadjaa

Année universitaire : 2008/2009.  
ENSP 10, Avenue Hassan Badi, El-Harrach, Alger.

## ملخص

هذه الدراسة تتمثل في مساهمة لفهم سلوك الفولاذ الكربوني إزاء التآكل المتأثر ميكروبيولوجيا، وذلك مع ودون المعالجة السطحية عن طريق الزرع الأيوني للأكسجين. الجزء الأول من هذه الدراسة تمثل في وصف لطريقة المعالجة السطحية بالزرع الأيوني للأكسجين للفولاذ الكربوني وكذا وصف للراسب الناتج عن العملية. مثلما أجريت تجارب غمر في محلول تآكل ( $FeCl_3$ ) و تجارب إلكتروكيميائية بهدف كشف فعالية الراسب الناتج، هذا الأخير قدم حماية للفولاذ الكربوني إزاء التآكل في الأوساط السائلة. في القسم الثاني أجري الوصف العيني و المجهرى للبكتيريا الخاصة بالتآكل: البكتيريا المختزلة للسلفات، من ثم تجارب غمر غير مستمرة أجريت في زراعات نقية و زراعات مختلطة (إتحاد بكتيريا مختزلة للسلفات) من البكتيريا المختزلة للسلفات و ذلك بهدف دراسة سلوك شرائح الفولاذ الكربوني إزاء التآكل البكتيري النقطي مع و بدون معالجة سطحية بزرع أيوني للأكسجين. كما أجري وصف للأغشية البيولوجية للبكتيريا المختزلة للسلفات (نقية و مختلطة) و تحاليل لحاصلات التآكل الناتج. ألتائج بينت أن شرائح الفولاذ الكربوني المعالجة بالمعالجة السطحية الأيونية أحسن مقاومة للتآكل من الشرائح غير المعالجة، و أن الزراعات المختلطة للبكتيريا المختزلة للسلفات هي أكثر عدوانية من الزراعات النقية المختبرة في الشروط نفسها.

**الكلمات المفتاحية:** الفولاذ الكربوني، التآكل النقطي، المعالجة الأيونية، البكتيريا المختزلة للسلفات، الغشاء البيولوجي.

## Résumé

La présente étude consiste en une contribution à la compréhension du comportement des aciers au carbone vis-à-vis de la corrosion influencée microbiologiquement, avec et sans traitement de surface par plasma d'oxygène.

Dans la première partie, une description du processus de traitement de surface par plasma d'oxygène de l'acier au carbone et une caractérisation du dépôt produit sont faites. Ainsi, des essais d'immersion en solution corrosive de  $FeCl_3$  et des essais électrochimiques sont réalisés pour vérifier l'efficacité du dépôt résultant, ce dernier apporte une protection à l'acier vis-à-vis de la corrosion en milieux aqueux.

La deuxième partie porte sur la caractérisation macro et microscopique des bactéries corrosives ; bactéries sulfatoréductrices (BSR).

Des essais d'immersion en batch sont par la suite réalisés en cultures pures de BSR (BSR 1) et en cultures mixtes (consortium de BSR), afin d'étudier le comportement des éprouvettes d'acier vis-à-vis de la corrosion par piqûres, avec et sans traitement de surface par plasma d'oxygène. Une caractérisation des biofilms de BSR (pures et mixtes) et des analyses des produits de corrosion résultant sont faites. Les résultats montrent que les éprouvettes d'acier traitées par plasma d'oxygène résistent mieux à la corrosion par piqûres que les éprouvettes non traitées, et que les cultures mixtes de BSR sont plus agressives que les cultures pures testées dans les mêmes conditions.

**Mots clefs :** acier au carbone, corrosion par piqûres, plasma d'oxygène, BSR, biofilm.

## Abstract

This study is a contribution to understanding the behavior of carbon steel towards microbiologically influenced corrosion, with and without surface treatment by oxygen plasma.

In the first part, a description of the surface treatment process by oxygen plasma in a carbon steel and characterization of the produced deposit are made. Thus, immersion tests in  $FeCl_3$  corrosive solution in addition to electrochemical tests are performed to verify the efficiency of the resulting deposit, which provides protection to carbon steel from corrosion in aqueous media.

The second part had focused on macro and microscopic characterization of corrosive bacteria; sulfate reducing bacteria (SRB).

Batch immersion tests have been subsequently performed in pure SRB cultures (SRB1) and in mixed cultures (SRB consortium), to study the behavior of steel samples towards pitting corrosion with and without oxygen plasma surface treatment. A characterization of SRB biofilms (pure and mixed) and analyses of corrosion products are done. The results show that steel pieces treated with oxygen plasma are more resistant towards pitting corrosion than untreated ones, and that mixed cultures of SRB are more aggressive than pure cultures tested under the same conditions.

**Key words:** carbon steel, pitting corrosion, oxygen plasma, SRB, biofilm.



# Dédicaces

*À mon chère père, qui m'a accompagné et soutenu au long de toutes mes années d'étude, avec une grande patience et générosité ;*

*À ma chère mère, qui n'a cessé à aucun moment de me soutenir et de me conseiller, avec une grande confiance tout au long de la préparation de ce travail très pour moi ;*

*Toute ma reconnaissance vous est adressée mes chères parents, pour avoir été mes modèles les plus fiables dans la vie. Sans votre présence, je ne serais jamais parvenue à ce stade d'instruction ;*

*À mes deux frères Yazid et Mohamed, à ma sœur Nesrine et ma petite adorable sœur Chaima ; chacun pour ses propres qualités avec lesquelles il était présent à mes côtés ;*

*À ma chère tante Gousseem ;*

*À la mémoire de mes deux grandes mères ;*

*À tous ceux qui me sont chères. . .*

*Dafisa*

# Remerciements

Éloges à Allah tout puissant pour m'avoir donné la confiance en soi, la force et la volonté pour poursuivre mes études et réaliser cette étude.

Ma profonde gratitude à mes parents : Monsieur B. MANSOUR et Madame Z. OUSERIR, ainsi qu'à mes sœurs NESRINE et AMINA et mes frères YAZID et MOHAMED, pour leur aide inconditionnelle et continue tout au long de la préparation de ma thèse.

Je tiens à adresser ma parfaite reconnaissance et mes profonds remerciements à Monsieur M. MEZIANE, Président Directeur Général du Groupe SONATRACH, pour son encouragement et pour la confiance qu'il a accordée à mon travail de recherche.

Ce travail de recherche a été réalisé au Centre de Recherche et Développement du Groupe SONATRACH (CRD), ainsi qu'à l'Ecole Nationale Supérieure Polytechnique (ENSP) d'Alger sous la direction de Monsieur B. DEMRI, Maître de Conférences à l'ENSP. Ma profonde gratitude lui est adressée pour sa compréhension, ses conseils si précieux et pour la liberté d'action qu'il m'a donnée.

De sincères remerciements à Madame N. BELHANECHÉ, Professeur l'Ecole Nationale Supérieure Polytechnique pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'examiner cette étude et d'en présider le jury de soutenance.

Je remercie vivement Madame A. HELLAL, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Polytechnique d'avoir accepté d'analyser mon travail.

Je remercie profondément Monsieur M. LARIBI, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Polytechnique pour avoir accepté de faire partie du jury de soutenance.

Que Monsieur A. LOUNIS, Maître de Conférences à l'Université des Sciences et de la Technologie – Houari Boumediene, qui a accepté d'examiner ce travail et de participer au jury, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

J'exprime mes remerciements à Monsieur M. NAIM, Professeur et Chef de service de Microbiologie à l'Hôpital Central de l'Armée de Ain Naadja pour les fructueuses discussions scientifiques que j'ai eues avec lui et pour son aide technique et sa confiance.

Je tiens à remercier spécialement ma collègue Mademoiselle S. HADDADI pour ses conseils pertinents et ses encouragements, qu'elle trouve ici ma parfaite reconnaissance.

Je remercie vivement Monsieur R. SIACI, Ancien Divisionnaire du Centre de Recherche et Développement-SONATRACH, Monsieur A. ADJEB Directeur Traitement des Hydrocarbures et Monsieur A. LONGO, son prédécesseur, ainsi, Monsieur M.L. GANA Chef de Département Corrosion pour la confiance qu'ils ont accordée à mon travail.

De sincères remerciements aux cadres de l'Association SONATRACH-AGIP, spécialement Messieurs Y. AMEZIANE, M. BOUKRIF, R. BRIKA, M. ABDELHAMID, K. TAHANOUT pour leur aide et leur disponibilité.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur Y. BENARIOUA du Centre Universitaire de M'Sila pour l'aide qu'il m'a attribuée de loin.

J'adresse mes plus sincères remerciements à mes collègues du CRD : Mesdames F. LAADJAL-ADJAL, N. ALEM, K. KHETIB, K. GUELLIL, C. BENAMARA, M. ABAD et Messieurs A. OUMANSOUR, H. BOUBACHA, H. NAOUI, M. BELKADI, R. TALAMALI, M. KHODJA et Mademoiselle N. MAZOUZ pour leur contribution et leur aide.

Je remercie mes collègues du département Corrosion : Madame C. BADACHE du Corps Secrétariat pour sa disponibilité et Monsieur M. KARA ainsi que le personnel du Département Ressources Humaines, du Département Technique et du Groupe Développement Informatique.

Ainsi, je remercie mon ancien collègue Monsieur M. MEKKI DAOUADJI pour les fructueuses discussions scientifiques que nous avons eues.

Je présente l'expression de ma reconnaissance et mes remerciements à Monsieur T. KERDJA, Madame Y. BELAROUSSI et Monsieur Y. KHIRREDINE du Centre de Développement des Techniques Avancées (CDTA) de Baba Hssen pour leur contribution et leur coopération.

Je tiens ainsi à remercier Messieurs R. KERBACHI, K. ALAOUACHE, A. LADJAALI et M. BOUSBAI et Mlle O. ALI de l'Ecole Nationale Supérieure Polytechnique d'Alger pour leur aide et disponibilité.

Je tiens à exprimer mes remerciements à Messieurs S. AMRANI et K. MOUKADDEM, A. ABDERAHMANI ainsi qu'à Mesdemoiselles A. BENHADJI, S. ALOUACHE, F. BOUKEDJANI et Mesdames A. BENMALEK, S. BRICKCHAOUCHE et F. BOUFROUCHE de l'Université des Sciences et de la Technologie-Houari Boumediene pour leur aide scientifique et leur disponibilité.

Je remercie également Monsieur A. HADDAD et les ingénieurs du laboratoire de métallographie du Centre de Contrôle et Soudage de Chéraga pour leur aide technique et leur collaboration.

Que toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de cette étude, trouve ici mes sincères remerciements.

# Liste des abréviations et sigles

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.  
ADP : Adénosine Di Phosphate.  
AFM : Microscope à Force Atomique.  
AMP: Adénosine Mono Phosphate.  
API: American Petroleum Institute.  
APS: Adénosine-5-Phospho Sulfate.  
ARN<sub>r</sub> : Acide Ribo Nucléique Ribosomique.  
ATP : Adénosine Tri Phosphate.  
B<sub>c</sub> : Beta cathodique.  
BRN : Bir Sif Fatima.  
BSR : Bactéries Sulfato Réductrices.  
C : Concentration.  
CG : Cytosine Guanine.  
C.I.M : Corrosion Influencée Microbiologiquement.  
CoA: Co enzyme A.  
CVD: Chemical Vapor Deposition.  
D.L.V.D (théorie): théorie de la stabilité colloïdale.  
E<sub>cor</sub> : potentiel de corrosion.  
E<sub>rev</sub> : Potentiel réversible.  
ECS : Electrode au Calumel Saturé.  
EDS : Spectrométrie par Dispersion d'Energie de Rayons X.  
GCG : bases de l'ADN : guanine-cytosine-guanine.  
H<sub>v</sub> : dureté Vickers.  
I<sub>cor</sub> : courant de corrosion.  
IBS : Ion Beam Service.  
IRTF : Infra Rouge à Transformée de Fourier.  
J.FET: Jonction Field Effect Transistor.  
LSS: Lindhard, Scharff, Schiott.  
MBCQ : Micro Balance à Cristal de Quartz.  
MEB : Microscope Electronique à Balayage.  
MET : Microscope Electronique à transmission.  
N : Nombre d'électrons transférés lors de la réaction d'électrode.  
η : Surtension d'activation.  
NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.  
NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.  
PACVD : Plasma Assisted Chemical Vapor Deposition.  
PAP : Phospho Adénosine Phosphate.  
PAPS : Phospho Adénosine Phospho Sulfate.  
PBS: Phosphate Buffered Saline.  
Pg Bt : Postgate B thiosulfate.  
PCR : Polymeric Cyclique Reaction.  
pH : Potentiel d'hydrogène.  
pK : constante d'équilibre.  
PSII : Plasma Source Ion Implantation.

PVD : Physical Vapor Deposition.  
R : constante des gaz parfaits.  
 $R_p$  : résistance de polarisation.  
RX : rayons X.  
S.E.P : Substances Extra Polymériques.  
SOD : Super Oxyde Dismutase.  
SOR : Super Oxyde Réductase.  
S (16 S) : Svedberg (unité Svedberg).  
T : température absolue en  $^{\circ}\text{K}$ .  
THPS: Tétrakis Hydroxymethyl Phosphorium Sulfate.  
TRIM : Transport of Ions in Matter.  
UV : Ultra Violet.  
 $V_C$  : vitesse de corrosion.  
 $\alpha$  : Coefficient de transfert de charge.

## Unités

$^{\circ}\text{C}$  : degrés Celsius.  
Cm : centimètre.  
g : gramme.  
g/l : gramme par litre.  
g/v : gramme par volume.  
h : heure.  
keV: kilo electron volt.  
kg: kilo gramme.  
kV: kilo volt.  
mA : milli ampère.  
 $\mu\text{A}$  : micro ampère.  
mg : milli gramme.  
min : minute.  
ml : milli litre.  
 $\mu\text{l}$  : mico litre.  
mm : milli mètre.  
 $\mu\text{m}$  : micro mètre.  
mS : milli siemens.  
mV : mili volt.  
m/v : masse par volume.  
nm : nano mètre.  
Pa : pascal.  
ppm : parties par million.  
tr/min: tours par minutes.  
V: volt.

# Liste des figures

<b>Fig.I.1.</b> Interaction matériau -milieu- micro-organismes.....	6
<b>Fig.I.2.</b> Bactéries Sulfato Réductrices et le cycle du soufre .....	11
<b>Fig.I.3.</b> Mécanismes de la réduction des sulfates chez les BSR : les deux voies dissimilatrice (respiratoire) et assimilatrice .....	14
<b>Fig.I.4.</b> Représentation schématique du transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire, en présence d'hydrogène ou de composés organiques comme source d'énergie et du sulfate comme accepteur terminal d'électrons chez les BSR.....	15
<b>Fig.I.5.</b> Schéma du principe du mécanisme de la corrosion anoxique du fer .....	16
<b>Fig.I.6.</b> Schéma d'une cellule d'aération différentielle sous un biofilm avec ou sans zone anaérobie.....	19
<b>Fig.I.7.</b> Différents mécanismes d'action des BSR dans la corrosion des aciers .....	20
<b>Fig.I.8.</b> Schématisation des étapes de formation d'un biofilm.....	22
<b>Fig.I.9.</b> Principe de l'implantation d'ions et distribution schématique des ions dans le matériau cible.....	27
<b>Fig.I.10.</b> Représentation schématique des phénomènes d'interaction entre les ions incidents et la matière lors d'une implantation d'ions et le profil de concentration associé.....	30
<b>Fig.I.11.</b> Caractéristiques courant tension d'une décharge. AB : décharge non autonome, BC : décharge sombre de Townsend, EF : décharge luminescente normale, FG : décharge luminescente anormale, au-delà de G : décharge d'arc.....	30
<b>Fig.II.1.</b> Schéma décrivant le dispositif expérimental du traitement de surface par plasma d'oxygène.....	39
<b>Fig.II.2.</b> Schéma de l'électrode de travail: vue de profil (a) et vue de face (b).....	40
<b>Fig.II.3.</b> Schéma général de la chaîne électrochimique de corrosion.....	41
<b>Fig.II.4.</b> Schéma de la cellule électrochimique utilisée.....	42
<b>Fig.II.5.</b> Conditions de mesure du potentiel à l'abandon.....	42
<b>Fig.II.6.</b> Conditions de mesure de la résistance de polarisation linéaire.....	43
<b>Fig.II.7.</b> Conditions de mesure des droites de Tafel.....	45
<b>Fig.II.8.</b> Conditions de mesure de la spectroscopie d'impédance électrochimique.....	46
<b>Fig.II.9.</b> Schéma du principe de dénombrement des BSR en milieu liquide par le « Test Kit ».....	48
<b>Fig.II.10.</b> Schéma de la paroi des bactéries Gram - et des bactéries Gram+ .....	50
<b>Fig.II.11.</b> Schéma du principe de la production des sulfures chez les BSR par la méthode du « test Kit ».....	52
<b>Fig.II.12.</b> Schéma de la structure d'un lipide Archéobactérien comparé à un lipide Eubactérien.....	53
<b>Fig.II.13.</b> Schéma de la procédure de préparation des BSR pour l'analyse des lipides membranaires par IRTF.....	54
<b>Fig.II.14.</b> Schéma de la méthode de culture des BSR pour l'analyse par spectroscopie IRTF.....	54
<b>Fig.III.1.</b> Illustration de l'installation de traitement de surface par plasma d'oxygène.....	58

<b>Fig.III.2.</b> Evolution des zones luminescentes en fonction de la pression créée dans l'enceinte de la décharge électrique : (a) pression atmosphérique, (b) $1,8 \cdot 10^{-1}$ torr, (c) $8,3 \cdot 10^{-2}$ torr.....	59
<b>Fig.III.3.</b> Evolution de l'aspect de surface des éprouvettes d'acier du début à la fin du traitement par plasma d'oxygène (de gauche à droite respectivement).....	59
<b>Fig.III.4.</b> Micrographies de l'état de surface de l'acier au carbone API 5L X52 soumis à l'attaque chimique NITAL .....	60
<b>Fig.III.5.</b> Micrographies des éprouvettes d'acier non traitées (a: 1000X) et traitées (b: 1000X, c: 1000X, d: 1000X, e: 1000X) par plasma d'oxygène à différentes étapes du traitement.....	61
<b>Fig.III.6.</b> Micrographie électronique avec analyse EDS (Intensité en fonction de l'énergie en KeV) d'une éprouvette d'acier avant traitement par plasma d'oxygène.....	62
<b>Fig.III.7.</b> Micrographies électroniques d'une éprouvette d'acier à différentes étapes du traitement par plasma d'oxygène.....	63
<b>Fig.III.8.</b> Microanalyse EDS (Intensité en fonction de l'énergie en KeV) de la surface d'une éprouvette d'acier traitée par plasma d'oxygène.....	64
<b>Fig.III.9.</b> Diffractogramme de l'éprouvette d'acier non traitée par plasma d'oxygène.....	65
<b>Fig.III.10.</b> Diffractogramme de l'éprouvette d'acier traitée par plasma d'oxygène.....	65
<b>Fig.III.11.</b> Micrographie électronique d'une découpe d'éprouvettes d'acier traitées par plasma d'oxygène.....	66
<b>Fig.III.12.</b> Micrographie de l'empreinte de la pyramide du microduromètre sur une éprouvette d'acier traitée par plasma d'oxygène (500X).....	67
<b>Fig.III.13.</b> Microduretés $HV_{100}$ (a) et $HV_{50}$ (b) mesurées sur une éprouvette d'acier neuve et sur une éprouvette d'acier traitée par plasma d'oxygène.....	67
<b>Fig.III.14.</b> Micrographie électronique de la surface d'une éprouvette d'acier soumise à l'essai de résistance, dans une solution de $FeCl_3$ , avec microanalyse EDS (Intensité en fonction de l'énergie en KeV) d'une piqûre après décapage.....	68
<b>Fig.III.15.</b> Evolution du potentiel à l'abandon en fonction du temps des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.....	69
<b>Fig.III.16.</b> Evolution du potentiel en fonction de la densité du courant des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.....	70
<b>Fig.III.17.</b> Tracés de Tafel ( $\log I = f(E)$ ) des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.....	71
<b>Fig.III.18.</b> Tracés d'Impédance électrochimique des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl : (a) : diagramme dans le plan de Nyquist (b) et (c): diagrammes dans le plan de Bode.....	72
<b>Fig.III.19.</b> Morphologie de BSR 4 ensemencée sur le milieu solide API après 7 jours d'incubation à 40 °C en anaérobiose.....	73
<b>Fig.III.20.</b> Observations microscopiques des colorations Gram des différentes colonies obtenues sur les milieu API : BSR1 (a), BSR2 (b), BSR3 (c), BSR4 (d) (GX100).....	74
<b>Fig.III.21.</b> Micrographies électroniques des différentes BSR du consortium étudié (a : BSR 1, b : BSR 2, c : BSR 3, d : BSR 4) (2000X).....	75
<b>Fig.III.22.</b> Test du type respiratoire du consortium de BSR.....	77
<b>Fig.III.23.</b> Test de production de sulfures par le consortium de BSR avant (a) et après (b) inoculation.....	77
<b>Fig.III.24.</b> Observations microscopiques après coloration de Gram de la BSR1 montrant la forme des cellules et leurs différents arrangements (GX100).....	78



<b>Fig.III.25.</b> Observation microscopique de la fluorescence rouge caractéristique de la désulfoviridine, contenue dans les cellules de BSR 1 (GX100).....	79
<b>Fig.III.26.</b> Micrographies électroniques des cellules de BSR1, dans des biofilms formés sur une éprouvette d'acier API 5L X52 immergée pendant trois mois.....	79
<b>Fig.III.27.</b> Spectre IRTF des lipides membranaires de BSR1 (région des $(4000\text{ cm}^{-1} - 500\text{ cm}^{-1})$ ).....	81
<b>Fig.III.28.</b> Spectre IRTF de l'extrait de BSR1 (région des $(4000-500\text{ cm}^{-1})$ ).....	82
<b>Fig.III.29.</b> Aspect des erlens contenant les éprouvettes d'acier immergées dans le milieu API: (a) milieu avant inoculation de BSR (b) et milieu après inoculation de BSR.....	83
<b>Fig.III.30.</b> Evolution du pH (a), de la conductivité (b) et de la salinité (c) des différentes cultures de BSR, au cours du temps.....	84
<b>Fig.III.31.</b> Evolution de la teneur en $\text{H}_2\text{S}$ des différentes cultures de BSR, au cours du temps.....	86
<b>Fig.III.32.</b> Micrographies des biofilms de BSR1 de trois mois formés sur les éprouvettes d'acier ; non traitée (à gauche) et traitée par plasma d'oxygène (à droite).....	87
<b>Fig.III.33.</b> Micrographies des biofilms du consortium de BSR de trois mois formés sur les éprouvettes d'acier ; non traitée (à gauche) et traitée par plasma d'oxygène (à droite).....	88
<b>Fig.III.34.</b> Micrographies électroniques des biofilms de BSR1 formés sur les surfaces des éprouvettes d'acier en fonction du temps.....	90
<b>Fig.III.35.</b> Micrographies électroniques des biofilms du consortium de BSR formés sur les surfaces des éprouvettes d'acier en fonction du temps.....	93
<b>Fig.III.36.</b> Micrographies avec microanalyse EDS (Intensité en fonction de l'énergie en KeV) à différents endroits des biofilms de BSR1 formés sur les éprouvettes d'acier...	95
<b>Fig.III.37.</b> Diffractogrammes des biofilms de BSR 1 de deux (a), cinq (b), six (c) et sept (07) mois d'immersion dans le milieu API, sur une éprouvette d'acier API 5L X52.....	97
<b>Fig.III.38.</b> Evolution de la teneur en fer dissous des différentes cultures de BSR au cours du temps.....	100
<b>Fig.III.39.</b> Evolution du poids des biofilms de BSR 1 et du consortium de BSR par unité de surface d'acier au cours du temps.....	101
<b>Fig.III.40.</b> Evolution de la perte de poids des éprouvettes d'acier traitées et non traitées dans les cultures mixtes (a) et dans les cultures pures (b) au cours du temps.....	101
<b>Fig.III.41.</b> Evolution de la densité des piqûres des éprouvettes d'acier traitées et non traitées dans les cultures mixtes (a) et dans les cultures pures (b) au cours du temps.....	103
<b>Fig.III.42.</b> Micrographies des piqûres de biocorrosion sur les éprouvettes d'acier avant (a) et après polissage (éprouvette traitée par plasma) (b).....	104
<b>Fig.III.43.</b> Microanalyse EDS (Intensité en fonction de l'énergie en KeV) des piqûres de biocorrosion après décapage du biofilm de BSR de la surface de l'éprouvette d'acier.....	105

# Liste des tableaux

<b>Tableau I.1.</b> Classification des bactéries sulfatoréductrices les plus représentatives.....	9
<b>Tableau.I.2.</b> Historique de la technologie d'implantation d'ions.....	26
<b>Tableau II.1.</b> Composition chimique du milieu API.....	47
<b>Tableau II.2.</b> Composition chimique du milieu Postgate B thiosulfate.....	47
<b>Tableau.III.1.</b> Composition en % de l'acier donnée par fluorescence des rayons X avant et après traitement par plasma d'oxygène.....	64
<b>Tableau.III.2.</b> Résultats des essais de résistance sur les différentes éprouvettes d'acier.....	68
<b>Tableau.III.3.</b> Paramètres électrochimiques relevés des tracés du potentiel à l'abandon des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène, immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.....	69
<b>Tableau.III.4.</b> Paramètres électrochimiques relevés des tracés de la résistance de polarisation des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène, immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.....	70
<b>Tableau III.5.</b> Paramètres électrochimiques relevés des tracés des droites de Tafel, des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène, immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.....	71
<b>Tableau III.6.</b> Paramètres électrochimiques relevés des tracés d'Impédance électrochimique des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène, immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl. ....	71
<b>Tableau III.7.</b> Caractérisation des colonies du consortium de BSR.....	73
<b>Tableau.III.8.</b> Résultats des tests physiologiques de la température, du pH et de la salinité faits sur BSR 1.....	80
<b>Tableau III.9.</b> Résultats de mesure des différents paramètres métaboliques de l'immersion « blanc ».....	84
<b>Tableau III.10.</b> Résultats du dénombrement des BSR planctoniques et sessiles, des différentes cultures au cours du temps.....	87

# SOMMAIRE

Dédicaces.....	i
Remerciements.....	ii
Liste des abréviations et sigles.....	iv
Liste des figures.....	vi
Liste des tableaux.....	ix
<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>01</b>
<b>I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
I.1. LA CORROSION.....	03
I.1.1. Définition et importance de la corrosion.....	03
I.1.2. Facteurs de la corrosion.....	03
I.1.3. Différents types de la corrosion.....	03
I.1.4. Concept de lutte contre la corrosion.....	04
I.2. LA BIOCORROSION (CORROSION INFLUENCEE MICROBIOLOGIQUEMENT)...	05
I.2.1. Historique.....	05
I.2.2. Définition.....	05
I.2.3. Microorganismes de corrosion.....	06
I.2.3.1. Les bactéries sulfato réductrices.....	06
I.2.3.2. Les bactéries thiosulfato réductrices.....	06
I.2.3.3. Les bactéries réductrices des nitrates.....	07
I.2.3.4. Les bactéries productrices de méthane.....	07
I.2.3.5. Les bactéries productrices d'acides organiques.....	07
I.2.3.6. Les bactéries oxydantes du sulfure.....	07
I.2.3.7. Les bactéries oxydantes du fer.....	07
I.2.3.8. Les bactéries réductrices des métaux (des oxydes de fer).....	07
I.2.3.9. Les fungi.....	08
I.2.4. Bactéries Sulfato Réductrices.....	08
I.2.4.1. Classification phylogénétique du groupe des BSR.....	08
I.2.4.1.1. Les BSR Gram négatif mésophiles.....	09
I.2.4.1.2. Les BSR Gram positif formatrices de spores.....	10
I.2.4.1.3. Les BSR thermophiles bacteria.....	10
I.2.4.1.4. Les BSR thermophiles archaé.....	10
I.2.4.2. Métabolisme des BSR.....	11
I.2.4.2.1. Caractéristiques métaboliques des BSR.....	11
I.2.4.2.2. Les BSR et l'oxygène.....	12
I.2.4.2.3. Métabolisme du sulfate.....	13
I.2.4.2.4. Transport des électrons.....	15
I.2.5. Mécanisme de la corrosion influencée par les micro-organismes.....	16
I.2.5.1. Mécanismes de la corrosion.....	16
I.2.5.2. Mécanismes de la corrosion bactérienne.....	17
I.2.5.2.1. Dépolarisation cathodique.....	17

I.2.5.2.2. Dépolarisation anodique.....	17
I.2.5.2.3. Acidification locale du milieu.....	17
I.2.5.2.4. Production de métabolites corrosifs.....	18
I.2.5.2.5. Aération différentielle.....	18
I.2.5.2.6. Modification d'inhibiteurs ou de revêtements protecteurs.....	19
I.2.6. Biofilms et biocorrosion.....	21
I.2.6.1. Définition.....	21
I.2.6.2. Formation du biofilm.....	21
I.2.6.3. Facteurs impliqués dans la formation du biofilm.....	22
I.2.6.4. Action du biofilm.....	22
I.2.6.5. Moyens d'études du biofilm.....	23
I.2.7. Lutte contre la biocorrosion.....	24
I.3. TRAITEMENT DE SURFACE PAR IMPLANTATION D'IONS.....	25
I.3.1. Historique.....	26
I.3.2. Description du procédé d'implantation d'ions par source plasma.....	26
I.3.2.1. Définition et principe.....	26
I.3.2.2. Fonctionnement d'un implanteur d'ions.....	27
I.3.3. Domaines d'application.....	28
I.3.3.1. Application dans le dopage des semi conducteurs.....	28
I.3.3.2. Application dans le domaine mécanique et métallurgique.....	28
I.3.3.3. Application dans le domaine biomédical.....	29
I.3.4. Description des principaux mécanismes consécutifs à l'implantation d'ions et leurs effets sur le matériau traité.....	29
I.3.4.1. Mécanismes liés à l'implantation d'ions.....	29
I.3.4.2. Effets relatifs à l'implantation d'ions sur l'état de surface du matériau traité.....	32
I.3.5. Incidence du traitement par implantation d'ions sur les propriétés des matériaux.....	33
I.3.5.1. Résistance au frottement et à l'usure.....	33
I.3.5.2. Tenue à la fatigue et à la fatigue corrosion.....	33
I.3.5.3. Tenue à la corrosion.....	34
I.3.6. Avantages et inconvénients de l'implantation d'ions.....	34
I.3.6.1. Avantages de l'implantation d'ions.....	34
I.3.6.2. Inconvénients de l'implantation d'ions.....	35

## II. METHODOLOGIE EXPERIMENTALE

II.1. Traitement de surface par plasma d'oxygène et caractérisation des éprouvettes d'acier.....	36
II.1.1. Préparation des éprouvettes d'acier.....	36
II.1.1.1. Surfaçage, découpage et perçement.....	36
II.1.1.2. Préparation de surface des éprouvettes d'acier par polissage.....	36
II.1.2. Caractérisation des éprouvettes d'acier avant et après traitement de surface.....	37
II.1.2.1. Observation au microscope métallographique.....	37
II.1.2.2. Observation au microscope électronique à balayage avec analyse EDS.....	37
II.1.2.3. Analyse par fluorescence des rayons X.....	37
II.1.2.4. Analyse par diffraction des rayons X.....	37

II.1.2.5. Analyse de la microstructure de l'acier API 5L X52 par attaque chimique.....	38
II.1.2.6. Mesure de la microdureté.....	38
II.1.3. Traitement des éprouvettes d'acier dans un plasma d'oxygène.....	38
II.1.3.1. Définition d'un plasma.....	38
II.1.3.2. Description du dispositif expérimental et conduite de traitement de surface.....	39
II.1.4. Evaluation du traitement de surface par plasma d'oxygène.....	40
II.1.4.1. Essai de résistance des aciers à la corrosion par piqûres.....	40
II.1.4.2. Essais de corrosion par les méthodes de mesure électrochimiques.....	40
II.1.4.2.1. Préparation des électrodes de travail et du milieu corrosif.....	40
II.1.4.2.2. Montage de la chaîne électrochimique utilisée.....	41
II.1.4.2.3. Potentiel de corrosion à l'abandon.....	42
II.1.4.2.4. Mesure de la résistance de polarisation.....	43
II.1.4.2.5. Extrapolation des droites de Tafel.....	43
II.1.4.2.6. Méthode de la spectroscopie d'impédance électrochimique.....	45
II.2. Caractérisation du consortium de BSR et de la souche pure de BSR.....	46
II.2.1. Préparation des milieux de culture spécifiques aux BSR.....	46
II.2.2. Prélèvement et conditions de culture des BSR.....	47
II.2.3. Culture, dénombrement, purification et conservation des BSR.....	48
II.2.3.1. Culture et dénombrement en milieu liquide.....	48
II.2.3.2. Culture et purification sur milieu solide.....	49
II.2.3.3. Conservation des BSR.....	49
II.2.4. Caractérisation phénotypique du consortium de BSR et de la souche purifiée.....	49
II.2.4.1. Etude morphologique.....	49
II.2.4.1.1. Etude macroscopique.....	49
II.2.4.1.2. Etude microscopique.....	49
II.2.4.2. Tests de différenciation.....	50
II.2.4.2.1. Coloration de Gram.....	50
II.2.4.2.2. Test de formation de spores.....	50
II.2.4.2.3. Test de la Désulfovirdine.....	51
II.2.4.3. Tests biochimiques.....	51
II.2.4.3.1. Test du type respiratoire.....	51
II.2.4.3.2. Test de production des sulfures métalliques.....	51
II.2.4.3.3. Test de production de gaz.....	52
II.2.4.3.4. Test d'utilisation des thiosulfates comme accepteur final d'électrons.....	52
II.2.4.4. Tests physiologiques.....	52
II.2.4.5. Analyse par Spectroscopie Infra Rouge de Transformée de Fourier.....	53
II.2.4.5.1. Analyse des lipides membranaires des BSR.....	53
II.2.4.5.2. Analyse de la culture de BSR par IRTF.....	54
II.3. Etude de la biocorrosion des éprouvettes d'acier en cultures en batch pures et mixtes.....	55
II.3.1. Conduite des essais d'immersion des éprouvettes d'acier.....	55
II.3.2. Mesures des paramètres métaboliques des cultures.....	55
II.3.2.1. Dénombrement des BSR planctoniques et sessiles.....	55
II.3.2.2. Mesure du pH, de la conductivité et de la salinité.....	56
II.3.2.3. Dosage du fer dissous.....	56

II.3.2.4. Dosage des sulfures.....	56
II.3.3. Etude du biofilm bactérien formé à la surface des éprouvettes d'acier.....	56
II.3.3.1. Evaluation du poids des biofilms.....	56
II.3.3.2. Analyse par diffraction des rayons X.....	56
II.3.3.3. Observation au Microscope Electronique à Balayage avec analyse EDS.....	57
II.3.4. Evaluation de la corrosion par piqûres des éprouvettes d'acier traitées et non traitées.....	57
II.3.4.1. Décapage du biofilm bactérien et évaluation de la perte de poids.....	57
II.3.4.2. Observation au microscope métallographique et au MEB des piqûres de corrosion et évaluation de la densité de piquration.....	57

### III. RESULTATS ET INTERPRETATIONS

III.1. Traitement de surface des éprouvettes d'acier et caractérisation.....	58
III.1.1. Traitement de surface par plasma d'oxygène.....	58
III.1.2. Caractérisation des éprouvettes d'acier avant et après traitement par plasma d'oxygène.....	60
III.1.2.1. Analyse de la microstructure de l'acier API 5L X52 par attaque chimique.....	60
III.1.2.2. Caractérisation au microscope métallographique.....	61
III.1.2.3. Caractérisation au MEB avec analyse EDS.....	62
III.1.2.4. Caractérisation par fluorescence des rayons X.....	64
III.1.2.5. Caractérisation par diffraction des rayons X.....	65
III.1.2.6. Détermination de l'épaisseur de la couche implantée.....	66
III.1.2.7. Mesure de la microdureté.....	66
III.1.3. Evaluation du traitement de surface par plasma d'oxygène.....	68
III.1.3.1. Essai de résistance des éprouvettes d'acier traitées et non traitées.....	68
III.1.3.2. Essais électrochimiques.....	69
III.1.3.2.1. Potentiel de corrosion à l'abandon.....	69
III.1.3.2.2. Résistance de polarisation linéaire.....	70
III.1.3.2.3. Tracés des droites de Tafel.....	70
III.1.3.2.4. Spectroscopie d'impédance électrochimique.....	71
III.2. Etude et caractérisation des BSR.....	73
III.2.1. Caractérisation du consortium de BSR.....	73
III.2.1.1. Caractérisation morphologique et de différenciation.....	73
III.2.1.2. Caractéristiques biochimiques.....	77
III.2.2. Caractérisation de la souche BSR 1.....	78
III.2.2.1. Caractérisation morphologique et de différenciation.....	78
III.2.2.2. Caractéristiques biochimiques.....	80
III.2.2.3. Caractéristiques physiologiques.....	80
III.2.2.4. Analyse des lipides membranaires par IRTF.....	81
III.2.2.5. Spectre IRTF de la BSR 1.....	81
III.3. Etude de la biocorrosion des éprouvettes d'acier traitées et non traitées en cultures batch pures et mixtes.....	83
III.3.1. Suivi des paramètres métaboliques des cultures de BSR au cours du temps.....	83

III.3.1.1. Paramètres métaboliques du témoin.....	83
III.3.1.2. Evolution du pH, de la salinité et de la conductivité.....	84
III.3.1.3. Evolution de la concentration en sulfure d'hydrogène.....	85
III.3.1.4. Evolution du nombre des BSR planctoniques et sessiles.....	86
III.3.2. Etude de la formation des biofilms du consortium de BSR et de BSR 1 par MEB.....	87
III.3.2.1. Etude de la formation des biofilms en fonction du type d'éprouvette d'acier.....	87
III.3.2.2. Etude de la formation des biofilms en fonction du temps.....	89
III.3.3. Etude des produits de corrosion (biofilms) par microanalyse EDS.....	95
III.3.4. Etude des produits de corrosion (biofilms) par diffraction des rayons X.....	96
III.3.5. Evaluation de la biocorrosion.....	100
III.3.5.1. Evolution de la concentration en Fe <sup>2+</sup> en fonction du temps.....	100
III.3.5.2. Evolution du poids des biofilms en fonction du temps.....	100
III.3.5.3. Evaluation de la perte de poids des éprouvettes d'acier en fonction du temps...	101
III.3.5.4. Evaluation de la densité des piqûres des éprouvettes d'acier en fonction du temps.....	102
III.3.5.5. Observations microscopiques et analyse EDS des piqûres.....	104
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>106</b>
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	108
ANNEXES.....	120
GLOSSAIRES.....	143



# ***Introduction générale***

### INTRODUCTION GENERALE

Les dégâts causés par la corrosion sont énormes et ont un coût financier, environnemental et humain particulièrement élevé. D'un point de vue économique, on estime que le quart de la production d'acier est détruit en service par la corrosion et il est admis que 20 % de celle-ci est endommagée chaque année par la corrosion (**Sarrazin & al., 2000**). Parmi les divers processus de corrosion, la biodétérioration des matériaux métalliques a un coût estimé entre 5 et 10 % de l'ensemble des dégâts causés par la corrosion en général, ce qui correspond à une perte mondiale de 5 tonnes d'acier par seconde (**Normand & al., 2004**).

Dans l'industrie pétrolière, l'acier au carbone est d'utilisation courante pour injecter de l'eau, et les eaux de gisement sont rarement stériles et contiennent généralement une flore bactérienne diversifiée (**Magot & al., 1997**). L'activité bactérienne est connue pour causer de nombreux désagréments en exploration-production ; on peut citer notamment la sulfuration des gisements, la biodégradation du brut et la corrosion bactérienne (**Magot & al., 1993**). Les installations métalliques de surface et les canalisations font face aux problèmes causés par les microorganismes, et de multiples cas de Corrosion Influencée Microbiologiquement (C.I.M) ont été répertoriés faisant intervenir une large variété de bactéries. Vu leurs effets préjudiciables, les Bactéries Sulfato Réductrices (BSR) représentent le groupe le plus communément étudié. La présence des BSR dans les environnements pétroliers était détectée en 1926, et était rapidement reconnue comme source de production de sulfure d'hydrogène corrosif, induisant ainsi l'acidification des réservoirs, la contamination du pétrole et du gaz naturel, la corrosion des surfaces métalliques et l'obturation des réservoirs due à la précipitation des sulfures métalliques qui causent la réduction de récupération du pétrole. La première étape de la biocorrosion consiste en la formation d'un biofilm d'aspect gélatineux sur la surface métallique. Ce biofilm est formé par les cellules bactériennes et leurs Substances Extra Polymériques (S.E.P). La corrosion bactérienne des aciers au carbone peut apparaître selon les cas en quelques mois ou en quelques années. Elle s'effectue soit par une piquuration soit sous forme de tunnels (**Bethencourt & al., 2006; Feugeas & al., 1997**). Les bases fondamentales des phénomènes d'initiation de la biodétérioration des matériaux métalliques sont encore mal connues à ce jour. Cependant, il a été montré que les biofilms influent les interactions physicochimiques à l'interface milieu/matériau et favorisent ainsi la biodétérioration des matériaux (**Boudaud & al., 2005**).

L'analyse des phénomènes de corrosion, complexes pour la plupart, présente un caractère pluridisciplinaire puisqu'elle demande des connaissances en métallurgie, en électrochimie, en thermodynamique et cinétique chimique, en chimie, en biologie et physique du solide, et implique l'utilisation de méthodes de caractérisation des surfaces. Etant donné la complexité et la diversité des phénomènes et des interactions qui régissent la corrosion, toute action visant la mise au point des moyens et méthodes de lutte; ne peut s'inscrire que dans le cadre d'une action scientifique et technique polyvalente, et ne peut donc se réaliser sans faire appel à la recherche scientifique aussi bien fondamentale qu'appliquée. Actuellement, les traitements les plus utilisés prennent en compte la nature de l'installation, ainsi que l'origine de l'eau et ses propriétés physico chimiques et microbiologiques. Ces traitements sont soit de nature physique (décantation, filtration, chauffage, revêtements) ou chimique (injection de biocides pour lutter contre la biocorrosion) (**Sarrazin & al., 2000**).

Si la protection des surfaces externes des constructions métalliques contre la corrosion paraît relativement simple, par l'application de revêtements appropriés, celle des surfaces internes est plus difficile à mettre en œuvre. La protection par traitement de surface semble être une voie nouvelle à explorer, d'autant plus que ces traitements connaissent aujourd'hui un engouement de plus en plus marqué et ont largement fait leurs preuves dans plusieurs domaines tels que la microélectronique, le biomédical, l'aéronautique, la mécanique et la métallurgie (**Tomasini, 2001**).

Notre étude consiste en une contribution à la compréhension du comportement des aciers au carbone vis-à-vis de la corrosion en milieu bactérien, et à l'étude de l'impact d'un traitement de surface par plasma d'oxygène.

La première partie de cette étude est consacrée à la description du processus de traitement de surface par plasma d'oxygène appliqué sur l'acier au carbone de nuance API 5L X52. Afin de déduire l'effet du traitement sur les propriétés microstructurales, chimiques et mécaniques de l'acier, le dépôt résultant est caractérisé par diverses méthodes, à savoir la microscopie (microscopie optique et électronique avec analyse par Spectrométrie par Dispersion d'Énergie de Rayons X: EDS), la caractérisation physico-chimique (fluorescence des rayons X, diffraction des rayons X et essais de microdureté). Dans le but de vérifier l'efficacité du dépôt produit, les aciers traités et non traités par plasma d'oxygène, font l'objet des essais de résistance à la corrosion par piqûres dans une solution de  $\text{FeCl}_3$ , et des essais électrochimiques de corrosion.

Dans la deuxième partie, des méthodes biologiques de prélèvement, de culture, de purification et de dénombrement, ainsi qu'une caractérisation phénotypique des bactéries corrosives (BSR) sont réalisées. La caractérisation phénotypique comprend une étude morphologique, des tests de différenciation, des tests biochimiques et des tests physiologiques ainsi qu'une étude chimique. Ces études sont faites sur un consortium de BSR ainsi que sur une souche pure de BSR.

La troisième partie, consiste à étudier le comportement de l'acier traité et non traité par plasma d'oxygène, vis-à-vis de la corrosion bactérienne et de comparer l'effet des différentes cultures sur l'acier. Des essais d'immersion en batch des aciers, en cultures pures et en cultures mixtes de BSR sont réalisés. Les méthodes d'évaluation de la corrosion par piqûres induite par les BSR, consistent en un dosage des ions ferreux, une évaluation de la perte de poids des éprouvettes d'acier, et une observation microscopique de leurs surfaces, suivie d'une détermination du pourcentage de piqûres. Les paramètres métaboliques des différentes cultures sont suivis au cours du temps, et des études topologiques et chimiques sont faites en parallèle sur les biofilms de BSR après différents temps d'immersion, afin de suivre leur mode de formation et de comparer leur composition avec le temps.

Le présent mémoire comporte trois chapitres. Dans le premier chapitre, une revue bibliographique sur la corrosion, la biocorrosion et l'implantation ionique est présentée. Le deuxième chapitre porte sur les méthodes expérimentales adoptées, et le troisième chapitre présente les résultats expérimentaux obtenus et leurs interprétations.

# ***Chapitre I***

## ***Etude bibliographique***

# ***Corrosion***

### **I.1. LA CORROSION**

#### I.1.1. Définition et importance de la corrosion

Les métaux se dégradent sous l'effet de trois causes principales : l'usure, la fatigue et surtout la corrosion. Si l'usure et la fatigue sont d'origine mécanique, la corrosion est d'origine chimique ou électrochimique. La détérioration due aux causes physiques n'est pas appelée corrosion, mais est nommée érosion, frottement avec arrachement ou encore usure. Dans certains cas, l'attaque chimique s'accompagne de modifications physiques connues sous les noms d'érosion-corrosion, d'usure-corrosion, ou de fatigue-corrosion (**Uhlig, 1970**).

Du point de vue étymologique, le terme « corrosion » vient du mot latin « corroder » qui signifie ronger, attaquer. La corrosion est définie comme une interaction physicochimique entre un métal et son environnement entraînant des modifications dans les propriétés du métal et une dégradation fonctionnelle du métal et de son environnement. C'est une attaque destructive, lente et progressive d'un métal ou d'un alliage à cause d'une réaction chimique ou électrochimique avec le milieu environnant : atmosphère, eau, sol et humidité. Elle se traduit généralement par une altération de la surface du métal. Le terme corrosion est aussi employé quelquefois pour désigner la dissolution de métaux dans un liquide ou dans des solvants organiques (**Orlowski, 1973**).

C'est grâce à l'étude des phénomènes de corrosion que furent élaborés de nouveaux types d'alliages métalliques et que furent développés des moyens de protection par revêtements, métalliques ou non, par inhibition du milieu, ou encore par action cathodique ou anodique. Ces phénomènes de corrosion peuvent être de nature chimique, électrochimique, métallurgique ou structurale, mécanique, biologique (biocorrosion). Généralement, ce n'est pas un seul facteur mais plusieurs qui interviennent, notamment le facteur chimique qui est presque toujours lié au facteur électrochimique (**Orlowski, 1973**). Depuis que la corrosion implique un changement chimique et en raison de l'importance des dommages causés par ce dernier, il est indispensable d'avoir un minimum de connaissances des phénomènes de corrosion et des moyens de lutte contre ce fléau mondial dans toutes les branches industrielles, aussi bien à l'échelon artisanal qu'à celui du bureau d'études ou du service entretien des sociétés industrielles (**Uhlig, 1970**).

#### I.1.2. Facteurs de la corrosion

La tenue à la corrosion d'un matériau est conditionnée par le comportement du système matériau/surface/milieu. Toute modification du potentiel électrique de l'un des trois éléments du système, va provoquer un changement du potentiel du système qui conditionnera la forme de la corrosion (**Beranger & Mazille., 2004**). De ce fait, les facteurs de la corrosion se divisent en :

- facteurs liés au matériau et à la surface, à savoir ; la composition du matériau, sa structure cristallographique et sa surface.
- Facteurs liés au milieu, à savoir ; teneur en oxygène, acidité ou basicité du milieu, présence d'agents dépassivants (halogénures), de complexants et de bactéries, température, contraintes statiques ou dynamiques et les irradiations (cas de l'industrie électronucléaire).

#### I.1.3. Différents types de la corrosion

Il existe deux catégories de corrosion; la corrosion sèche et la corrosion humide. La première se traduit par une attaque du métal par une seule réaction chimique avec le

milieu ambiant absolument sec, alors que la deuxième est de nature électrochimique ; caractérisée par l'apparition de courant électrique (**Orlowski, 1973**). Les auteurs classent la corrosion en différents types selon la forme d'attaque :

- corrosion uniforme : l'attaque est uniforme ainsi que la perte de matière (dissolution) sur toute la surface et la vitesse s'exprime en mm/an de perte d'épaisseur (**Cunat, 2004**).
- Corrosion localisée : elle se présente sous différentes formes ; corrosion par piqûres où se figurent des trous plus ou moins hémisphériques distribués aléatoirement ; corrosion sous dépôt (caverneuse) due à la présence de dépôts se formant durant l'utilisation ou des espaces confinés conditionnant l'accessibilité de l'oxygène entre deux parties de la structure ; corrosion intergranulaire où une dissolution préférentielle aux environs immédiats des joints de jonction des grains du métal, détruit progressivement la cohésion du matériau ; corrosion sous contrainte (ou sous tension) qui est une fissuration du métal résultant de l'action commune d'une contrainte mécanique et une réaction électrochimique (**Cunat, 2004**).
- Types particuliers de corrosion localisée : dans ce type est classée la corrosion galvanique qui se manifeste par une pile électrochimique, se produisant entre deux métaux différents reliés électriquement et plongés dans un même milieu, seul le moins noble (actif) est dissous. Ainsi, on peut citer la fatigue corrosion, qui résulte de l'influence simultanée de contraintes répétées et d'un milieu corrosif, d'où une fissuration va se développer, et l'érosion corrosion, qui est due à l'action conjointe d'une réaction électrochimique et d'un enlèvement mécanique de matière, souvent lié aux écoulements rapides des fluides (**Cunat, 2004**).

### I.1.4. Concept de lutte contre la corrosion

La lutte contre les problèmes de la corrosion, est importante à plusieurs niveaux (**Landolt, 1993**) :

- le choix des matériaux ; choisir les matériaux les plus stables pour éviter les micropiles.
- La conception en évitant les interstices et les couples galvaniques par isolement électrique des métaux.
- L'action sur le milieu par addition d'inhibiteurs de corrosion ou injection de biocides.
- Les revêtements, qui doivent être continus et adhérent à la surface, on en distingue :
  - ❖ revêtement de surface par voie humide, incluant :
    - revêtements métalliques anodiques ou cathodiques;
    - revêtements non-métalliques ; inorganiques et organiques ;
    - revêtements chimiques à caractère anodique ou cathodique, qui modifient chimiquement la surface des métaux (phosphatation et oxydation).
  - ❖ revêtement de surface par voie sèche, renfermant :
    - revêtements CVD (Chemical Vapor Deposition) ; reposant sur une réaction spontanée de déplacement ou d'oxydoréduction en phase vapeur, l'exemple de la PACVD (dépôts chimiques en phase vapeur assistés par plasma : Plasma Assisted Chemical Vapor Deposition) ;
    - revêtements PVD (Physical Vapor Deposition) ; s'effectuant à pression réduite où est provoquée la sublimation du matériau protecteur par un mode de chauffage appropriée et selon le mode d'évaporation, on distingue la métallisation sous vide, le placage ionique, les méthodes à arc et la pulvérisation cathodique (**Schmidt, 1999**). Dans cette dernière catégorie, se présente le traitement par implantation d'ions, où la pièce à traiter est bombardée par des espèces ioniques issues d'un plasma crée sous vide.
- La protection électrochimique; anodique (applicable uniquement sur les métaux passivables), et cathodique (le métal à protéger devient une cathode).



***Corrosion  
Influencée  
Microbiologiquement  
(C.I.M)***

### I.2. LA CORROSION INFLUENCEE MICROBIOLOGIQUEMENT (LA BIOCORROSION)

L'activité des bactéries dans l'environnement est des plus diverses. Mieux connue à travers les substances organiques biodégradables, elle peut encore se manifester sur des produits inertes : matériaux de construction et métaux pour lesquels de nombreuses observations ont donné naissance au concept de la « corrosion biologique » (**Leclerc, 1974**).

#### I.2.1. Historique

L'hypothèse que les microorganismes peuvent intervenir dans la corrosion des métaux est d'abord émise par Garret en 1891 (**Garret, 1891**). Un peu plus tard, Gaines (**Gaines, 1910**) discute le rôle des bactéries sulfato-réductrices (BSR), des bactéries oxydantes du soufre et des bactéries ferrugineuses au cours de ce phénomène. Par la suite, les travaux de Von Wolzogen Kuhr qui datent de 1923 (**Von Wolzogen Kuhr, 1923**) proposent une véritable théorie biologique de la corrosion, basée sur l'intervention des germes sulfato-réducteurs dans la corrosion du fer en milieu anaérobie. La présence des bactéries sulfato-réductrices dans les environnements pétroliers a été détectée en 1962 (**Bastin, 1926**) et a été rapidement classée comme responsable de plusieurs problèmes environnementaux et économiques concernant l'acidification des réservoirs, contamination du pétrole et du gaz naturel, corrosion des surfaces métalliques et tamponnement des réservoirs par précipitation des sulfures métalliques et la réduction conséquente de la récupération d'huile (**Magot & al., 2000 ; Davidova & al., 2001**). En 1934, Von Wolzogen Kuhr et Van Der Vlugt (**Von Wolzogen Kuhr & al., 1934**) parlèrent de dépolarisation cathodique comme élément déterminant de ce phénomène et depuis, une multitude de références bibliographiques correspondent à des cas industriels de corrosion biochimique sont apparues (**Neveux, 1968**). Dans une revue générale du problème, Postgate (**Postgate, 1960**) fait le point des travaux décrits jusqu'à 1960 et discute en particulier la théorie de Von Wolzogen Kuhr. La première bactérie sulfato-réductrice *Desulfovibrio desulfuricans* a été découverte par Beijerinck en 1895 et qui reste probablement la plus grande connue de BSR isolées à partir des eaux industrielles (**Beijerinck, 1895**).

En 1981, Tatnall écrivait « le plus grand problème aujourd'hui est que de nombreux ingénieurs en corrosion n'admettent pas le rôle des bactéries dans la corrosion et que ceux qui l'acceptent ne savent pas comment en traiter les symptômes » (**Haslay & Leclerc., 1993**). La littérature fait état de plusieurs cas de corrosion spectaculaire. En 1972, une étude estimait que les dépenses engendrées par la corrosion des canalisations enterrées aux Etats Unies étaient de l'ordre de 500 à 2000 millions de dollars par an, dont 20 à 50 % pourraient être attribués aux microorganismes (**Iverson, 1972**). Total-France rapporte le cas de plusieurs remplacements de tuyauterie pour éviter le percement d'un oléoduc reliant la raffinerie de Provence au port pétrolier de Lavéra (**Peyrot, 1990**).

En 1989, un cas foudroyant de corrosion bactérienne a été observé au Congo sur un oléoduc sous-marin en acier au carbone. L'étude de ce cas montra rapidement qu'à coté des BSR, le fluide contenait également un grand nombre de diverses bactéries thiosulfato- réductrices avec une vitesse de corrosion de 1 cm/an (**Beech, 1999**).

#### I.2.2. Définition

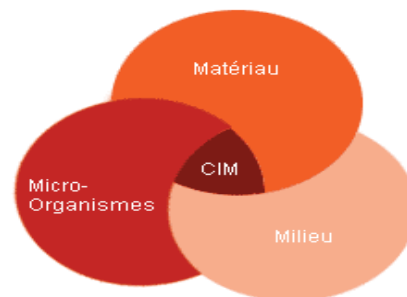
La biocorrosion, appelée encore corrosion bactérienne ou Corrosion Influencée Microbiologiquement (C.I.M), rassemble tous les phénomènes de corrosion dans

lesquels les bactéries agissent directement ou par l'intermédiaire de leur activité métabolique en jouant un rôle primordial, soit en accélèrent un processus déjà établi, soit en créant les conditions favorables à son établissement (**Uhlig, 1948 ; Chantereau, 1980**). Il s'agit d'un phénomène électrochimique de dissolution d'un métal en contact avec une phase aqueuse.

La biocorrosion touche tous les secteurs d'activité où peuvent se développer des microorganismes et notamment des bactéries, soit en aérobiose ou en anaérobiose. Les installations industrielles susceptibles de se faire endommager par la biocorrosion sont nombreuses : système de transport des eaux brutes et de servitude, échangeurs de chaleur, circuits anti incendie, l'industrie chimique, nucléaire, marine, agro alimentaire, du papier, les installations électriques, les raffineries et l'industrie pétrolière et gazière (**Crum, 1991 ; Kobrin, 1993 ; Noel, 1995**). La corrosion bactérienne atteint tout type de matériaux : métaux, alliages, polymères, bétons, pierres, verres. La première étape de la biocorrosion consiste obligatoirement en la formation d'un biofilm d'aspect gélatineux sur la surface métallique (**Normand & al., 2004**).

La biocorrosion résulte de la conjugaison défavorable de trois facteurs (**Beranger & al., 2002**), la figure.I.1 schématise cette interaction (**Normand & al., 2004**) :

1. Un milieu aqueux, généralement jugé peu agressif.
2. Un matériau réputé compatible avec les conditions d'exposition.
3. Des microorganismes dont la présence est inattendue.



**Fig.I.1.** Interaction matériau -milieu- micro-organismes (**Normand & al., 2004**).

### I.2.3. Microorganismes de corrosion

#### I.2.3.1. Les bactéries sulfato réductrices (BSR)

Les BSR sont rencontrées dans les eaux douces et salées, particulièrement dans les sédiments de fond (milieux anoxiques), dans les circuits de refroidissement d'eau désaérée ou des canalisations de transport du pétrole (**Cabridenc & al., 1974; Magot & al., 1993**). Elles utilisent le sulfate et les autres formes du soufre comme accepteurs d'électrons (**Schmidt, 1999**), leur taille varie de 1 à 5  $\mu\text{m}$  de long et de 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  d'épaisseur.

#### I.2.3.2. Les bactéries thiosulfato réductrices

Ce sont des anaérobies à Gram négatif qui utilisent le thiosulfate comme accepteur final d'électrons et non le sulfate. Leur présence se partage entre les deux domaines Bacteria et Archea, ces bactéries sont ubiquitaires dans les champs pétroliers et d'autres écosystèmes (**Magot & al., 1997**). Il a été montré que les BTR sont 3 à 4 fois plus

corrosives et 10 fois plus rapides que les BSR dans les mêmes conditions (**Beech, 1999**).

### I.2.3.3. Les bactéries réductrices des nitrates

Ce sont des bactéries consommatrices de nitrates et dont certaines possèdent également la capacité d'oxyder les sulfures (**Ollivier, 2004**). Elles peuvent présenter un métabolisme aérobie ou anaérobie. Plusieurs cas de corrosion sous contrainte ont été attribués à l'ammoniaque produit par des bactéries dénitrifiantes (**Beranger & al., 2002**).

### I.2.3.4. Les bactéries productrices de méthane

Les méthanogènes sont très répandus dans la nature, et représentent le phylum le plus significatif et le plus ancien dans l'environnement. Ils sont responsables de la production de gaz des marais dans les eaux usées (**Leclerc, 1995**). Les méthanogènes sont des anaérobies stricts qui obtiennent l'énergie en convertissant le CO<sub>2</sub>, le formate et l'acétate en méthane (**Pelment, 1993**). Ces bactéries contribuent à la corrosion du fer doux en utilisant le fer élémentaire comme source d'électrons (**Prescott & al., 2003**).

### I.2.3.5. Les bactéries productrices d'acides organiques

Ce sont des bactéries fermentaires anaérobies strictes impliquées dans la corrosion du fer et alliages. Elles transforment la matière organique en acides organiques faibles, en créant ainsi une acidité locale extrêmement importante à l'interface métal/biofilm, ce qui induit à la formation de micropores persistantes sous les zones d'anaérobiose (**Beech, 1999**).

### I.2.3.6. Les bactéries oxydantes du sulfure

Ces bactéries autotrophes et acidophiles se développent en présence d'oxygène, en oxydant en sulfate, une variété de composés soufrés inorganiques : soufre élémentaire, sulfure d'hydrogène, thiosulfate, générant ainsi de l'acide sulfurique corrosif (**Prescott & al., 2003**). Ce sont des bactéries sulfureuses incolores, chimiolithotrophes utilisant les sels ammoniacaux comme source d'azote et le gaz carbonique comme source de carbone. Elles sont aéro-anaérobie facultatifs (**Buchman & al., 1994**).

### I.2.3.7. Les bactéries oxydantes du fer

Les ferrobactéries sont des microorganismes aérobies stricts, qui puisent leur énergie de l'oxydation du fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>) contenu dans les milieux aqueux en fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>), et de l'oxydation des ions manganoux (Mn<sup>2+</sup>) en ions manganiques (Mn<sup>4+</sup>). Ceci se traduit par la formation d'un dépôt gélatineux d'hydroxyde ferrique Fe(OH)<sub>3</sub> et de manganique sous lesquels se forme une zone d'anaérobiose. Elles n'ont pas besoin d'éléments organiques car elles peuvent utiliser le CO<sub>2</sub> dissous comme source carbonée (**Comité des techniciens IFP, 1973 ; Pelment, 1993**).

### I.2.3.8. Les bactéries réductrices des métaux (des oxydes de fer)

Ce sont des bactéries aérobies strictes, chimiorganotrophes, certaines sont chimiolithotrophes facultatifs capables d'utiliser l'hydrogène ou le CO<sub>2</sub> comme source d'énergie (**Buchman & al., 1994**). En aérobie, ces bactéries réduisent le Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup> et corrodent le métal dans des habitats naturels contenant des oxydes de fer (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), des oxydes de manganèse (MnO<sub>2</sub>) ou des hématites (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (**Guezennec & al., 1987**).

### I.2.3.9. Les fungi

Les champignons sont des producteurs d'acides organiques et ils sont, de ce fait, capables de contribuer à la corrosion. Beaucoup de travaux concernant la dégradation de l'aluminium et de ses alliages dans les réservoirs d'avions indiquent que la biocorrosion est ici associée à la contamination du kérosène par les champignons. Les grandes quantités d'acides organiques produites par ces champignons dissolvent le cuivre, le zinc et le fer des alliages d'aluminium aéronautiques, cela engendre une initiation de piqûres (**Videl & al., 1993**).

### I.2.4. Bactéries Sulfato Réductrices

Les BSR ont une implication évidente dans le cycle du sulfure et dans les phénomènes de biocorrosion. Elles sont d'importants régulateurs d'une variété de processus dans les sols marécageux contenant des matières organiques, dans la biodégradation de polluants aromatiques chloriques, et dans la méthylation (**Neveux & al., 1968 ; Andrew & al., 2000**).

#### I.2.4.1. Classification phylogénétique du groupe des BSR

La classification phylogénétique des BSR par l'analyse des séquences d'ARN<sub>r</sub> a de grands avantages dont ; la fourniture d'aperçus sur les origines évolutives de la réduction de sulfate des espèces éloignement alliées, ainsi que la facilité du développement de probes aux groupes phylogénétiques spécifiques, et des primaires de PCR pour les études écologiques (**Andrew & al., 2000**). La classification traditionnelle des BSR repose sur différentes propriétés, à savoir : forme des cellules, mobilité, pourcentage des bases CG de l'ADN, présence de desulfoviridine et des cytochromes, température optimale de croissance et l'oxydation complète ou incomplète de l'acétate. Pour la précision du genre, différents donneurs d'électrons sont testés. Les analyses des séquences d'ARN<sub>r</sub> ont permis l'organisation des diverses espèces de BSR en quatre groupes distincts, caractérisés tous par l'utilisation de sulfate comme accepteur final d'électrons dans le processus de respiration anaérobie (Tab.I.1).

Toutes les séquences reportées dans le tableau.I.1 ont été obtenues de la dernière version de Gen Bank qui a été initialement alignées par the Pileup fonction de GCG. Les alignements finaux sont construits par une inspection visuelle dans PAUP<sup>\*</sup> 4.0b2a (**Swofford, 1999**).

La classification détaillée des BSR isolées et identifiées est consignée en annexe n° 1.

**Tableau I.1.** Classification des bactéries sulfato réductrices les plus représentatives (Feugeas & al., 1997 ; Andrew & al., 2000).

Groupe de BSR	Forme	Mobilité	% CG d'ADN	Desulfoviridine	Cytochromes	Oxydation d'acétate	T optimale de croissance (°C)
BSR Gram négatif mésophiles							
<i>Desulfobulbus</i>	Citron/canne	-/+	59/60	-	b, c, c <sub>3</sub>	I <sup>a</sup>	25/40
<i>Desulfomicrobium</i>	Ovoïde/canne	+/-	52/67	-	b, c	I	25/40
<i>Desulfomonas</i>	Canne	-	66	+	c	I	30/40
<i>Desulfovibrio</i>	Spirale/vibron	+	49/66	+/-	c <sub>3</sub> , b, c	I	25/40
<i>Desulfobacter</i>	Oval/canne	+/-	44/46	-		C <sup>b</sup>	20/33
<i>Desulfobacterium</i>	Oval/canne	+/-	41/52	-	b, c	C	20/35
<i>Desulfococcus</i>	Sphérique/citron	-/+	46/57	+/-	b, c	C	28/35
<i>Desulfomonile</i>	Canne	-	49	+	c <sub>3</sub>	C	37
<i>Desulfonema</i>	Filaments	En vague	35/42	+/-	b, c	C	28/32
<i>Desulfosarcina</i>	Canne oval ou Coccoïde, amas	+/-	51	-	b, c	C	33
BSR Gram positif formatrices de spores (endospore-résistante à l'oxygène & à 80°C)	Canne droit à incurvés	+	48/52	-	b, c	I/C	majorité 25/4 minorité 40/6
<i>Desulfotomaculum</i>							
BSR thermophiles bacteria							
<i>Thermodesulfobacterium</i>	Vibroïde /canne	-/+	30/38	-	c <sub>3</sub> , c	I	65/70
BSR thermophiles archaea							
<i>Archaeoglobus</i>	Coccoïde	+/-	41/46	-	n.r. <sup>e</sup>	I	64/92

I<sup>a</sup> : incomplète, C<sup>b</sup> : complète, n.r.<sup>e</sup> : non reportée

### I.2.4.1.1. Les BSR Gram négatif mésophiles

Ce groupe est localisé à l'intérieur de l'entrée de la subdivision de Proteobacteria. Cette subdivision inclut comme bactéries réductrices de sulfure non BSR les genres : *Desulfurella*, *Desulfuromusa* et *Desulfuromonas*, *Myxobacteria* et *Bdellovibrio*, *Pelobacter* et *Geobacter*. A ce jour, pas de BSR Gram négatif qui réduisent le Fe(III) en Fe(II) capables de croître avec Fe(III) comme seul accepteur d'électrons (Lovley & al., 1993).

Deux familles de BSR ont été proposées dans la  $\beta$ - Proteobacteria : Desulfovibrionaceae et Desulfobacteriaceae. La famille de Desulfovibrionaceae inclut les genres *Desulfovibrio* et *Desulfomicrobium*. A noter qu'une reclassification est proposée pour *Desulfomonas pigra* à *Desulfivibrio piger* basée sur les analyses des séquences d'ARN<sub>r</sub> 16S. Deux nouveaux genres récemment décrits ; Desulfohalobium et Desulfonatronum présentent les caractéristiques de la famille de Desulfovibrionaceae, quoi qu'ils ne soient pas encore placés dedans. La famille Desulfobacteriaceae inclut les BSR appartenant à la subdivision Proteobacteria mais non à la famille Desulfovibrionaceae. Elle renferme les genres : *Desulfobulbus*, *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfomonile*, *Desulfonema*, *Desulfobotulus* et *Desulfoarculus*. Ces deux derniers genres ont été proposés récemment d'être reclassés dans le genre *Desulfovibrio*, mais à ce jour aucune publication officielle dans ce sens n'a été faite (Andrew & al., 2000). Des aspects morphologiques très intéressants de la famille Desulfovibrionaceae présentés par la formation d'amas, rencontrée chez *Desulfosarcina* ; ce qui fournit une protection contre les changements défavorables du potentiel redox environnemental. Ainsi, le mouvement en vague des filaments chez



Desulfonema qui permet aux cellules de se déplacer des gradients chimiques aux endroits riches de concentration favorable de nutriments. En plus, la formation de filaments par ces bactéries fournit une résistance contre la phagocytose par les ciliés et les amibes (**Widdel, 1988**).

### I.2.4.1.2. Les BSR Gram positif formatrices de spores

Ce groupe est dominé par le genre *Desulfotomaculum*, et est parmi les bactéries Gram positif à bas pourcentage GC. Il inclut uniquement les BSR connues par leurs endospores comme forme de résistance à la chaleur. Contrairement au premier groupe, quelques espèces de *Desulfotomaculum* sont thermophiles, quoique leur température optimale soit plus faible que celle des autres groupes. A ce jour, une seule famille de BSR Gram positif formatrices de spores est proposée. Des changements étant couramment proposés, parmi l'ajout d'un deuxième genre reclassifié ; *Desulfotomaculum orientis*, new *Desulfosporosinus orientis* (**Stackebrandt & al., 1997**). Plusieurs espèces du genre *Desulfotomaculum* présentent une versatilité de donneurs d'électrons tels que : acétate, aniline, succinate, catéchol, indole, éthanol, nicotinate, phénol, acétone, stéarate et autres. En fonction de l'espèce, les substrats organiques sont oxydés incomplètement en acétate ou complètement en CO<sub>2</sub>. Quelques espèces ont montré leur aptitude à se développer en présence de Fe (III) comme seul accepteur final d'électrons (exemple de *Desulfotomaculum reducens*) (**Tebo & al., 1998**). La formation de spores permet à l'ensemble des BSR de ce groupe, de survivre pour de longues périodes dans des conditions oxiques (oxygénées) ou de dessiccation.

### I.2.4.1.3. Les BSR thermophiles bacteria

Les deux grandes espèces bien caractérisées dans ce groupe de BSR sont : *Thermodesulfobacterium commune* (cannes à 34 % GC) (**Zeikus & al., 1983**) et *Thermodesulfovibrio yellowstonii* (vibrions à 30 % GC) (**Henry & al., 1994**). Les séquences disponibles pour les analyses de ces deux espèces contiennent une ambiguïté significative (12 % pour *T. commune* et 20 % pour *T. yellowstonii*) ce qui peut affecter l'emplacement phylogénique exact. Les deux bactéries ont été isolées dans les eaux hydrothermales profondes dans le parc national de Yellowstone, leur température optimale est supérieure de celle des BSR thermophiles Gram positif formatrices de spores, mais inférieure à celle des BSR thermophiles archaées. Les deux genres utilisent H<sub>2</sub> comme accepteur d'électrons en présence d'acétate, qui dans les environnements extrêmes peut dériver des fermentations thermophiles ou de réactions géothermales (**Widdel, 1992**).

### I.2.4.1.4. Les BSR thermophiles archaées

Ce groupe présente des températures optimales de croissance supérieures de 80 °C. Deux espèces seulement ont été décrites à ce jour, les deux isolées des systèmes marins hydrothermales : *Archaeoglobus fulgidus* (**Stetter, 1988**) et *A. profundus* (**Burggraf & al., 1990**). *A. fulgidus* est chimiolithoautotrophe facultative, possédant un flagelle et produisant de petites quantités de méthane, alors que *A. profundus* n'est pas flagellée, chimiolithohétérotrophe obligatoire et ne produit pas de méthane. Actuellement, *A. fulgidus* est doutée d'être une évolution des méthanogènes ancestrales ; groupe qui inclut également les halophiles extrêmes et les thermoacidophiles (**Woese & al., 1991**). La question comment la réduction de sulfate chez *Archaeoglobus* était acquise reste non résolue, quoique **Wagner & al. (1998)** ont reporté que les ancestraux communs des



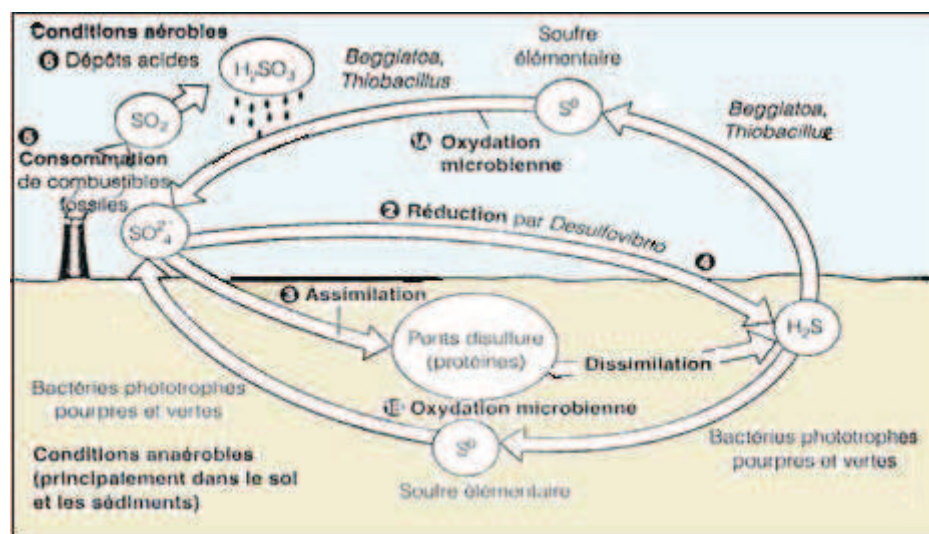
domaines Archaea et Bacteria possèdent l'enzyme, ou bien que le gène était latéralement transféré bien après la divergence de ces domaines (**Wagner & al., 1998**).

### I.2.4.2. Métabolisme des BSR

#### I.2.4.2.1. Caractéristiques métaboliques des BSR

♦ En s'insérant dans le cycle du soufre (Fig.I.2), les BSR parviennent à tirer de l'énergie à partir de la réduction anaérobie du soufre ; la respiration sulfatée (**Schmidt, 1999**). Elles utilisent le sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) ou occasionnellement le sulfure ( $\text{S}^{2-}$ ) et d'autres composés soufrés partiellement oxydés, comme les sulfites, le tétrathionate ou le soufre élémentaire, et le thiosulfate comme accepteurs d'électrons pour l'oxydation des nutriments (**Magot, 1999**). Le terme de la réduction étant toujours l'hydrogène sulfuré gazeux ( $\text{H}_2\text{S}$ ) d'odeur nauséabonde (**Neveux, 1968**).

Le cycle du soufre comporte plusieurs états d'oxydation de l'élément considéré, les sulfures tel que le sulfure d'hydrogène, constituent la forme la plus réduite du soufre. Ce dernier se forme généralement dans des conditions anaérobies et il représente une source d'énergie pour les bactéries autotrophes, qui transforment le soufre réduit de l'hydrogène sulfuré en granules de soufre élémentaire et en sulfates complètement oxydés ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) réutilisés lors du processus de réduction par les BSR telle que *Desulfovibrio* présente dans les sédiments de la zone benthique (**Tortora & al., 2003**).



**Fig.I.2.** Bactéries Sulfato Réductrices et le cycle du soufre (**Tortora & al., 2003**).

♦ En absence d'accepteur d'électrons, de nombreuses BSR sont capables d'utiliser certains composés organiques par voies fermentatives. Le composé le plus communément fermenté est le pyruvate qui est converti en acétate,  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2$  par réaction phosphoroclastique. Avec le lactate ou l'éthanol, l'énergie disponible par voie fermentative est insuffisante et le sulfate est alors nécessaire avec ces substrats (**Marchal, 1999**).

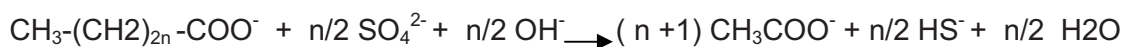
♦ Les molécules organiques utilisées comme source de carbone et d'énergie par les BSR sont des composés du carbone et de l'hydrogène ; les acides organiques simples, les alcools ou les acides gras qui servent comme donneurs d'hydrogène (**Pelment, 1993**). Le  $\text{CO}_2$  peut être utilisé comme source de carbone et ferait de ces bactéries des autotrophes (**Cabridenc & al., 1974**). Quelques espèces possèdent un métabolisme fermentaire, mais les glucides sont rarement dégradés.

♦ La réduction des nitrates en ammoniac est rare mais rencontrée chez quelques espèces. Certaines BSR ont la capacité de fixer l'azote, mais cette propriété n'est pas distribuée uniformément sur l'ensemble du groupe. Elle caractérise principalement des espèces des genres *Desulfovibrio* et *Desulfobacter* (**Magot, 1999**).

♦ **Pfenning & al. (1981)** ont proposé deux classes métaboliques pour les BSR

1- Les BSR qui conduisent à une oxydation incomplète de leur donneur d'électrons organique, constituant ainsi la source de carbone (lactate, pyruvate, éthanol, certains acides gras) en hydrogénosulfure et acétate. L'incapacité à oxyder en CO<sub>2</sub> les substrats ne comportant qu'une liaison « C-C » reflète souvent l'absence de voie métabolique pour l'oxydation de l'acétyl-CoA (**Marchal, 1999**). Le cas des genres *Desulfovibrio*, *Desulfomicrobium*, *Desulfolobus*, *Desulfotomaculum* et *Desulfobulbus*. Deux cas se présentent, selon que le donneur d'électrons soit pair ou impair :

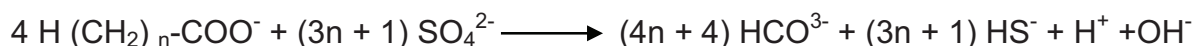
Substrat pair:



Substrat impair:



2- Les BSR présentant une activité catabolique plus étendue qui conduit à une oxydation complète en hydrogénocarbonate, à partir d'acides gras ou aromatiques, lactate, acétate, succinate ou CO<sub>2</sub>, le cas des genres *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfonema* et *Desulfosarcina*, selon la réaction :



Chez les espèces de ce groupe, il existe deux mécanismes d'oxydation de l'acétate. Le premier est un cycle modifié des acides tricarboxyliques, il met en œuvre une citrate lyase. Le second, le plus fréquemment rencontré, est la voie de l'acétyl-CoA, il met en œuvre une déshydrogénase de type monoxyde de carbone comparable à celle des homoacétogènes.

♦ Certaines espèces d'eau douce sont inhibées par une forte concentration en sel, le cas de *Desulfotomaculum acetoxidans* qui ne supporte pas plus de 7 g/l de NaCl. Contrairement à de nombreuses souches d'origine marine qui supportent des concentrations de plus de 100 g/l. De plus, certaines BSR peuvent croître dans une large gamme de salinité ; *Desulfovibrio desulfuricans* peut vivre en eau douce comme dans des milieux à 60 g/l de NaCl.

### 1.2.4.2.2. Les BSR et l'oxygène

Les mécanismes biochimiques à travers lesquels les BSR se protègent contre le contact avec l'oxygène restent mal connus (**Le Gall & al., 1996**). Ces bactéries se développent en absence d'oxygène mais résistent plusieurs jours dans une solution oxygénée (**Feugeas & al., 1997**). Postgate écrivit « quand elles sont exposées à l'air, les BSR ne sont pas tuées mais vont rester dormantes » (**Postgate, 1984**). D'autres chercheurs rapportèrent que quelques lignées de *Desulfovibrio* sont capables de procéder à la phosphorylation oxydative en présence d'air (**Dilling & al., 1990**) et la première démonstration était faite sur *D. gigas*, comme d'ailleurs premier procaryote anaérobie non photosynthétique ayant cette caractéristique. Ainsi, il a été montré que les BSR sont très riches en protéines reliées à l'oxydoréduction (**Peck & al., 1966**). L'isolement de certaines BSR des eaux superficielles (**Hata & al., 1964**) et des sédiments d'un lac

abondamment aéré (**Novozhilova & al., 1968**), a fait la preuve de l'existence d'un certain type de mécanisme protecteur contre les expositions accidentelles à l'oxygène chez les BSR, et le développement des stratégies de résistance ; rôle attribué à des protéines à fonction jusqu'alors hypothétique ou inconnue (**Dolla, 2005**).

En plus, le fait que l'oxygène peut jouer un rôle physiologique chez les BSR, a été soupçonné suite à la découverte de la dismutase superoxyde contenant le fer et de la catalase dans ces organismes (**Bell & al., 1971 ; Hatchikian & al., 1977**). Cependant, cela a été interprété pendant des années comme étant simplement mécanisme de défense aux expositions accidentelles à l'air.

Chez *Desulfuvibrio vulgaris*; bactérie la plus aérotolérante, deux mécanismes co-existent pour l'élimination de l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ) toxique: la superoxyde réductase (SOR) et la superoxyde dismutase (SOD), cette dernière a un même taux de survie dans l'eau de mère oxygénée et non oxygénée (**Hardy & al., 1981**). L'implication de l'hydrogénase et des cytochromes de type "c" ; couple physiologique clé dans la réduction du sulfate, a été proposée dans la réduction périplasmique de l'oxygène (**Fournier & al., 2004**).

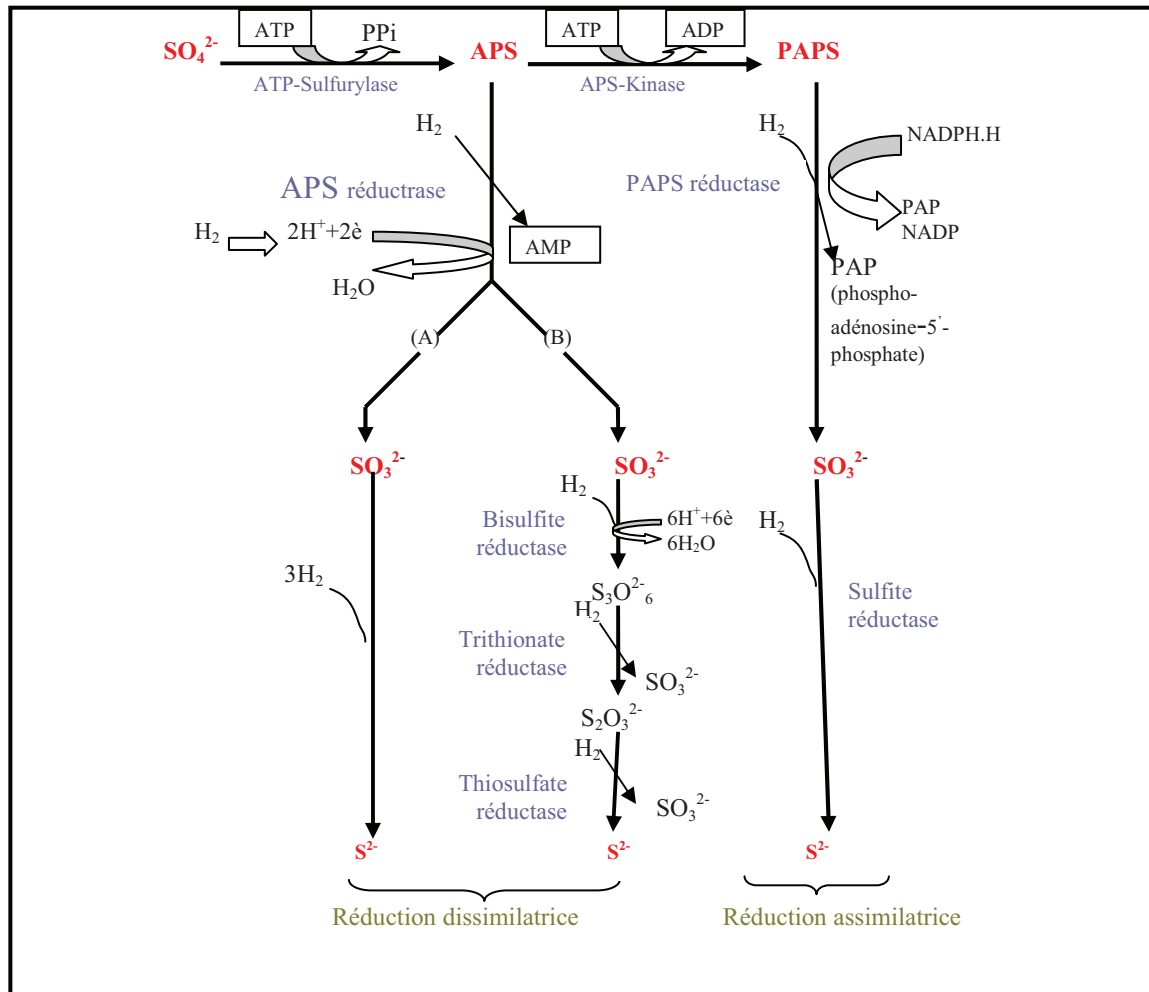
Plusieurs travaux étaient publiés sur l'utilisation microaérophile de l'hydrogène (**Abdollahi & al., 1990**) et de plusieurs composés organiques et sulfurés, concomitante à la synthèse d'ATP. La comparaison des séquences d'ARN<sub>r</sub> de plusieurs espèces *Desulfovibrio* et de bactéries aérobies indique également une forte relation entre ces groupes, laissant supposer que les espèces *Desulfovibrio* peuvent avoir évolué des bactéries aérobies (**Devereux & al., 1990**).

Enfin, les bactéries sulfato-réductrices peuvent survivre dans des environnements toxiques grâce à leur aptitude à créer des microniches anoxiques par leur rejet d'H<sub>2</sub>S. Cependant, il existe quelques espèces capables d'une respiration aérobie dans des milieux sans sulfures ni sulfates, avec l'hydrogène comme donneur d'électrons, c'est le cas de *Desulfovibrio desulfuricans*, *Desulfovibrio vulgaris* ou *Desulfobacterium autotrophicum* (**Labat, 2004**).

Toutes ces observations suggèrent que l'oxygène peut jouer un rôle physiologique chez ces anaérobies, mais pas de démonstration claire disponible sur la stimulation continue de la croissance en présence d'oxygène. Cependant, l'éclaircissement du potentiel aérobie de la chaîne respiratoire et la caractérisation de la réductase terminale d'oxygène sont devenus un but intéressant. Il a été démontré que la respiration aérobie des BSR est insensible au cyanure ou l'azide, inhibiteurs classiques des centres binucléaires typiques a<sub>3</sub>Cu (**Dilling & al., 1990**). Ainsi, une activité NADH oxydase était détectée dans les extraits de cellules libres de *D.gigas* (**Le Gall, 1968**) et une augmentation significative de l'activité NADH réductase des lignées de *D.desulfuricans* était observée aux basses pressions partielles d'oxygène (**Abdollahi & al., 1990**). Jusqu'à très récemment, les détails enzymatiques restent non clairs.

### 1.2.4.2.3. Métabolisme du sulfate

Du fait de la grande stabilité de l'ion sulfate, sa réduction par les BSR nécessite une réaction d'activation préalable. A la suite de ce « tronc commun » deux voies métaboliques divergent (**Pelment, 1993 ; Leclerc & al., 1995 ; Marchal, 1999 ; Labat, 2004**) (Fig.1.3).



**Fig.I.3.** Mécanismes de la réduction des sulfates chez les BSR : les deux voies dissimilatrice (respiratoire) et assimilatrice (Leclerc & al., 1995).

● Réaction assimilatrice :

C'est la réduction de sulfate pour la génération d'ions sulfures nécessaires à l'anabolisme. Une ATP sulfurylase échange la diphosphate de l'ATP par un sulfate pour donner le pyrophosphate et l'adénosine-5-phosphosulfate (APS) qui est le produit activé. C'est une étape commune aux BSR assimilatrices et dissimilatrices du sulfate. L'APS résultant est phosphorylée par une APS kinase en phospho-adénosine-phosphosulfate (PAPS) grâce à une nouvelle molécule d'ATP. A la suite de cette double activation propre à l'assimilation, le sulfate peut être réduit en sulfite ( $\text{SO}_3^{2-}$ ) puis en sulfure ( $\text{S}^{2-}$ ). L'assimilation du soufre par les BSR ne peut se faire qu'au stade sulfure.

● Réaction dissimilatrice :

Le sulfate sert d'accepteur d'électrons dans les oxydations génératrices d'énergie (ATP) des composés soufrés en anaérobiose (production d'énergie de catabolisme). L'APS résultant de la première réaction d'activation est réduit par une APS réductase en AMP et en sulfite ( $\text{SO}_3^{2-}$ ), par la suite deux mécanismes peuvent intervenir :

- mécanisme A : réduction directe à six électrons de sulfite ( $\text{SO}_3^{2-}$ ) en sulfure ( $\text{S}^{2-}$ ) sans libération de composés intermédiaires.



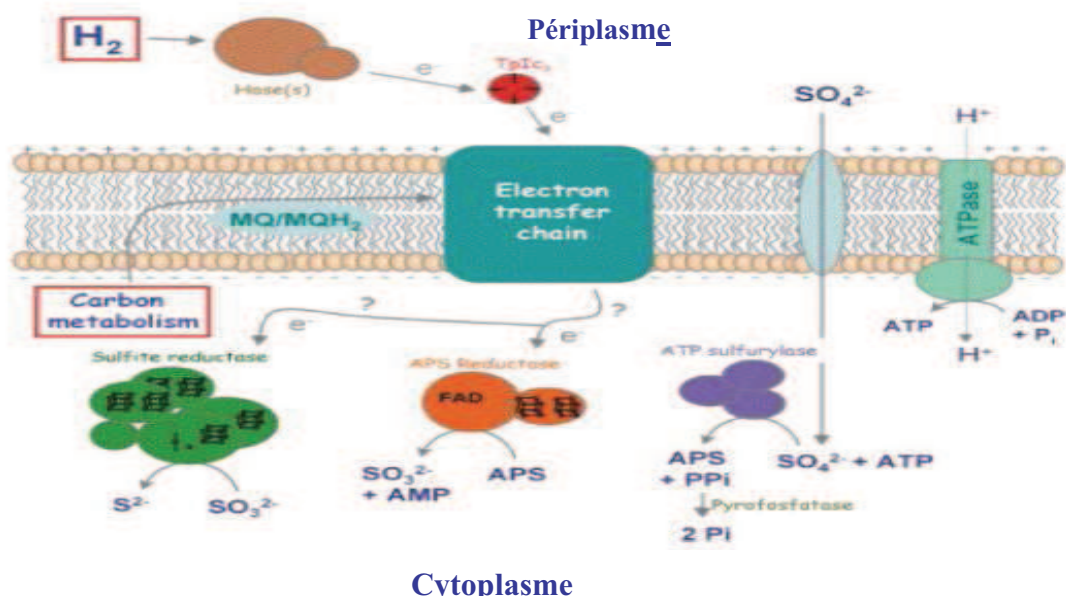
- Mécanisme B : comprend trois étapes biélectroniques successives avec formation de deux produits intermédiaires ; le trithionate ( $S_3O_6^{2-}$ ) et thiosulfate ( $S_2O_3^{2-}$ ), le sulfure étant le produit final de cette réaction.

### 1.2.4.2.4. Transport des électrons

Le processus de réduction du sulfate chez les BSR implique le fonctionnement d'une chaîne de transporteurs d'électrons composée de protéines d'oxydo-réduction, qui sont essentiellement, la ferrédoxine, la flavodoxine et un cytochrome typique ; le cytochrome  $C_3$ . Ce cytochrome est doté d'un bas potentiel redox et il est spécifique des microorganismes utilisant le sulfate. Les BSR capables d'oxydation complète de leur donneur d'électrons, possèdent, en supplément, un cytochrome de type b qui n'existe pas chez les autres BSR. Un des rôles les plus importants des enzymes d'oxydoréduction est de créer un gradient de protons au travers de la membrane cellulaire. Les BSR possèdent généralement plusieurs déshydrogénases.

Dans le transport d'électrons, l'hydrogène diatomique ( $H_2$ ), provenant de l'environnement ou produit par certains donneurs d'électrons (métabolisme carboné et hydrogénase cytoplasmique), transfère ses électrons à une hydrogénase périplasmique en association étroite avec le cytochrome  $C_3$ . Les protons ainsi produits sont dirigés vers le compartiment externe, ils activent une ATP synthétase pour la production d'énergie, tandis que les électrons sont transférés au travers de la membrane ; une force protomotrice s'instaure et elle peut être utilisée pour la biosynthèse d'ATP. Dans le cytoplasme, les électrons sont utilisés pour la réduction de l'APS (**Marchal, 1999 ; Haras, 2005**) (Fig.1.4).

Du fait de l'absence de cytochrome Q ; les BSR ne disposent pas d'une chaîne de transporteurs d'électrons intégrale, mais de deux fragments de chaîne indépendants destinés respectivement à la réduction de l'APS et à la réduction du bisulfite en sulfure.



**Fig.1.4.** Représentation schématique du transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire, en présence d'hydrogène ou de composés organiques comme source d'énergie et du sulfate comme accepteur terminal d'électrons chez les BSR (**Haras, 2005**).

### I.2.5. Mécanisme de la corrosion influencée par les micro-organismes

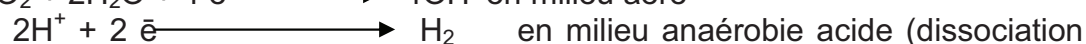
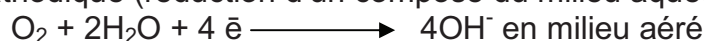
#### I.2.5.1. Mécanismes de la corrosion

Les réactions électrochimiques impliquées dans le processus de biocorrosion s'effectuent à l'interface métal/ matériel biologique. Elles se détectent par un ensemble d'observations : corrosion et/ou formation de piqûres ouvertes remplies de produits de corrosion noirs riches en FeS, présence de fines masses microbiennes, d'hydrogène sulfuré, d'hydroxydes ferreux ou ferriques.

Schématiquement, la phase métallique est assimilée à un réseau cristallin d'atomes dans lequel se déplacent des électrons de conduction (électrons libres). La phase aqueuse autorise aussi la conduction électrique par mobilité ionique. Les ions métalliques font à la fois partie de la phase métallique et de la phase aqueuse et ils peuvent passer de l'une à l'autre, ce qui correspond à un transport de charges électriques et donc à un courant électrique (effet pile) (Fig.I.5). On appelle « courant anodique » un courant circulant dans le sens métal-solution (ce qui correspond à une réaction anodique), et « courant cathodique » un courant circulant dans le sens inverse (correspondant à une réaction cathodique) (**Magot, 1999 ; Marchal, 1999**). La corrosion d'un métal peut être résumée par les deux demi-réactions suivantes :

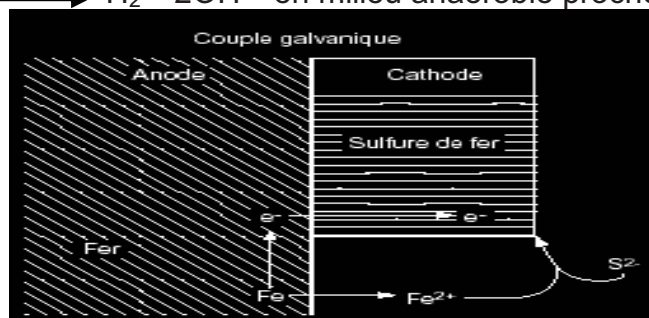
Réaction anodique (oxydation du métal ; dissolution), exemple du fer :  $\text{Fe} \longrightarrow \text{Fe}^{2+} + 2 \bar{e}$

Réaction cathodique (réduction d'un composé du milieu aqueux) :



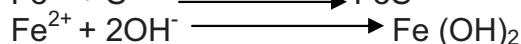
électrolytique), l'hydrogène produit s'adsorbe sur la surface cathodique pour y former un film moléculaire isolant, la vitesse de cette réaction diminue progressivement.

Le système tend vers un état d'équilibre, il se crée un potentiel en opposition du passage du métal en solution suffisant pour neutraliser la pile ; ce phénomène est connu sous le nom de polarisation cathodique (**Leclerc & al., 1989**).



**Fig.I.5.** Schéma du principe du mécanisme de la corrosion anoxique du fer (**Marchal, 1999**).

Les ions métalliques réagissent avec d'autres ions présents dans le milieu aqueux (l'ion sulfure, l'ion hydroxyde, etc), formant ainsi les produits de corrosion (hydroxydes de fer, sulfure de fer, etc) (**Leclerc & al., 1989**) :



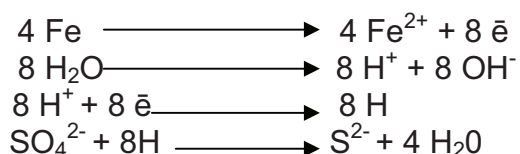
Ces produits se déposent sur la surface anodique et la polarisent formant un dépôt protecteur, c'est la polarisation anodique (**Leclerc & al., 1989**).

### I.2.5.2. Mécanismes de la corrosion bactérienne

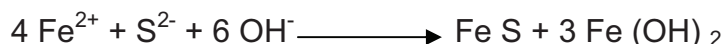
Dans des conditions « favorables », la présence de micro-organismes vient accélérer l'une des deux réactions ; anodique ou cathodique (ou les deux). Ceci correspond à l'apparition de corrosion par la modification des conditions de fonctionnement du système. Plusieurs mécanismes réactionnels ont été proposés :

#### I.2.5.2.1. Dépolarisation cathodique

La théorie de dépolarisation cathodique (théorie Von Wolzogen Kuhr et Van Der Vlugt, 1934), explique la consommation microbologique (biochimique) de l'hydrogène provenant de la réaction cathodique, par le mécanisme suivant:



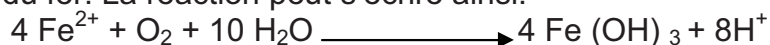
La réaction globale s'établissant comme suit :



Cette théorie suppose que seules les BSR possédant une hydrogénase sont capables de produire par déplacement d'équilibre, des vitesses de corrosion importantes, en oxydant l'hydrogène atomique ou moléculaire adsorbé au voisinage des cathodes qu'elles dépolarisent, après réduction des sulfates contenus dans l'eau en anaérobiose (reprise de la réaction d'oxydation induisant ainsi la corrosion du métal). L'hydrogène sulfuré résultant s'allie aux ions ferreux produits à l'anode pour donner le FeS qui précipite au voisinage de l'anode (**Haslay & Leclerc., 1993**). La dépolarisation cathodique peut se produire également par l'H<sub>2</sub>S suite à une réaction cathodique démarrant du fer et d'H<sub>2</sub>S pour donner HS<sup>-</sup> et le FeS.

#### I.2.5.2.2. Dépolarisation anodique

Elle est due à l'action des germes aérobies et plus essentiellement aux bactéries du fer (**Haslay & Leclerc., 1993**). Ces dernières oxydent le fer et accumulent l'hydroxyde ferrique résultant de la réaction. L'élimination des ions ferreux de l'anode implique la dépolarisation de cette dernière donc, accélération de la réaction anodique de la dissolution du fer. La réaction peut s'écrire ainsi:



Les BSR accélèrent la réaction anodique par formation de FeS, ce phénomène étant limité par la réduction des ions H<sup>+</sup>, la formation de FeS ne peut accélérer la corrosion que si une nouvelle réaction cathodique se produit.

#### I.2.5.2.3. Acidification locale du milieu

En milieu acide, l'H<sub>2</sub>S est un catalyseur puissant de toutes les cinétiques anodiques de dissolution (**Crolet, 1992**). La production de sulfures par les BSR, dont la corrosivité est potentialisée par l'acidification microbienne locale du milieu, suffit à expliquer les phénomènes de biocorrosion.

La surface de l'acier sous un biofilm de BSR, constitue une anode locale où la cinétique de dissolution anodique du fer est d'autant plus élevée que le pH du milieu est bas.



L'effet du métabolisme des BSR sur le milieu environnant, est donc fonction du pH. Le métabolisme des BSR conduit à la sécrétion de composés acides ; CO<sub>2</sub> ou espèces acétiques (acides faibles) dont la répartition dépend du pK de chaque couple et du pH. Tout se passe donc comme si le bilan métabolique tendait à réguler le pH du milieu environnant à la valeur optimale du pH de croissance des BSR (production ou consommation d'acidité). L'expérience a montré que les BSR acidifient constamment le milieu extérieur, les limites sont en pratique fixées par le pouvoir tampon du milieu et par les pH limites tolérés par les BSR (**Magot, 1999**). De ce fait, il est possible de déterminer, pour chaque source de carbone, la valeur théorique du pH du milieu de culture pour laquelle la production d'acidité du métabolisme est nulle. L'acidification de l'environnement bactérien, pourrait donc contribuer à satisfaire l'exigence nutritionnelle des BSR en ions Fe<sup>2+</sup>, impliqués dans la biosynthèse des cytochromes dans la chaîne respiratoire des BSR (**Marchal, 1999**).

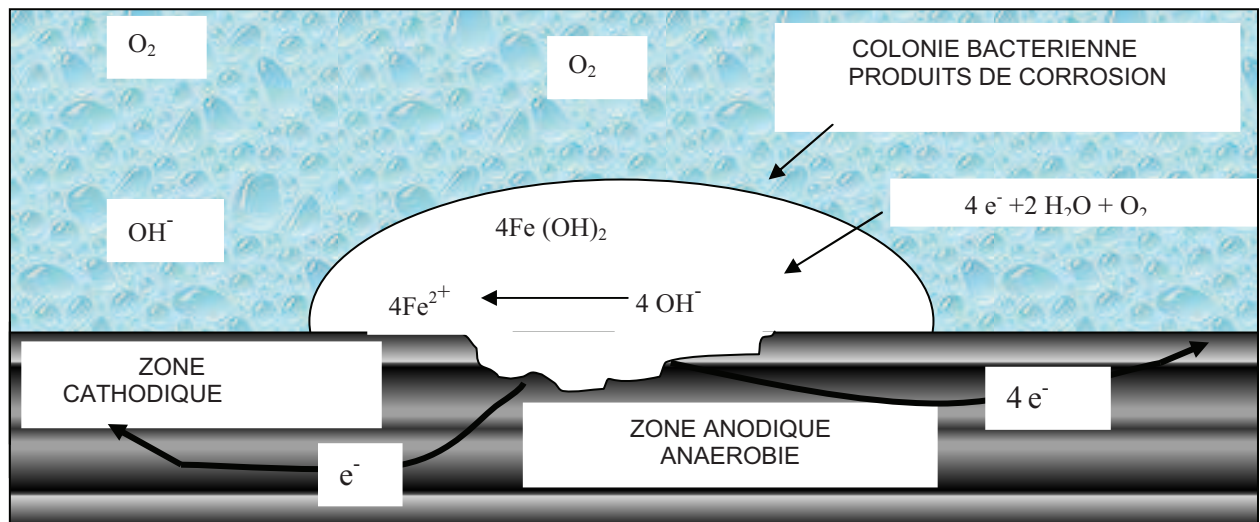
#### I.2.5.2.4. Production de métabolites corrosifs

Les bactéries de la corrosion produisent des métabolites corrosifs vis-à-vis des matériaux métalliques tels que les acides organiques (acide formique ou acide succinique) ou inorganiques comme l'acide sulfurique. Certains micro-organismes sont impliqués dans la transformation des composés soufrés. Le soufre ou les sulfures sont transformés en sulfates ou en acide sulfurique. D'autres microorganismes oxydent l'hydrogène sulfuré (**Feron & al., 1998**).

Les propriétés corrosives de l'H<sub>2</sub>S (produit par les BSR) pour le fer sont bien connues. Les produits de corrosion progressent des formes riches en fer jusqu'aux formes riches en sulfures dans l'ordre suivant : mackinawite (FeS<sub>(1-x)</sub> tétragonal), sulfure ferreux cubique (FeS cubique), troilite (FeS hexagonal), pyrrhotite (Fe<sub>(1-x)</sub>S hexagonal/monoclinique), greigeite (Fe<sub>3</sub>S<sub>4</sub> cubique), marcasite (FeS<sub>2</sub> orthorhombique), pyrite (FeS<sub>2</sub> cubique). Les sulfures de fer ont des propriétés passivantes variables, la passivité du film tend à augmenter de la forme mackinawite à la forme pyrite. Ainsi, les FeS sont de bons conducteurs électriques et peuvent diminuer la surtension d'électrode en jouant le rôle de cathode. En effet, en biocorrosion, ces dépôts à caractère non couvrant permettent le fonctionnement de la réaction cathodique et le déroulement du processus de corrosion (**Marchal, 1999**).

#### I.2.5.2.5. Aération différentielle

Le développement d'un biofilm hétérogène à la surface d'un métal, implique une oxygénation différente entre la périphérie de ce biofilm et son centre. La concentration en oxygène étant supérieure à la périphérie (pile d'aération différentielle). Ce qui crée une différence de potentiel entre la zone périphérique considérée comme cathode et le centre du biofilm considéré comme anode. Il en résulte des phénomènes d'électrolyses avec solubilisation du métal et formation d'oxydes issue du métabolisme bactérien (Fig.1.6) (**Feron & al., 1998**).



**Fig.I.6.** Schéma d'une cellule d'aération différentielle sous un biofilm avec ou sans zone anaérobie (Rose, 1981).

#### I.2.5.2.6. Modification d'inhibiteurs ou de revêtements protecteurs

Certaines bactéries peuvent utiliser ces produits dans leur métabolisme, et ainsi les détruire. C'est par exemple le cas de celles qui transforment les nitrates (inhibiteurs de corrosion) en nitrites ou ammoniacque. Certaines induisent la libération d'exopolymères capables de favoriser la solubilisation des produits de corrosion en complexant les ions fer des aciers (Normand & al., 2004).

Concernant les mécanismes de corrosion liés à la présence de BSR, la figure suivante (Fig.I. 7) illustre les différents processus d'action des BSR sur un acier au carbone.

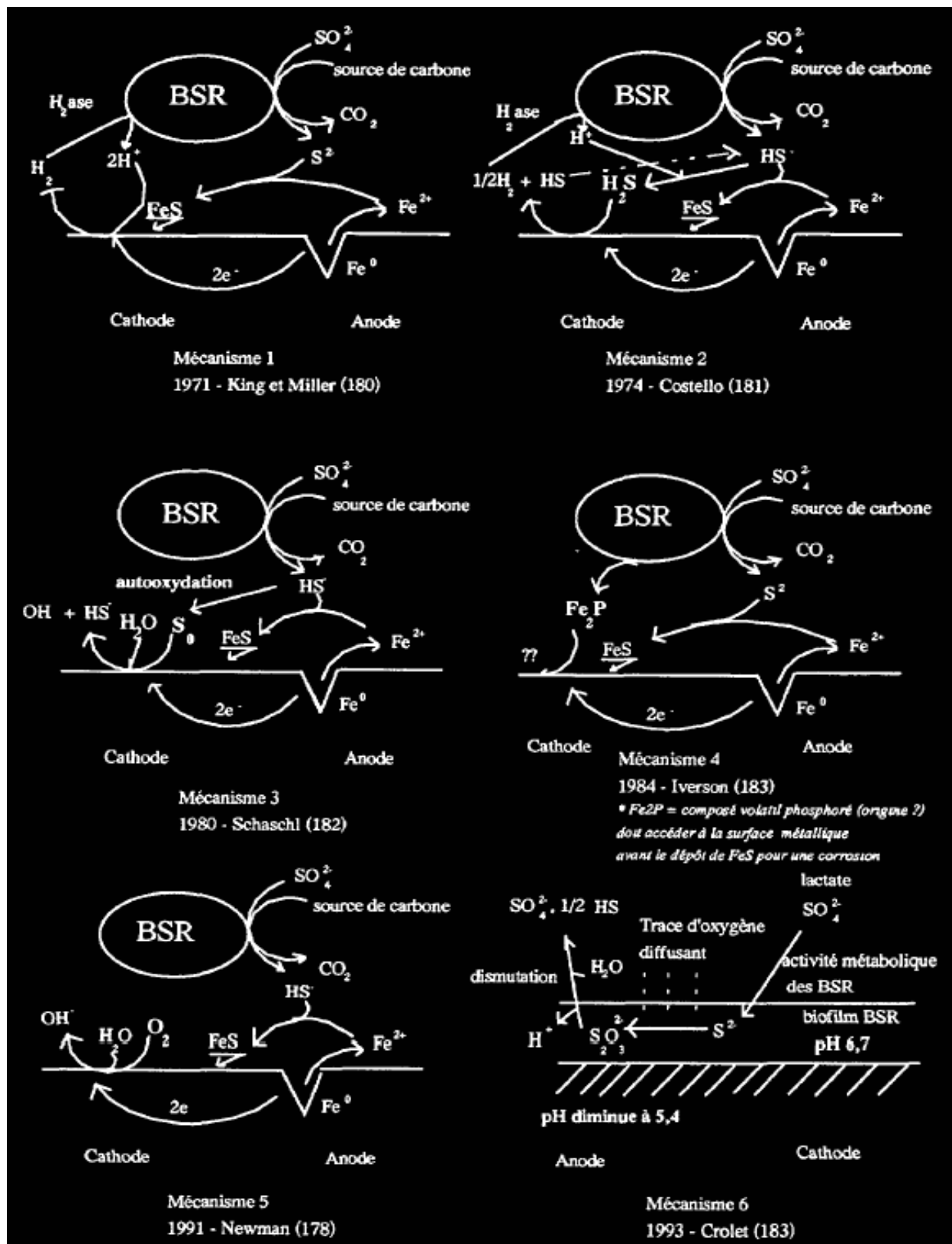


Fig.I.7. Différents mécanismes d'action des BSR dans la corrosion des aciers (Feugeas & al., 1997).

### I.2.6. Biofilms et biocorrosion

#### I.2.6.1. Définition

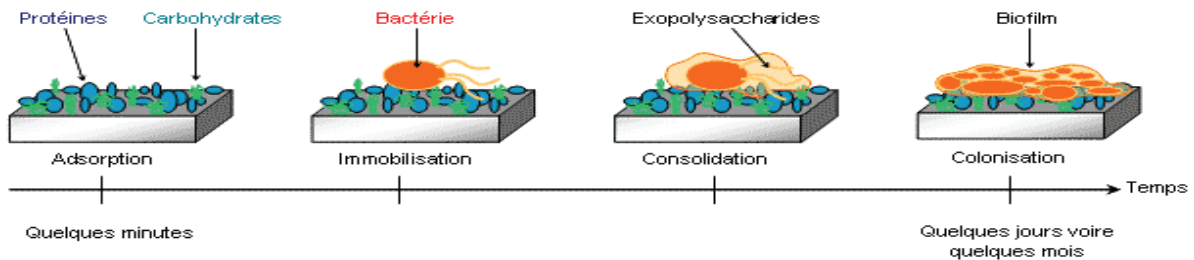
La première étape de la biocorrosion consiste obligatoirement en la formation d'un biofilm sur une surface solide, l'inverse n'est pas vrai : la présence d'un biofilm n'est pas toujours associée à un processus de biocorrosion. Le biofilm concerne une agrégation d'organismes indépendants ou interindépendants fonctionnellement, en général des micro-organismes enrobés dans une gangue de Substances Extra-Polymériques (S.E.P) qu'ils sécrètent. Costerton & al définissent un biofilm comme un écosystème constitué de population de micro-organismes (bactéries, levures, etc), inclus dans une matrice d'exopolymères et généralement associé à des tissus, à des matériaux abiotiques ou des interfaces (**Costerton & al., 1995**). L'hétérogénéité biologique, spatiale et temporelle du biofilm induit une hétérogénéité dans son action par rapport au métal, sur lequel apparaît une corrosion sous forme de tunnels ou par piquuration (cas de l'acier au carbone). Ce mode de vie confère souvent aux microorganismes une meilleure protection contre les effets toxiques (biocides, antibiotiques, antiseptiques) (**Pelment, 1993 ; Feugeas & al., 1997**). Les biofilms sont des systèmes très sophistiqués, tant sur le plan structural que fonctionnel où plusieurs niches peuvent se présenter. La matrice de polysaccharides (représentant jusqu'à 85% du volume du biofilm) englobe des tours bactériennes en forme de champignon séparées par des canaux aqueux et des pores qui facilitent la circulation des nutriments du milieu d'où le caractère dynamique du biofilm. La fraction d'eau est très importante dans un biofilm (80 à 95 % d'eau) et son épaisseur varie de quelques micromètres à quelques centimètres selon le milieu, les micro-organismes et le support.

#### I.2.6.2. Formation du biofilm

La formation du biofilm se fait en plusieurs étapes (Fig.I.8) (**Flemming, 1995; Feugeas & al., 1997; Potekhina & al., 1999; Marchal, 1999; Beech, 2004; Beech & al., 2004; Normand & al., 2004**) :

- l'adhésion préalable des micro-organismes à une interface suite à un phénomène physico-chimique. Ce processus s'effectue en deux étapes. La première étape serait une phase réversible, très rapide (quelques minutes seulement), consistant en une attraction instantanée (adsorption) de macromolécules organiques (exopolymères, protéines, acides aminés, acides humiques) et/ou inorganiques présentes dans le milieu ou sécrétées par les micro-organismes, induisant ainsi une modification de l'état de surface (tension de surface, énergie libre de surface, polarité, mouillabilité). Elle est décrite comme phase d'adhésion minimale secondaire selon l'approche physico-chimique des colloïdes. Vient ensuite, une adhésion réversible des micro-organismes, elle s'effectue grâce à la mobilité des bactéries (appendices extracellulaires, pili ou flagelles) ou grâce au mouvement du fluide (mouvement brownien, sédimentation, écoulement). La seconde étape serait une phase irréversible lente correspondant à une adhésion ferme des bactéries et apparaîtrait après quelques heures. Les S.E.P et les pili seraient impliquées dans cette étape. La physico-chimie fournit deux modèles pour décrire l'attachement des micro-organismes sur différents types de surfaces solides : la théorie de D.L.V.O tenant compte les forces électrostatiques et les forces de Van Der Waals, et la théorie donnée par la thermodynamique des surfaces considérant l'adhésion bactérienne comme un état d'équilibre, elle prend en considération le point de contact en négligeant les interactions électrostatiques.

- La colonisation progressive souvent non uniforme de la surface, elle apparaît à des temps variables selon le milieu et le matériau. Les microcolonies de bactéries se fixent au support. Le développement du biofilm se fait ensuite selon une cinétique sigmoïdale à trois phases : la phase d'initiation, la phase exponentielle et la phase d'équilibre.
- La synthèse de S.E.P par les micro-organismes aboutissant à une structure multi-étages (voile biologique). Cette matrice extracellulaire aboutit à la maturation et à la structuration du biofilm, cette étape nécessite une coordination poussée entre les bactéries. Certaines cellules ou paquets de cellules peuvent se détacher, allant ainsi coloniser d'autres sites.



**Fig.I.8.** Schématisation des étapes de formation d'un biofilm (Pelment, 1993).

### I.2.6.3. Facteurs impliqués dans la formation du biofilm

Divers facteurs conditionnent le processus de formation du biofilm (Feugeas & al., 1997 ; Beech, 2004) :

- l'adhésion des micro-organismes sur un substrat est soumise à plusieurs facteurs : tension superficielle du métal, plus la tension de surface du solide augmente, plus la colonisation augmente ; toxicité de la surface conditionnant la colonisation selon la nature du matériau ; conditions du développement cellulaire telles que la concentration des nutriments influençant la production des métabolites extracellulaires et les conditions environnementales telles que température, pH, ions et la vitesse d'écoulements du fluide.
- La richesse du milieu circulant (eau douce, eau polluée) est la cause de la multitude des micro-organismes rencontrés dans un biofilm.
- La nature et la composition du biofilm évoluent dans le temps et selon la composition du métal.
- La morphologie du biofilm change avec son âge (d'un aspect uniforme au début de colonisation à un aspect filamenteux après maturation).

### I.2.6.4. Action du biofilm

Le biofilm agit dans son environnement par plusieurs mécanismes (Feugeas & al., 1997; Beech, 2004; Beech & al., 2004) :

- le biofilm de part sa consistance gélatineuse très adhérente, présente un obstacle (isolant) au transport des espèces chimiques nécessaires à la passivation de la surface métallique. De ce fait, le comportement du matériau sera lié à la chimie locale de l'interface métal/biofilm.
- Il entraîne le détachement de la couche passive lorsqu'il se détache.
- Il crée des cellules de concentration et notamment des cellules d'aération différentielles.

- Il modifie les conditions de diffusions de l'oxygène en agissant comme barrière diffusionnelle ou en consommant l'oxygène.
- Les S.E.P de part leur nature de polymères cationiques (polysaccharides), ils interviennent dans la fixation des cellules et dans la formation du biofilm. Ainsi, ils jouent le rôle d'une résine échangeuse d'ions et de ce fait, interviennent dans la capture d'ions métalliques présents en solution. Par ces propriétés fixatrices de métaux, les S.E.P influent la distribution et la présence des métaux à l'interface métal corrodé - biofilm.
- La formation de dépôts denses induit à la corrosion cavernueuse.
- Il induit une modification des inhibiteurs de corrosion et des revêtements protecteurs.
- Il entraîne une stimulation directe ou indirecte des réactions anodiques et cathodiques.
- Il conduit à une fragilisation par l'hydrogène, qui peut être accélérée par la formation d'H<sub>2</sub>S produit par les bactéries sulfurogènes.

### I.2.6.5. Moyens d'études du biofilm

Cette étude concerne le biofilm, les micro-organismes constitutifs et leurs métabolites (**Madilyn, 1994 ; Feugeas & al., 1997**) :

- les techniques de caractérisation d'un biofilm peuvent se résumer en : microscopie optique couplées avec les techniques biochimiques ou immunologiques et d'épifluorescence (détection et numération des bactéries) ; microscopie électronique à balayage (MEB) permettant une approche descriptive du biofilm, de sa répartition à la surface (sites dispersés de colonisation bactérienne) et la cinétique de sa formation ; microscopie électronique à transmission (MET) pour l'analyse en profondeur d'un biofilm ; microscopie confocale permettant l'observation du biofilm sans le détruire (mettre en évidence les micro-ilots bactériens et les canaux) ; microscopie à force atomique (AFM) pour l'observation des bactéries et leurs exopolymères dans leur état hydraté. Les produits de corrosion peuvent être analysés et cartographiés à la surface du matériau par l'analyse de l'énergie dispersive des rayons X. Le biofilm peut être analysé d'une manière non destructive par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF). La formation d'un biofilm (masse, densité et viscosité) s'étudie également grâce à une microbalance à cristal de quartz (MBCQ).  
Les mesures électrochimiques sont ainsi de meilleurs moyens pour l'étude des biofilms, à savoir : potentiel de corrosion libre, courant de polarisation, résistance de polarisation, spectroscopie d'impédance et le bruit électrochimique, la liste reste non exhaustive.
- La caractérisation des bactéries peut s'effectuer selon des méthodes de culture dans des milieux adéquats sélectifs, des méthodes immunologiques, des méthodes lipidiques et des techniques d'analyse chimiques.
- L'étude de l'activité métabolique des micro-organismes peut être mise en évidence par la détection de produits métaboliques présentant des caractéristiques spécifiques ; la présence d'organismes viables par la réduction de substrat et par l'incorporation d'éléments isotopiques spécifiques au métabolisme des bactéries du biofilm.



### I.2.7. Lutte contre la biocorrosion

Eviter la fixation des biofilms et biosalissures est un problème économique crucial. Différentes stratégies peuvent être employées pour limiter la biocorrosion, soit en agissant sur le milieu (désoxygénation, ajouts d'inhibiteurs de corrosion, etc), soit en intervenant sur le matériel (application d'une protection cathodique, d'un revêtement, anodisation, etc) ou encore en limitant au maximum la prolifération bactérienne (traitement biocides, chocs thermiques, rayons UV, etc). L'efficacité des techniques employées est rarement totale ; les bactéries au sein d'un biofilm sont protégées et ainsi beaucoup plus résistantes à l'effet des biocides que les bactéries planctoniques. De plus, un biofilm constitué de bactéries mortes peut toujours causer des problèmes (apport nutritif pour d'autres bactéries vivantes). Les méthodes de protection peuvent être classées en **(Neveux & al., 1968 ; Comité des techniciens IFP, 1973; Videla, 2002 ; Normand & al., 2004) :**

- procédés de traitement mécaniques et chimiques, dont le but est de déplacer les dépôts (mucosités ; le cas des sulfates et silicates et incrustation ou entartrage ; le cas des carbonates de calcium) des surfaces métalliques. Les molécules chimiques de protection utilisées sont bien souvent toxiques vis-à-vis de l'environnement (cas des acides minéraux).
- Revêtements telles que les peintures antisalissures qui sont largement utilisées en milieu marin dans la lutte contre les biosalissures (relargage de produits toxiques incorporés dans un liant), or, certaines peintures se sont révélées extrêmement toxiques pour l'environnement. Les revêtements à base de silicone présentent une bonne efficacité pour les bateaux en mouvement mais sont inefficaces pour les bateaux restant à quai de plus, ils sont relativement coûteux. Les revêtements ne doivent pas libérer des produits corrosifs après leur dégradation.
- La méthode la plus employée dans les systèmes industriels (industrie pétrolière par exemple), est l'introduction de biocides, ceux-ci sont largement décrits dans la littérature et présentent bien souvent un caractère toxique vis-à-vis de l'environnement. Les biocides sont capables de tuer ou inhiber les micro-organismes et sont de différents types. Les THPS (tétrakishydroxyméthyl phosphonium sulfate) est le plus souvent employé dans l'industrie pétrolière.
- La protection cathodique est ainsi efficace pour lutter contre la biocorrosion ; elle consiste en l'application d'un courant externe à la surface métallique qui doit être protégée. Ce courant est opposé au courant de corrosion, le métal est donc polarisé au potentiel pré-sélectionné. Dans des conditions d'anaérobiose où les risques de prolifération de bactéries sulfurogènes sont importants, le potentiel de protection doit être abaissé aux environs de  $-0,9 \text{ V/Ag/AgCl/}$  eau de mer. La protection des structures enterrées s'obtient aisément par la combinaison d'un revêtement et de la protection cathodique.

Quelques études limitées d'utilisation de procédés enzymatiques comme nouvelle voie de lutte contre le biofilm ont été menées, notamment dans les industries laitières.

Il apparaît donc essentiel de poursuivre la mise au point de nouveaux procédés écologiques et efficaces limitant la formation des biofilms. Le choix d'une méthode de protection cherche à la fois la plus simple, la moins coûteuse et la plus efficace.



***Traitement de  
surface par  
implantation d'ions***

### **I.3. TRAITEMENT DE SURFACE PAR IMPLANTATION D'IONS**

Les traitements de surface, qui concernent aussi bien la préparation de surface que les revêtements, connaissent actuellement un engouement de plus en plus marqué, et ce dans les domaines d'activité aussi variés que la microélectronique et les semi-conducteurs, l'aéronautique et le spatial, la tribologie et le mécanique, l'agroalimentaire et le biomédical, l'optique et l'optronique, l'électromagnétisme, la décoration, la métallurgie et plus particulièrement la sidérurgie, etc. La liste reste encore incomplète avec le développement continu de ces techniques (**Tomasini, 2001**).

#### **I.3.1. Historique**

L'implantation d'ions est utilisée depuis plus de 30 ans dans l'industrie électronique. L'emploi de cette technique pour le traitement des matériaux métalliques afin d'améliorer les fonctions de résistance au frottement et à l'usure, de tenue à la corrosion et à l'oxydation sans aucune variation dimensionnelle, date d'une quinzaine d'années (**CETIM, 1994**).

L'idée est de Schockley (un des inventeurs du transistor) qui proposa l'implantation d'ions pour le dopage des semi-conducteurs dès 1951. Au début des années soixante, cette technique a été développée comme méthode d'introduction de quantités précises d'ions électriques actifs ou dopants dans les matériaux semi conducteurs des appareils micro-électroniques (**IBP Technologies, 1996**). A partir de 1971, le procédé fut industrialisé pour la fabrication des circuits intégrés, proposé dès 1973 pour des applications mécaniques ; il fut rapidement utilisé avec succès à la suite des travaux entrepris à « Harwell Labs » en Grande Bretagne (**Hartley & al., 1973 ; Hartley, 1975**). Les travaux de « Harwell Labs » ont inspiré toutes les recherches ultérieures réalisées dans de nombreux centres tant en Europe qu'aux Etats Unies et au Japon (**Hirvonen, 1978 ; Iwaki & al., 1985 ; Chabrol & al., 1988 ; Onate & al., 1989 ; Shioshansi , 1989**).

Par la suite, des utilisations ont vu le jour dans l'industrie mécanique, aéronautique et biomédicale, ect et actuellement, cette méthode est la technique standard des procédés semi-conducteurs pour la fourniture des dopants (**IBP Technologies, 1996**).

Les résultats accumulés ont en particulier, montré que l'implantation d'azote est susceptible d'apporter une amélioration sensible de la résistance à l'usure des aciers à outils, des métaux durs et des alliages de titane (**CETIM, 1994**). Consécutivement à l'azote, les progrès technologiques réalisés sur les équipements ont permis d'envisager l'implantation d'autres espèces ionisées, notamment métalliques, avec une bonne fiabilité, comme par exemple, le chrome, le titane, le zirconium, le bore, le carbone, l'oxygène, ect et les modifications de surface ont pu être envisagées sur d'autres matériaux comme les aciers inoxydables, les aciers à roulement, les céramiques, les polymères et composites avec des améliorations notables de la tenue à la corrosion, à l'oxydation, ou de l'adhérence (**Tousset, 1989 ; Pichat & al., 1988 ; Corre, 1993**).

Le tableau ci-dessous (Tab.I.2), résume l'historique de l'évolution du traitement des matériaux métalliques par implantation ionique.

**Tableau.I.2.** Historique de la technologie d'implantation d'ions (**CETIM, 1994**).

Année	Evénements
1971	Implantation des semi-conducteurs commercialisés. Début des recherches sur l'implantation ionique des métaux aux laboratoires « Harwell Labs » en Angleterre.
1976	Premier implanteur prototype « Harwell » pour les substrats métalliques.
1982	Initiation du programme « Navy Mantech » sur l'implantation ionique.
1983	Développement du premier implanteur « US » commercialisé pour les métaux.
1985	Deuxième implanteur prototype « Harwell » pour les métaux.
1986	Initiation du projet japonais « Ammtra » pour l'implantation ionique.
1987	Création d'une première entreprise privée (IBS), proposant un service de sous traitance en implantation ionique.
1990	Développement d'un implanteur prototype pour PSII (Plasma Source Ion Implantation) (Université de Wisconsin).
1992	Commercialisation de la source d'ions pour métaux.
1994	Installation d'un implanteur d'azote.
1994	Initiation des efforts pour les revêtements alternatifs sécurisés environnementalement.

### I.3.2. Description du procédé d'implantation d'ions par source plasma (en immersion plasma)

#### I.3.2.1. Définition et principe

L'implantation d'ions est un procédé qui consiste à modifier la composition des couches superficielles d'un matériau à traiter, en faisant percuter une espèce chimique choisie (l'implant), issue d'un composé gazeux ou d'éléments métalliques vaporisés ou pulvérisés, ce traitement permet d'introduire n'importe quel élément dans n'importe quel solide (Fig.I.9). Le bombardement est fait par un faisceau d'ions énergétique de l'implant (**Sarrazin & al., 2000 ; Guy & al., 2004**). Cette application utilisée comme traitement de surface, améliore les propriétés tribologiques (usure, frottement, etc), physiques (résistance à la fatigue, etc) ou physico-chimiques (résistance à la corrosion, etc).

Le procédé utilise un accélérateur de particules (l'implanteur) fonctionnant sous vide, où l'accélération est obtenue par des tensions de quelques kV à quelques centaines de kV (**Torregrosa, 2004**). Les ions formés ont une énergie classiquement comprise entre 10 et 400 keV, et selon leur masse, ces ions se répartissent dans la profondeur du substrat de façon approximativement gaussienne sur une profondeur moyenne de 20 à 100 nm (parfois quelques centaines de nm) (**CETIM, 1994**) (Fig.I.9). La pénétration peut être vérifiée expérimentalement par des techniques très élaborées (analyses SIMS, Auger, RBS).

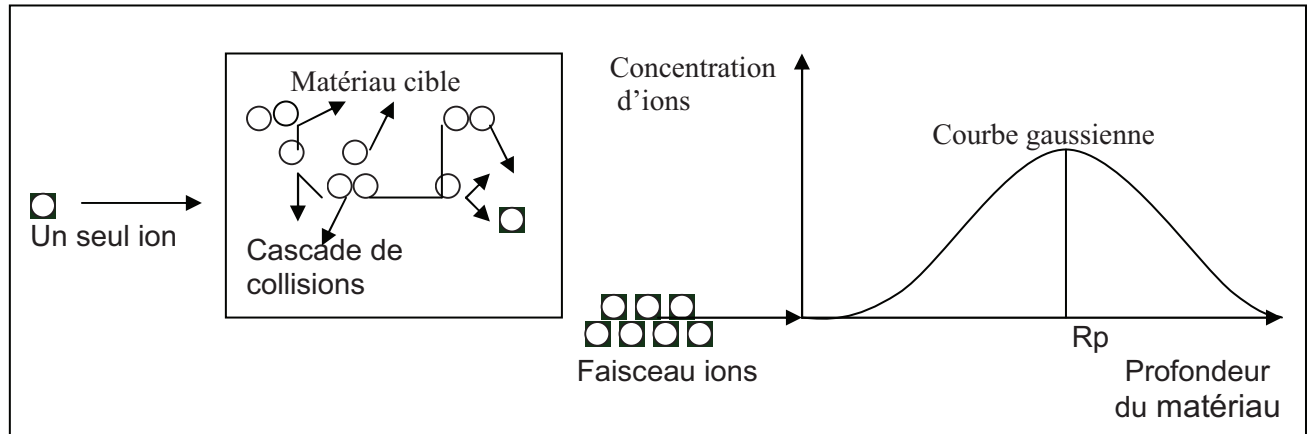
La concentration maximale des alliages de surface élaborés par ce procédé (sommet de la gaussienne) se situe dans la gamme 5-30 at %, pour des doses d'implantation de  $10^{16}$  à  $10^{17}$  ions.cm<sup>-2</sup>. Les particules plasma qui se déposent possèdent une énergie d'impact relativement élevée, ce qui permet d'obtenir (**Schmidt, 1999**) :

- une bonne adhérence (bombardement d'ions) ;
- une structure presque parfaitement réticulée (résistance à l'usure et à la corrosion) où la porosité est réduite ;

## Traitement de surface par implantation d'ions

- une augmentation de performance et de la durée de vie ;
- une adsorption et une polymérisation homogènes.

Dans les applications pratiques, les surfaces à traiter sont plus grandes, ce qui se traduit par un accroissement du temps de traitement et se répercute sur les coûts (**Audisio & al., 1999**).



**Fig.1.9.** Principe de l'implantation d'ions et distribution schématisée des ions dans le matériau cible (**Sarrazin & al ., 2000 ; Torregrosa, 2004**).

### I.3.2.2. Fonctionnement d'un implanteur d'ions

Les implantateurs classiques sont constitués d'une source d'ions créés à partir d'un plasma formé avec des composés gazeux, ou d'éléments métalliques vaporisés ou pulvérisés. Les éléments à implanter sont introduits dans la chambre d'ionisation sous forme de composés gazeux. Dans le cas des espèces métalliques, les composés peuvent être obtenus par chloruration : le passage du gaz réactif ( $Cl_2$ ) sur le métal placé dans un creuset produit, du fait des températures élevées atteintes dans la chambre, des composés volatils, qui sont ensuite dissociés et ionisés au niveau du filament. Un analyseur magnétique opère un tri en sélectionnant la masse de l'espèce voulue à une énergie donnée. Par la suite, le faisceau d'ions est extrait de la source, focalisé, dans la plupart des cas par un jeu de « lentilles électrostatiques » puis accéléré à une énergie intermédiaire (10 à 40 keV), l'accélération est donnée par une série d'électrodes portées à un potentiel croissant. Un analyseur magnétique (aimant) assure un tri des ions en sélectionnant la masse de l'espèce voulue à une énergie donnée pour subir l'accélération finale. Cette dernière se situe entre 10 et 400 keV pour les équipements d'implantation classiques. Le faisceau est ensuite balayé sur la surface du matériau soit électrostatiquement, soit mécaniquement par déplacement du porte échantillon, de manière à assurer un traitement uniforme. Les pièces à traiter sont généralement fixées sur des montages refroidis pour évacuer l'énergie thermique apportée par le faisceau d'ions (**CETIM, 1994**).

L'implantation est effectuée sur des pressions résiduelles (sous vide) de l'ordre de  $10^{-4}$  Pa. Les courants de faisceau délivrés varient de quelques microampères à quelques milliampères.

Au delà de ces éléments, l'implanteur peut comporter d'autres fonctions, à savoir, un compteur d'ions pour arrêter l'opération quand la dose visée est atteinte, dispositifs pour chargement et déchargement des pièces, système de pompage permettant l'obtention

d'un vide poussé et électronique de commande et de contrôle de l'ensemble de la machine.

Les paramètres qui peuvent être réglés sur la machine sont l'énergie des ions (de 0 à 200 keV), le courant de faisceau fourni par l'implanteur ainsi que la dose des ions par unité de surface en ions/cm<sup>2</sup> qui est proportionnelle à la durée et au courant d'implantation (**IBS, 2004**). Les paramètres des surfaces traitées sont représentés par la profondeur d'implantation (Rp) qui est directement liée à l'énergie des ions et à leur masse atomique, ainsi qu'à celle des atomes de la cible, et la concentration, définie en atomes/cm<sup>3</sup> qui est directement liée à la dose (**CETIM, 1994**).

### 1.3.3. Domaines d'application

Actuellement, les principaux domaines d'application de l'implantation d'ions sont l'outillage, les roulements, les dispositifs de guidage et d'étanchéité, ainsi que le biomédical (**CETIM, 1994**). Dans le domaine de la protection à température élevée, seule l'industrie électronucléaire envisage quelques applications (**Sarrazin & al., 2000**).

L'application de cette technique touche plusieurs matériaux : métaux (aciers à outils et inoxydables, alliages de titane et de cobalt), céramiques et composites ainsi que les polymères. Toutefois les quantités d'éléments d'alliage nécessaires pour modifier de façon significative leurs propriétés sont beaucoup plus élevées que celles nécessaires pour les semi conducteurs ; typiquement de 1 à 20 at %, ce qui correspond à des fluences importantes, de 10<sup>16</sup> à 10<sup>18</sup> ions.cm<sup>-2</sup> (**CETIM, 1994**).

#### 1.3.3.1. Application dans le dopage des semi conducteurs

L'implantation d'ions est utilisée avec succès à l'échelle industrielle pour introduire de petites quantités (10<sup>11</sup> à 10<sup>14</sup> ions.cm<sup>-2</sup>) d'éléments d'addition dans les semi conducteurs afin de modifier de façon contrôlée leurs propriétés électroniques. C'est le cas du transistor J.FET (abréviation de Jonction Field Effect Transistor) où le dopage est réalisé avec des fluences de 10<sup>16</sup> ions.cm<sup>-2</sup> de silicium et une concentration de 10<sup>17</sup> à 10<sup>18</sup> ions.cm<sup>-3</sup> en arsenic ou phosphore.

#### 1.3.3.2. Applications dans le domaine mécanique et métallurgique

L'implantation d'ions s'est développée dans le domaine de la mécanique en raison de deux avantages essentiels, liés à l'absence de déformations et d'interface, ainsi qu'au dépassement des solubilités limites superficielles régies par les diagrammes d'équilibre et les lois de diffusion.

Ainsi, l'accroissement du coût de remplacement et le besoin d'obtenir une augmentation de la durée de vie des roulements a conduit les fabricants à s'intéresser à l'implantation d'ions qui limite les principales causes de destruction des roulements : corrosion par piqûres (introduction d'ions favorisant la formation d'un film passif protecteur, ou d'amorphiser les surfaces ainsi de supprimer les joints des grains métalliques qui sont plus sensibles à la corrosion), usure par glissement et grippage, fatigue de contact.

Pour les métaux, il faut utiliser des concentrations atomiques importantes de l'ordre de 20 % (10<sup>17</sup> à 10<sup>18</sup> ions.cm<sup>-2</sup>) pour modifier la microstructure et les propriétés mécaniques. Concernant les céramiques qui sont des matériaux particulièrement fragiles, la plupart des ruptures s'amorcent en surface. Il est possible de les consolider (SiC, Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>, etc) par implantation d'ions métalliques (CR, Ti, Zr, Fe, etc). Pour les polymères, les modifications appliquées aux liaisons sous l'effet de l'énergie apportée par les ions, induisent des modifications de propriétés de surface ce qui provoque des réticulations. Les principaux

effets sont l'augmentation de la tenue au vieillissement, de la conductivité électrique rendant les polymères semi-conducteurs voire conducteurs, l'amélioration des propriétés mécaniques, chimiques, optiques.

### I.3.3.3. Applications dans le domaine biomédical

Les biomatériaux utilisés en chirurgie ostéo- articulaire se dégradent comme toutes les pièces mécaniques : l'émission de débris d'usure et de corrosion dans les implants articulaires est la source de réactions locales avec l'organisme dont les conséquences peuvent être d'une gravité extrême; la biocompatibilité est également recherchée. Ces prothèses sont généralement fabriquées dans des alliages de titane ou de cobalt-chrome ayant de bonnes propriétés mécaniques, de corrosion et de faible densité. L'amélioration de la résistance est atteinte par implantation d'azote.

### I.3.4. Description des principaux mécanismes consécutifs à l'implantation d'ions et leurs effets sur le matériau traité

#### I.3.4.1. Mécanismes liés à l'implantation d'ions

Au cours de l'implantation d'ions qui se déroule dans une décharge électrique luminescente anormale, plusieurs phénomènes surviennent, et déterminent la distribution des ions implantés non rétrodiffusés en profondeur du matériau traité, et cela en fonction des processus de perte d'énergie qui ralentissent l'ion le long de son parcours. Cette perte d'énergie se fait selon deux types de collisions décrits par la théorie de LSS (Lindhard, Scharff, Schiott) (**Booth, 1984 ; CETIM, 1994 ; Audisio & al., 1999**) :

- les collisions nucléaires ou élastiques qui sont directes avec les atomes du matériau (noyaux plus ou moins masqués par leur nuage électronique) et qui donnent lieu à des changements rapides de quantité de mouvement (direction et déplacement) ainsi que des transferts importants d'énergie cinétique et enfin l'implantation des particules incidentes lorsque elles n'ont plus l'énergie suffisante pour assurer de nouveaux déplacements.

- Collisions électroniques ou inélastiques qui se font avec le cortège électronique, elles peuvent être traitées comme une force de frottement sur la particule en mouvement. Dans les métaux et les semi-conducteurs, ces collisions ne contribuent pas, en général, aux déplacements atomiques.

Une décharge électrique luminescente anormale (brillante) (**Booth, 1984 ; Audisio & al., 1999**) (Fig.I.11) est amorcée et entretenue dans une atmosphère sous pression réduite, généralement comprise entre 0.1 et 10 Pa par l'application d'une différence de potentiel suffisante entre une cathode (ou cible), et une anode pouvant être constituée par les parois du réacteur. L'émission de matière à partir de la cathode soumise au bombardement par les ions positifs créés dans la décharge (exemple: ions  $Ar^+$ ) constitue le phénomène de pulvérisation.

L'interaction d'un ion avec une surface engendre plusieurs réactions (Fig.I.10) :

- pulvérisation de particules neutres ;
- éjection d'électrons secondaires ;
- implantation d'ions incidents ;
- réflexion ou rétrodiffusion des ions incidents neutralisés dans le processus ;
- relaxation et réarrangement structural du matériau cible.

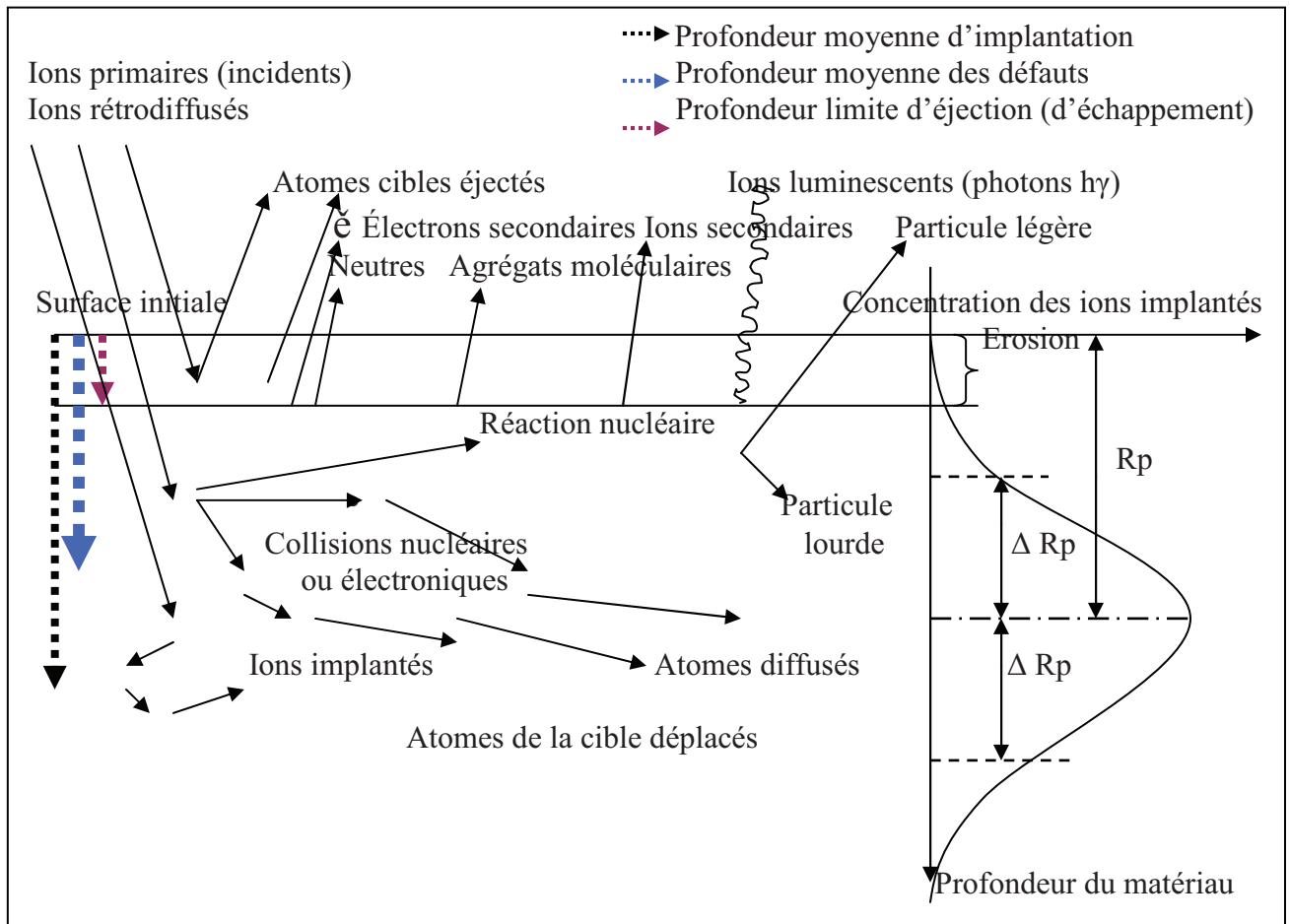
La pulvérisation qui se traduit par l'éjection d'un atome ou d'un groupement d'atomes appartenant au matériau cible est le résultat de plusieurs mécanismes de collisions (collisions simples, en cascade linéaires ou de pointes thermiques).



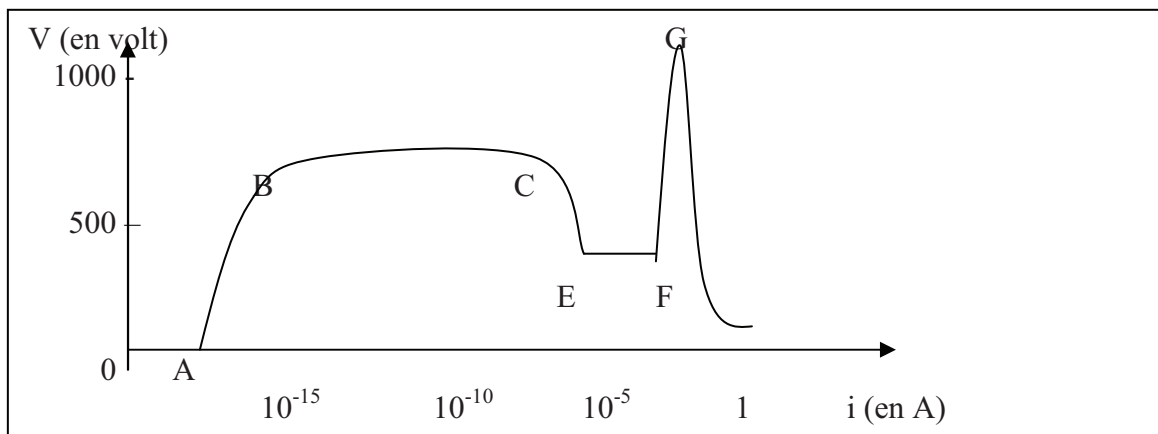
## Traitement de surface par implantation d'ions

La figure suivante illustre les caractéristiques typiques d'une décharge lumineuse utilisée dans le procédé d'implantation d'ions.

La figure suivante schématise les phénomènes de surface en implantation d'ions.



**Fig.I.10.** Représentation schématique des phénomènes d'interaction entre les ions incidents et la matière lors d'une implantation d'ions et le profil de concentration associé (Booth, 1984 ; Audisio & al., 1999 ; CETIM, 1994).



**Fig.I.11.** Caractéristiques courant tension d'une décharge. AB : décharge non autonome, BC : décharge sombre de Townsend, EF : décharge lumineuse normale, FG : décharge lumineuse anormale, au-delà de G : décharge d'arc (Booth, 1984 ; Audisio & al., 1999 ).



## Traitement de surface par implantation d'ions

La dose d'implantation est définie par la fluence et correspond au nombre total d'ions implantés par unité de surface :

$$\Phi \text{ (ions/unité de surface)} = I \cdot t / q \cdot A$$

I étant le courant planteur, t le temps d'implantation, q la charge de l'électron et A la surface d'implantation.

On peut ainsi définir la vitesse de pulvérisation ou d'érosion de la cible qui s'exprime par la relation :

$$V_{pc} = A_c \cdot Y \cdot \Phi^+$$

où  $A_c$  représente l'aire érodée de la cible et  $\Phi^+$  le flux ionique par unité de surface et de temps. On a :  $\Phi^+ = j^+ / e = I^+ / A_c \cdot e$

où  $J^+$  et  $I^+$  représentent la densité de courant et le courant ionique sur la cible. Ce dernier s'exprime en fonction du courant de décharge I et du coefficient d'émission électronique secondaire  $\epsilon$  par la relation :  $I^+ = I / (1 + \epsilon)$

On déduit ainsi l'expression de la vitesse de pulvérisation :  $V_{pc} = I \cdot Y / [e (1 + \epsilon)]$

Les ions possédant une énergie supérieure à quelques centaines d'eV (500 eV à 300 keV) peuvent traverser la surface en provoquant une succession de collisions avec les atomes du matériau. Sous l'effet de ces collisions, les ions ont une trajectoire en «zigzag» mais à chaque collision les atomes heurtés peuvent reculer et entrer eux-mêmes en collision avec d'autres atomes ; un seul ion d'une centaine de keV peut rencontrer une bonne centaine d'atomes et provoquer, directement ou indirectement, la formation d'un millier de défauts cristallins (lacunes et interstitiels). Par ailleurs, si le faisceau ionique est suffisamment intense, des atomes superficiels seront éjectés, c'est le phénomène de pulvérisation. Le taux (rendement) de pulvérisation,  $Y_p$  défini par le rapport du nombre d'atomes pulvérisés de la cible à celui du nombre d'ions incidents, peut être voisin de 1, c'est-à-dire que pour chaque ion incident, on aura un atome éjecté ; on peut l'exprimer plus exactement par :

$$Y_p = K \cdot F_p (M_i, M_m, \theta) S (E_0) / E_L$$

$E_L$  : énergie de liaison des atomes de la cible

$F_p$  : fonction de pulvérisation dépendant de la masse  $M_i$  des ions incidents, de la masse  $M_m$  des atomes du matériau cible et de l'angle entre les particules incidentes et la normale à la surface.

$S (E_0)$  : pouvoir d'arrêt du matériau pour les ions incidents d'énergie  $E_0$

Le rendement de pulvérisation dépend de l'énergie des ions incidents qui est proportionnelle à la tension cible appliquée, de la nature chimique et cristallographique de la cible, de la nature et de l'angle d'incidence des ions sur la surface de la cible et de son état physicochimique de surface (contamination). La distribution en énergie des atomes pulvérisés dont la vitesse moyenne est de quelques  $\text{Km} \cdot \text{s}^{-1}$  est peu sensible à l'énergie des ions incidents.

La perte d'énergie par unité de longueur, ou pouvoir d'arrêt, s'écrit :

$$-dE / dX = N ((S_n (E) + S_e (E))) = N S (E)$$

où N est la densité atomique de la cible,  $S_n(E)$ ,  $S_e(E)$ , et  $S(E)$  sont les sections efficaces de ralentissement nucléaires, électroniques et totale. Dans le cas d'un matériau polyatomique, la section efficace totale de ralentissement se calcule en faisant la somme pondérée des contributions des différents éléments :

$$S (E) = \sum_i N_i S_i (E)$$

## Traitement de surface par implantation d'ions

La séquence des collisions nucléaires est un processus stochastique et par conséquent les parcours des ions, seront donnés par une distribution de probabilité qui permet de déterminer le profil de concentration (de distribution) des ions implantés. Pour des fluences  $\Phi$  faibles, ce profil peut être représenté par une Gaussienne caractérisée par un parcours projeté  $R_p$  (parcours moyen) et l'écart-type  $\Delta R_p$  (largeur moyenne de distribution) :

$$C(x) = \Phi \cdot \exp\left(-\frac{(x - R_p)^2}{2 \Delta R_p^2}\right) / \sqrt{2 \pi} \cdot N \Delta R_p$$

Dans la pratique, les valeurs de  $R_p$  et  $\Delta R_p$ , ainsi que les profils de concentration se calculent à l'aide de programmes de simulations (codes de calcul basés sur l'approximation des collisions binaires (Méthode Monte Carlo avec code TRIM : Transport of Ions in Matter). On peut calculer des conditions d'implantation « multiénergies » telles que le profil résultant corresponde à une concentration constante. L'énergie transférée par l'ion incident peut parfois excéder une valeur limite qu'on appellera énergie de déplacement  $E_d$ . L'atome heurté peut alors être déplacé. Cet atome peut aussi acquérir suffisamment d'énergie cinétique, pour lui-même déplacer d'autres atomes. On obtient alors des déplacements en cascade et ce tant que les énergies transférées sont supérieures à  $E_d$ . L'énergie transférée  $T$  à un atome cible s'écrit :

$$T = 4 M_1 M_2 E_1 \sin^2(\theta/2) / (M_1 + M_2)^2$$

Les ions implantés provoquent ainsi sur leur passage des cascades de déplacement d'atomes du réseau. Dans le cas de cascades de plusieurs keV, ce qui sera presque toujours le cas, les simulations mettent en évidence à l'issue de la phase collisionnelle une structure désordonnée analogue à celle d'un liquide. Les températures estimées de  $10^3$  à  $10^4$  K dépassent la température de fusion et des vitesses de trempe de  $10^{15}$  K s<sup>-1</sup> sont atteintes (**CETIM, 1994 ; Audisio & al., 1999**).

### I.3.4.2. Effets relatifs à l'implantation d'ions sur l'état de surface du matériau traité

L'analyse des effets de l'implantation d'ions comme traitement de surface concerne les effets chimiques et physiques mesurables, résultants de l'interaction de plusieurs phénomènes microscopiques (**IBP Technologies, 1996**).

Les états obtenus après implantation d'ions ne sont en général pas caractéristiques de l'équilibre thermodynamique. On obtient des états métastables présentant de nombreux défauts (lacunes, interstitiels, etc), des phases microcristallisées voire amorphes ou de solutions solides étendues. Ces effets peuvent être résumés en ce qui suit (**Audisio & al., 1999 ; IBS, 2004**) :

- mise en suspension de la surface implantée ;
- amorphisation et formation de verres métalliques ;
- création de solutions solides sursaturées ;
- précipitation à grains très fins de certaines phases, formées ou déjà présentes ;
- formation d'une couche passivante et/ ou bloquant la diffusion ;
- modification de l'énergie de surface et de l'activité chimique de la surface ;
- modification de la composition et l'état microstructural de la région superficielle, permettant ainsi la modification du mode de déformation en introduisant par exemple des obstacles au mouvement des dislocations : formation d'une seconde phase ou d'une fine dispersion de précipités durs comme les nitrures (augmentation de la dureté) ;

## *Traitement de surface par implantation d'ions*

---

- effets de l'ensemencement entraînant la précipitation à grains fins lors d'un recuit ou de l'usage (élévation de la température au point de frottement ; coefficient du frottement diminué) ainsi que la formation accélérée d'un oxyde protecteur ;
- la modification de la cinétique d'oxydation conduisant à la formation d'un oxyde plus favorable (oxyde isomorphe de l'espèce d'ensemencement).

### I.3.5. Incidence du traitement par implantation d'ions sur les propriétés des matériaux

L'implantation d'ions permet d'obtenir des améliorations importantes et durables de la résistance à l'usure, au frottement et à la corrosion (**Audisio & al., 1999**).

#### I.3.5.1. Résistance au frottement et à l'usure

Cet effet est incontestable et l'amélioration constatée résulte de l'action séparée ou conjuguée de la diminution du coefficient du frottement en relation avec la présence des oxydes superficiels ou de couches amorphes et un renforcement du matériau en liaison avec les contraintes résiduelles de compression et la présence de phases dispersées.

Dans le cas des aciers, l'implantation d'azote améliore les performances des alliages en fonction de leur composition et leur microstructure. Pour les aciers de constitution déjà résistants et utilisés dans des conditions d'usure pas trop sévères, on observe une amélioration vis-à-vis de la tenue à l'usure adhésive et abrasive douce (jusqu'à 20 fois) et de la tenue à l'usure par petits débattements. Les conditions d'implantation et la température d'utilisation des pièces traitées influent sur les améliorations apportées.

Les revêtements de chrome dur utilisés dans les matrices d'extrusion des plastiques, augmentent de durée de vie d'un facteur pouvant aller jusqu'à 10 suite à la résistance à l'usure induite par implantation d'azote. Cette dernière réduit considérablement l'usure du polyéthylène utilisé dans les prothèses en biomédical (avec des pièces antagonistes d'acier ou dans du polyéthylène seul). Ainsi, l'implantation conjointe de titane et de carbone ou de bore et d'azote améliore fortement les propriétés tribologiques de l'acier à roulement (**CETIM, 1994 ; Schmidt, 1999**).

#### I.3.5.2. Tenue à la fatigue et à la fatigue corrosion

##### I.3.5.2.1. Tenue à la fatigue

La résistance à la fatigue est améliorée par implantation d'ions qui, par différents mécanismes, peut réduire, voire éliminer l'amorçage de la fissuration par bandes de glissement dans nombreux matériaux (aciers, alliages de titane, de cuivre, etc). Les augmentations de durée de vie obtenues dans le cas de la fatigue oligocyclique à déformation imposée sont peu spectaculaires car les phénomènes sont essentiellement régis par la propagation de fissures. Par contre, dans le cas de la fatigue à contrainte imposée à grand nombre de cycles, les effets de l'implantation sur la durée de vie sont plus importants et peuvent atteindre 10 à 20 % au niveau de la limite d'endurance dans la cas des alliages de titane avec l'implantation d'azote ou de carbone et environ 10 % pour les aciers implantés d'azote.

##### I.3.5.2.2. Tenue à la fatigue corrosion

L'amorçage et la propagation des fissures de fatigue sont très sensibles à l'effet de l'environnement. Les hétérogénéités de surface liées aux émergences de bandes de glissement ainsi que les microfissures formées au cours des cycles de fatigue sont des sites privilégiés pour l'attaque du milieu corrosif. Comme l'implantation modifie la plasticité des surfaces traitées, notamment l'émergence des bandes de glissement, et

que ce traitement peut améliorer la résistance à la corrosion localisée, il est possible d'envisager une influence favorable sur la tenue à la fatigue corrosion (**Baoyin & al., 2006**). L'implantation d'azote sur les aciers inoxydables, retarde effectivement la formation des premières microfissures à faible taux de déformation, mais le caractère fragile de la zone implantée accélère la phase de propagation de surface. Ici, le traitement étend la plage où le recyclage à faible taux de déformation n'a pas d'effet sur la durée de vie résiduelle. Cette plage correspond à l'arrangement des bandes de glissement et la formation des premières microfissures superficielles dont la taille est inférieure à celle d'un grain.

### I.3.5.3. Tenue à la corrosion

L'implantation de certains ions favorise la protection contre la corrosion, notamment la corrosion par piqûres, ceci est obtenu par la formation d'un film protecteur passif vis-à-vis de la corrosion, ou l'amorphisation des surfaces ainsi que l'élimination des grains métalliques (les joints de grains sont les zones les plus sensibles aux phénomènes de corrosion), la susceptibilité à la corrosion par piqûres est diminuée par implantation de carbone et d'azote sur des aciers au carbone C1018, implantation d'azote sur des aciers austénitiques ainsi que sur des alliages TiNi implantés d'oxygène (**Baker & al., 1998 ; Crone & al., 2003 ; Lei & al., 2005**). Ainsi, l'implantation d'oxygène modifie la structure, la composition et la morphologie de certains alliages (comme le Ti Ni) en induisant par la suite une amélioration de la résistance à la corrosion et même à l'adsorption de protéines (**Albrecht & al., 2002**). Certains éléments limitent l'oxydation à haute température, c'est l'exemple de l'aluminium dans les alliages fer- chrome qui peut diviser le taux d'oxydation à 1100 °C.

L'implantation d'azote des matériaux destinés aux prothèses orthopédiques ; exposées aux risques de la corrosion de contact, constitue une solution pour limiter la fragmentation des oxydes superficiels, mais il est nécessaire d'avoir des doses élevées pour obtenir un effet de durcissement maximum (entre  $4.10^{17}$  et  $2.10^{18}$  ions.cm<sup>-2</sup>) (**Combrade & al., 1994**).

### I.3.6. Avantages et inconvénients de l'implantation d'ions

En raison de ses caractéristiques très particulières de dopage indépendantes de la température et quoiqu'elle a ses inconvénients, l'implantation d'ions présente un certain nombre d'avantages très spécifiques, qui en font un traitement de surface fort attrayant pour certaines applications.

#### I.3.6.1. Avantages de l'implantation d'ions (**CETIM, 1994; Sarrazin & al., 2000; IBS, 2004**)

- L'implantation est un traitement à basse température, qui ne provoque pas de déformation thermique d'où conservation des propriétés du substrat.
- L'absence de variation dimensionnelle et de modification de l'état de surface des pièces traitées, qui peuvent être même des pièces finies au stade final de leur fabrication.
- L'implantation d'ions permet l'introduction de n'importe quelle espèce dans n'importe quel matériau, ceci par la possibilité de dépassement des solubilités limites de l'élément implanté, en introduisant même des éléments peu ou non miscibles dans le substrat, ce qui n'est pas permis par les méthodes thermo-chimiques. Cette technique est ainsi adaptable à tout type de matériau (métaux, céramiques, polymères, etc). Cette caractéristique rend l'implantation à

grand intérêt si l'élément d'addition possède une action localisée sur le processus de corrosion sèche, le cas de ségrégation des implants aux joints de grains et blocage du transport intergranulaire ou à l'interface métal/oxyde et blocage de la réaction interfaciale interne.

- La possibilité de préparer des alliages de surface hors des contraintes thermodynamiques et ainsi l'obtention de structures nouvelles interdites par les lois d'équilibre thermodynamique.
- L'absence d'interface et de surépaisseur, ni de risque de délamination, d'égrènement ou d'écaillage.
- Par rapport aux techniques conventionnelles (l'exemple de nitruration), l'implantation d'ions est un procédé non polluant et consomme peu d'énergie, il peut être donc réalisé à grande échelle et à faible coût.
- L'implantation d'ions est un procédé très simple, il ne présente que quelques paramètres tous facilement reproductibles et contrôlables par un courant et une tension.

### I.3.6.2. Inconvénients de l'implantation d'ions

Le principal inconvénient de l'implantation d'ions est son caractère directif, la surface à implanter devant être externe ou en vue directe du faisceau. Ainsi, le traitement de pièces de géométrie complexe ou d'alésages profonds s'avère délicat. Les faibles épaisseurs traitées (inférieure à 1 $\mu$ m), constituent également une limitation de cette technique pour certaines applications, malgré que les améliorations apportées par l'implantation soient souvent conservées sur des profondeurs supérieures à l'épaisseur traitée (**CETIM, 1994; Sarrazin & al., 2000; IBS, 2004**).

# ***Chapitre II***

## ***Méthodologie expérimentale***



### II.1. Traitement de surface par plasma d'oxygène et caractérisation des éprouvettes d'acier

#### II.1.1. Préparation des éprouvettes d'acier

##### II.1.1.1. Surfaçage, découpage et percement des éprouvettes d'acier

L'acier utilisé pendant cette étude est un acier au carbone de nuance API 5L X52. Cette nuance est d'utilisation courante dans la confection des installations pétrolières (**Feugeas & al., 1997**). Ainsi, le choix de cette nuance est motivé par son utilisation très répandue dans les installations du groupe SONATRACH, dans le transport et le stockage des hydrocarbures et des eaux de production et d'injection. L'échantillon d'acier a été fourni par le Service Inspection du champ de Bir Sif Fatima (BRN), du groupement SONATRACH/ AGIP.

Les pièces d'acier ont été usinées comme suit (**ASTM G 1- 03, 2003 ; ASTM G 31-72, 1999 ; Comité des techniciens IFP, 1969**):

- découpage de pièces d'acier de 70 x 120 mm à partir d'un pipe de 20,32 cm (8 pouces) de diamètre: le découpage est effectué par un moyen mécanique.
- Surfaçage des pièces d'acier à l'aide d'une surfaceuse plane en une épaisseur de 3 mm : dans la majorité des essais de corrosion, une épaisseur des éprouvettes de 2 mm est recommandée. L'épaisseur ne doit pas être trop faible, surtout si la corrosion risque d'être importante et si l'essai doit être de longue durée.
- Découpage des pièces obtenues en des éprouvettes de 10 x 10 x 3 mm, à l'aide d'une tronçonneuse de marque LECO: les dimensions des éprouvettes ont été choisies selon les possibilités de mise en place, surtout pour la conduite des essais de traitement de surface par plasma d'oxygène. Il est à noter que les éprouvettes ne doivent pas être trop petites pour permettre une appréciation suffisante de la surface ; pour diminuer l'erreur sur la mesure de la perte de poids ; et pour réduire au maximum l'effet néfaste des bords. Les éprouvettes ne doivent pas être trop grandes pour en permettre une pesée précise ; pour en faciliter la préparation ; et pour ne pas apporter de perturbation dans la solution d'essai. Le rapport longueur/largeur sera compris entre 1 et 4.
- Perçage des éprouvettes au niveau de l'angle à l'aide d'une perceuse de marque V-HOMIENNE (trou d'environ 1 mm de diamètre).

##### II.1.1.2. Préparation de surface des éprouvettes d'acier par polissage

La préparation de surface des éprouvettes est faite par polissage mécanique à l'aide d'une polisseuse de marque LECO, avec du papier émeri SiC (papier abrasif au carbure de silicium) de granulométrie décroissante (180 µm) P80, (106 µm) P120, (52,2 µm) P280, (25,8 µm) P600, (21,8 µm) P800 puis (15,3 µm) P1200. Pour atteindre l'aspect miroir, les éprouvettes d'acier sont finalement polies à l'alumine à une granulométrie de 1 µm. Les éprouvettes sont ensuite rincées à l'eau suivi d'un passage dans un solvant approprié (méthanol ou acétone ou mélange de 50 % de chaque). Les éprouvettes sont enfin séchées sous un courant d'air chaud (**ASTM G 1- 03, 2003 ; ASTM G 31-72, 1999**). L'aspect miroir est important pour la conduite des essais de corrosion et pour l'analyse microstructurale, ainsi, il assure l'homogénéité nécessaire pour le traitement de surface par plasma (**Benarioua & al., 2005 ; Lei & al., 2005**).

Afin d'éviter la formation de rouille due à l'humidité atmosphérique au cours du stockage, les éprouvettes sont enveloppées dans du papier filtre, puis introduites dans des pochettes en polyvinyle contenant du silicagel et soigneusement fermées. L'ensemble



est mis dans un dessiccateur contenant du silicagel. Cette méthode de conservation évite le dégraissage des éprouvettes avant leur mise en place (**ASTM G 1- 03, 2003 ; ASTM G 31-72, 1999**). La pesée des éprouvettes est faite à l'aide d'une balance analytique SARTORIUS type M2P sensible au 1/100 de milligramme (ou une balance analytique METTLER type PM 200 sensible au 1/100 de gramme). Les éprouvettes obtenues sont des parallélépipèdes irréguliers, leur surface totale est mesurée à l'aide d'un pied à coulisse électronique au 1/100<sup>e</sup> du mm près.

### II.1.2. Caractérisation des éprouvettes d'acier avant et après traitement de surface

La caractérisation des éprouvettes d'acier est faite par plusieurs méthodes d'investigation

#### II.1.2.1. Observation au microscope métallographique

- Le principe de la méthode est présenté en annexe n°2.
- Procédure : les micrographies des éprouvettes d'acier sont prises à l'aide d'un microscope métallographique de marque OLYMPUS. Pour une telle observation, il faut que l'échantillon soit plan, réfléchissant et poli soigneusement.

#### II.1.2.2. Observation au Microscope Electronique à Balayage avec analyse EDS

- Le principe de la méthode est présenté en annexe n°2.
- Procédure : les échantillons d'acier observés au MEB, doivent présenter des dimensions égales à celles du porte échantillon (plot) qui est de l'ordre de 12 mm de diamètre. L'épaisseur des échantillons doit être faible (5 mm au maximum). L'échantillon est collé sur le plot par de la laque d'argent. Les surfaces d'objets observés au MEB doivent être électriquement conductrices pour éviter les charges électriques à la surface des échantillons, en plus, la conductivité électrique fait augmenter l'émission d'électrons ce qui améliore la qualité de l'image.

Les échantillons d'acier neufs et ceux traités par plasma d'oxygène, sont observés directement au MEB sans préparation préalable de surface. L'analyse des échantillons est faite à l'aide de deux microscopes électroniques à balayage : PHILIPS X.P 20 et JEOL JSM-63 60 LV. La microanalyse est faite à l'aide d'un système d'Energy Dispersiv Spectrometer de type EDAX.

#### II.1.2.3. Analyse par fluorescence des rayons X

- Le principe de la méthode est présenté en annexe n°2.
- Procédure : les échantillons d'acier sont placés directement sur le porte échantillon et analysés par fluorescence des rayons X. L'analyse des échantillons est faite à l'aide d'un spectromètre à fluorescence X à dispersion de longueur d'onde SRS 3400 type BRUKER axs. Le logiciel d'analyse est dénommé Spectra 3000.

#### II.1.2.4. Analyse par diffraction des rayons X

- Le principe de la méthode est présenté en annexe n°2.
- Procédure : les échantillons d'acier sont mis directement sur le porte échantillon du diffractomètre. Le diffractomètre utilisé est un PHILIPS-PW 1800 équipé d'un tube à rayons X anode en cuivre. Les conditions d'analyses sont:

Angle de départ [ $2\theta$ ]: 3,0200

Angle final [ $2\theta$ ]: 79,9800

Pas [s]: 1,0000

Type du pas : continu

Intensités: 40 mA, 40 kV

L'interprétation est faite à l'aide d'un logiciel dénommé « High Score de panalytical ».

### II.1.2.5. Analyse de la microstructure de l'acier API 5L X52 par attaque chimique

Afin d'identifier les constituants de l'acier étudié, ce dernier est préparé par polissage, ensuite, une micro attaque chimique est appliquée immédiatement après le dernier polissage. La solution d'attaque utilisée pour la révélation de la microstructure des aciers au carbone, est une solution NITAL à une concentration de 1 à 3 %  $\text{HNO}_3$  dans l'éthanol ou le méthanol. Dans notre cas, l'attaque est faite par une solution de 1 %  $\text{HNO}_3$  dans l'éthanol absolu pendant 50 secondes. L'échantillon est immédiatement rincé à l'eau distillée, desséché à l'air chaud et observé au microscope métallographique de marque OLYMPUS au grossissement x100 (**ASM HANDBOOK, 1985**).

### II.1.2.6. Mesure de la microdureté

La mesure de la microdureté correspond en pratique à celle de la résistance à la pénétration locale du matériau considéré. La dureté renseigne sur l'évolution des propriétés des pièces métalliques et elle permet d'apprécier la résistance mécanique et la résistance à l'abrasion. Les méthodes de microdureté, permettent la mesure de la dureté des couches minces ou superficielles.

- Principe : un pénétrateur suffisamment dur (diamant) pour ne pas être déformé par le matériau à essayer et de forme pyramidale à base carrée, est enfoncé dans le métal par l'action d'une force constante appliquée dans des conditions bien définies. La longueur de la diagonale de l'empreinte laissée par la pyramide est ensuite mesurée, grâce à un microscope micrométrique lié à la machine et la microdureté est lue directement sur le tableau de la dureté Vickers.

La relation appliquée pour cette mesure est la suivante :

$$H_v = 1,8544 \cdot P / d^2$$

( $H_v$ : dureté Vickers, P : charge appliquée en kg, D : diamètre de l'empreinte de la pyramide)

La valeur de la dureté obtenue par cette relation n'est pas constante et dépend de la charge appliquée donc du choix de la gamme de charges (**Francois, 1984**).

- Procédure : dans notre étude, la dureté par indentation perpendiculaire (indentation en surface) est mesurée. L'essai de dureté Vickers est fait par pénétration à l'aide d'un microduromètre de marque SCIMADZU type VICKERS-HMV-M.

L'éprouvette d'acier est placée sous l'objectif du microduromètre et une observation de la microstructure de la surface, est faite afin de choisir un endroit représentatif sur la surface. La charge choisie est enfoncée sur la surface et les diagonales de l'empreinte obtenue sont mesurées à l'aide des réglettes du microduromètre. La dureté est directement lue sur le tableau de la dureté Vickers.

### II.1.3. Traitement des éprouvettes d'acier dans un plasma d'oxygène

#### II.1.3.1. Définition d'un plasma

Dans les conditions usuelles, un milieu gazeux ne permet pas la conduction de l'électricité. Soumis à un champ électrique faible, un gaz pur est un isolant parfait, du fait qu'il ne contient aucune particule chargée libre (électrons ou ions positifs).

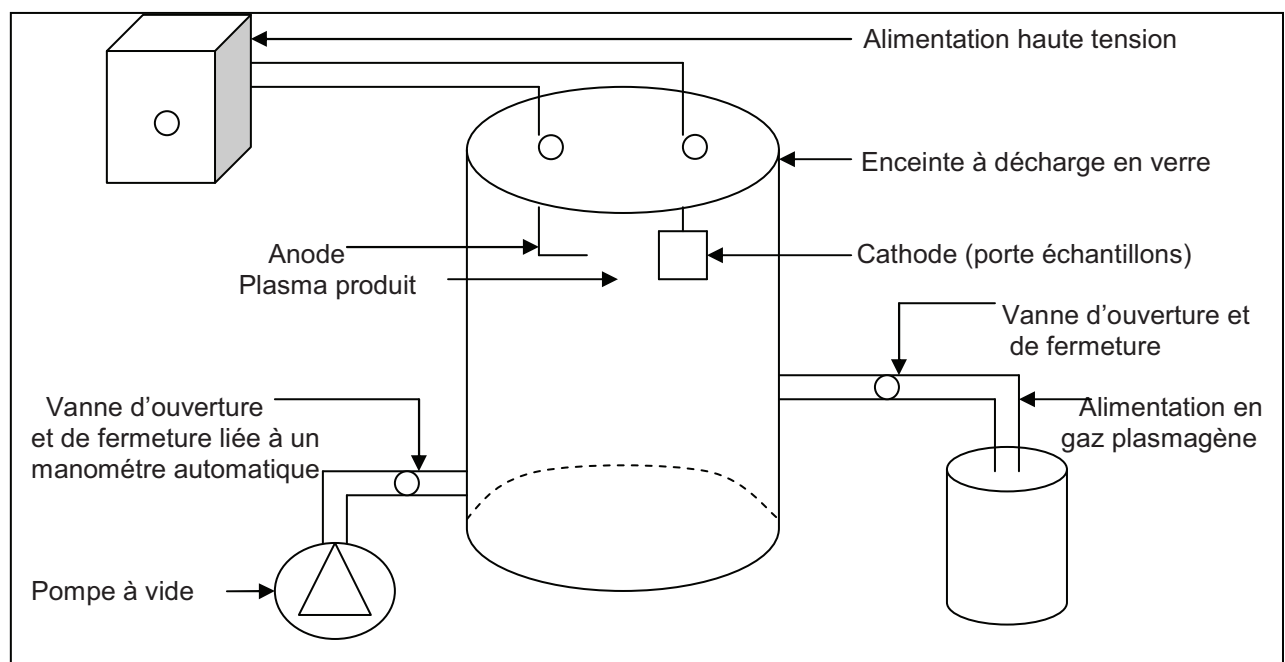
Des électrons libres et des ions positifs peuvent cependant apparaître (être créés), si le gaz est soumis à un champ électrique de forte intensité ; à des températures suffisamment élevées ; à un bombardement de particules ou encore s'il est soumis à un

champ électromagnétique très intense. Lorsque l'ionisation est assez importante, pour que le nombre d'électrons par unité de volume soit comparable à celui des molécules neutres, le gaz, devenu plasma, est un fluide très conducteur. Un plasma est défini comme un état gazeux de la matière dans lequel, une partie ou la totalité des atomes ou des molécules sont dissociés pour former les ions. Le plasma consiste en une « soupe » de particules neutres, d'ions et d'électrons. Le plasma existe en trois catégories ; plasma chaud (plasma de fusion) où le gaz est complètement ionisé (équilibre thermodynamique); plasma thermique (arc électrique) où le gaz est presque totalement ionisé (équilibre thermique) ; et plasma dit « froid » quand il est obtenu par décharge électrique dans un gaz faiblement ionisé (plasma hors équilibre) (Sikilli, 1991 ; CETIM, 1994 ; Lin & al., 2006).

### II.1.3.2. Description du dispositif expérimental et conduite de traitement de surface

Le traitement de surface des éprouvettes d'acier par plasma d'oxygène, est réalisé à basse température (température ambiante), par décharge électrique lumineuse, entre deux électrodes montées dans une enceinte cylindrique en verre (tube de décharge) (30,9 cm de diamètre, 30,3 cm de hauteur) contenant un gaz oxygéné (gaz plasmagène) sous vide primaire de l'ordre de  $8,3 \cdot 10^{-2}$  torr, affiché par un manomètre automatique de marque THYRACONT. Le vide est créé à l'aide d'une pompe primaire à palette de marque BEAUDOUIN-moteur SEGAL. La cathode présentée par le porte échantillon se situe à 10 cm du périmètre de l'enceinte, et l'anode présentée par le couvercle supérieur de l'enceinte (plus précisément ; l'emplacement du fil bombardant sur le couvercle) se situe à 8,5 cm du périmètre de l'enceinte. La distance entre les deux électrodes est de 13 cm (Fig.II.1).

Dès que la pression voulue est atteinte, une haute tension de 1000 V est appliquée entre le porte échantillon et le couvercle métallique supérieur de l'enceinte. Le courant continu utilisé est de l'ordre de 15 mA.



**Fig.II.1.** Schéma décrivant le dispositif expérimental du traitement de surface par plasma d'oxygène.

Les éprouvettes d'acier sont placées sur le porte échantillon, la pression à l'intérieur de l'enceinte est abaissée par pompage (l'enceinte est soigneusement fermée pour qu'il n'y ait pas de fuites). Pratiquement, après avoir réalisé un niveau de vide inférieur à celui nécessaire au fonctionnement, on introduit le gaz plasmagène pour atteindre une pression de l'ordre de  $10^{-1}$  à  $10^{-2}$  torr. La durée du traitement est fixée à 52 heures.

A la fin du traitement, et une fois que la pression à l'intérieur de l'enceinte soit égale à la pression atmosphérique (par dépression), les échantillons d'acier traités sont retirés de la machine puis stockés de la même manière que les échantillons neufs.

### II.1.4. Evaluation du traitement de surface par plasma d'oxygène

#### II.1.4.1. Essai de résistance des aciers à la corrosion par piqûres

Des essais de résistance à la corrosion, des aciers en solution de chlorure ferrique sont réalisés. Le milieu d'essai est une solution de chlorure ferrique, préparée en dissolvant 100 g du réactif « chlorure ferrique » ( $\text{Fe Cl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ ) dans 900 ml d'eau distillée. Les éprouvettes d'aciers utilisées ont les mêmes dimensions et leurs surfaces sont bien finies. Les essais sont réalisés dans des erlens Meyer de 1000 ml, remplis de 600 ml de la solution de  $\text{Fe Cl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ , à des températures de  $22 \pm 2$  °C et de  $50 \pm 2$  °C. Un volume de solution d'au moins de 20 ml par  $\text{cm}^2$  de surface d'acier est respecté (**ASTM G 48-92, 1992 ; Eschler & al., 2001**).

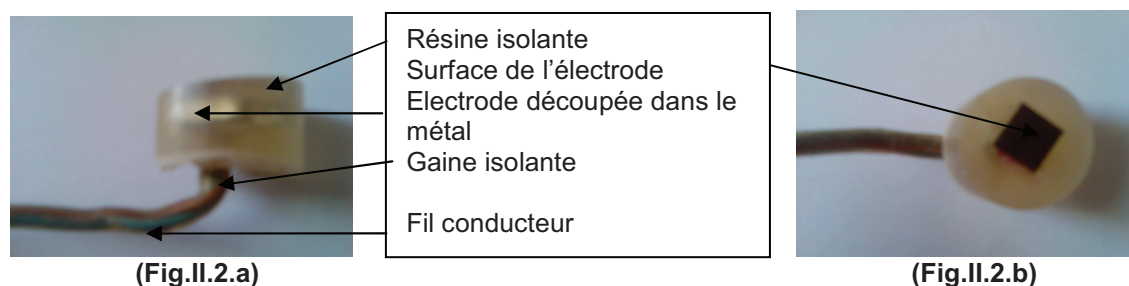
Les éprouvettes d'acier traitées et non traitées par plasma d'oxygène, sont ensuite placées dans les erlens, pendant une durée de 2 heures. A la fin du test, les éprouvettes sont enlevées de la solution, rincées à l'eau distillée, nettoyées sous jet d'eau avec une brosse fine en plastique pour éliminer les dépôts de corrosion, plongées dans l'éthanol, puis desséchées à l'air chaud.

Chaque éprouvette est ensuite pesée à l'aide d'une balance analytique SARTORIUS type M2P sensible au 1/100 de milligramme (ou une balance analytique METTLER type PM 200 sensible au 1/100 de gramme). L'examen de l'état de surface des éprouvettes est faite à l'aide d'un microscope métallographique de marque OLYMPUS, équipé d'un logiciel analyseur d'images dénommé ANALYSIS. Un logiciel de traitement de phase dénommé ATLAS est utilisé pour l'évaluation de la corrosion par piqûres (**ASTM G 46-94, 1999**).

#### II.1.4.2. Essais de corrosion par les méthodes de mesure électrochimiques

##### II.1.4.2.1. Préparation des électrodes de travail et du milieu corrosif

Les électrodes de travail utilisées pour cette étude sont découpées dans un acier au carbone de nuance API 5L X52. Les pièces d'acier sont reliées à un fil conducteur et enrobées de résine isolante (Fig.II.2).



**Fig.II.2.** Schéma de l'électrode de travail: vue de profil (a) et vue de face (b).

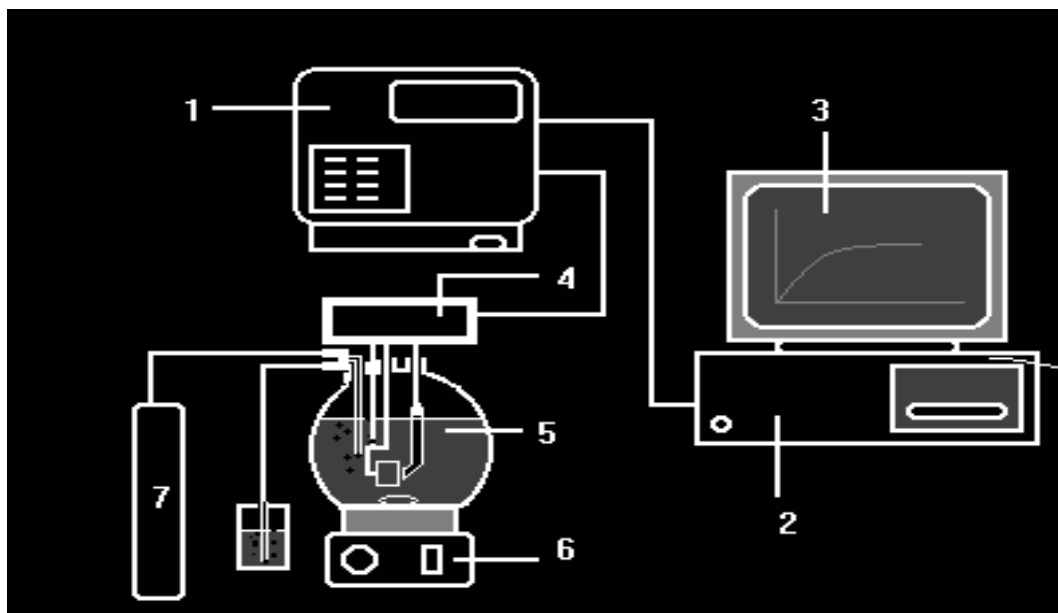
Le polissage des électrodes est fait au papier émeri SiC d'une granulométrie de (106  $\mu\text{m}$ ) P120 à l'aide d'une polisseuse de marque LECO. Les électrodes sont ensuite rincées à l'eau suivi d'un passage dans un solvant approprié, puis elles sont séchées sous un courant d'air chaud (**ASTM G 31-72, 1999 ; ASTM G 1-03, 2003**). Pour l'essai électrochimique de l'électrode sans traitement de surface, l'électrode est utilisée immédiatement après préparation. Afin de tester le revêtement résultant du traitement par plasma d'oxygène, une électrode est placée dans le dispositif d'implantation.

Les essais électrochimiques sont réalisés dans une cellule contenant 700 ml d'un milieu très corrosif, soit une solution aqueuse de chlorure de sodium à 3,5 % et à pH 7,5 (**ASTM G 78-89, 1989**). Cette solution est désaérée par barbotage d'azote et agitée en continu. Les essais sont réalisés à une température de 25 °C et sous pression atmosphérique.

### II.1.4.2.2. Montage de la chaîne électrochimique utilisée

Le montage utilisé est une chaîne électrochimique de corrosion, constituée d'un ensemble d'équipements de mesure (Fig.II.3). Ce montage comprend :

- une cellule électrochimique en verre de forme sphérique, munie de cinq orifices par où sont introduites les électrodes (de travail, de référence et auxiliaires) et le système de barbotage pour la désaération de la solution (Fig.II.4);
- un potentiostat - galvanostat EG&G modèle 273A, qui permet de mesurer des potentiels électriques et des courants stables dans les domaines cathodiques ;
- un système d'acquisition (micro-ordinateur), relié au potentiostat - galvanostat, équipé du logiciel M352/252 de EG&G, qui pilote les essais électrochimiques, trace les courbes expérimentales et calcule les différents paramètres électrochimiques ;
- un électromètre : élément canalisant les différents branchements électriques reliés aux électrodes, de la cellule vers le Potentiostat - Galvanostat.



**Fig.II.3.** Schéma général de la chaîne électrochimique de corrosion.

1. Potentiostat-Galvanostat  
2. Unité centrale du PC  
3. Ecran

4. Electromètre  
5. Cellule à 03 électrodes  
6. Agitateur magnétique

7. Bouteille d'azote

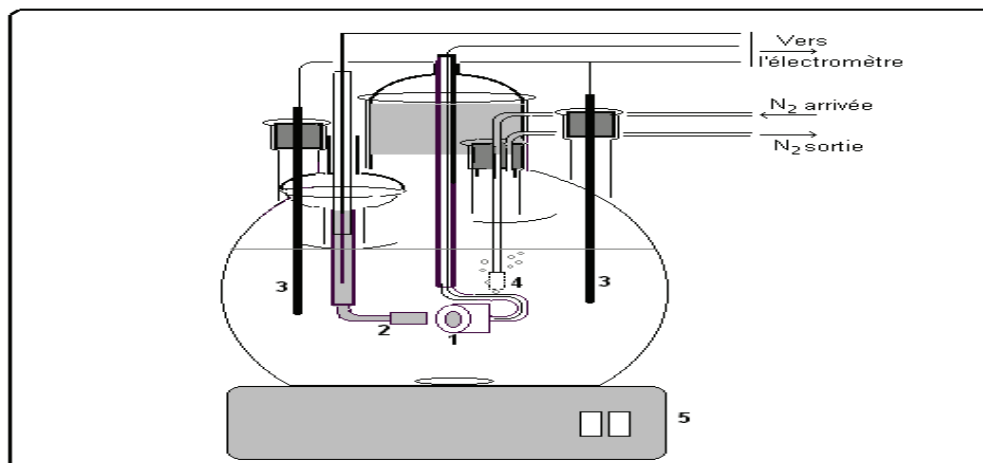


Fig.II.4. Schéma de la cellule électrochimique utilisée.

- |  |                                   |
|--|-----------------------------------|
| 1. Electrode de travail                    | 4. Système de barbotage à l'azote |
| 2. Electrode de référence à calomel saturé | 5. Agitateur                      |
| 3. Contre électrode                        |                                   |

La caractérisation des électrodes est faite par différentes mesures électrochimiques

#### II.1.4.2.3. Potentiel de corrosion à l'abandon

Ce potentiel de corrosion est mesuré dans les conditions de l'essai sans imposition de courant. L'évolution du potentiel de l'électrode est suivie en fonction du temps et à circuit ouvert. Au bout d'un certain temps, le potentiel se stabilise à une valeur qui correspond au potentiel de corrosion ( $E_{cor}$ ). Ce potentiel est appelé aussi potentiel réversible  $E_{rev}$ . Si le potentiel  $E$  d'une électrode diffère de son potentiel au repos  $E_{rev}$ , la surtension ( $\eta = E - E_{rev}$ ) indique le passage d'un courant anodique à travers l'interface électrode - solution, si elle est positive ; et un courant cathodique si elle est négative. La connaissance de la valeur du potentiel à l'abandon d'un matériau est nécessaire pour définir le domaine de balayage des potentiels lors des essais de polarisation potentiodynamique (Allen & al., 1983). Les conditions de mesure sont données par la figure suivante (Fig.II.5).

Fig.II.5. Conditions de mesure du potentiel à l'abandon.



Quand il s'agit d'une corrosion uniforme d'un matériau dans un milieu liquide, l'évaluation rapide de la vitesse de corrosion peut se faire par deux méthodes électrochimiques:

- la mesure de la résistance de polarisation ;
- l'extrapolation des droites de Tafel.

#### II.1.4.2.4. Mesure de la résistance de polarisation

Cette technique consiste à polariser l'électrode de travail de quelques millivolts ( $\pm 20$  mV), anodiquement et cathodiquement de part et d'autre du potentiel de corrosion (**Allen & al., 1983**). Le balayage du potentiel se fait du domaine anodique vers le domaine cathodique à une vitesse de 0.16 mV/sec. La technique permet de déterminer la résistance de polarisation  $R_p$ , la vitesse de corrosion  $V_{cor}$ , et le courant de corrosion  $I_{cor}$ . Les conditions de mesure sont données par la figure suivante (Fig.II.6).

**Fig.II.6.** Conditions de mesure de la résistance de polarisation linéaire.

#### II.1.4.2.5. Extrapolation des droites de Tafel

Lors d'une réaction d'électrode simple, la relation entre la densité du courant et le potentiel appliqué à l'électrode est donnée par l'équation de Butler-Volmer (équation 5) (**Tafel & al., 1905**). Le développement de cette équation ne va pas être décrit en entier. Une écriture simplifiée de cette équation, peut se présenter sous la forme :

$$i = i_0 C_{red,s} / C_{red,b} \exp.(\eta/\beta_a) - i_0 C_{ox,s} / C_{ox,b} \exp.(-\eta/\beta_c) \quad [1]$$

où :

$i$  = densité du courant

$i_0$  = densité de courant d'échange à l'équilibre

$C_{red,s}$  et  $C_{red,b}$  = concentration de l'espèce impliquée dans la réaction de transfert de charges, sous forme réduite à la surface de l'électrode (indice s) et dans la solution (indice b)

$C_{ox,s}$  et  $C_{ox,b}$  = concentration de l'espèce impliquée dans la réaction de transfert de charges, sous forme oxydée à la surface de l'électrode (indice s) et dans la solution (indice b)

$\eta$  = surtension d'activation  $E - E_{rev}$

$\beta_a$  et  $\beta_c$  = coefficients de Tafel anodique et cathodique

$\beta_a = RT / \alpha nF$

$\beta_c = RT / (1 - \alpha)$

Avec :

R = constante des gaz parfaits,

T = température absolue en K

$\alpha$  = coefficient de transfert de charge

n = nombre d'électrons transférés lors de la réaction d'électrode

Si on considère que la concentration des réactifs et des produits est la même à chaque point de l'électrolyte ( $C_{red,s} / C_{red,b} = C_{ox,s} / C_{ox,b} = 1$ ), cette formule devient :

$$i = i_0 \exp.(\eta/\beta_a) - i_0 \exp.(-\eta/\beta_c) \quad [2]$$

Cette forme simplifiée de l'équation de Butler-Volmer est la plus courante. Elle s'applique aux réactions d'électrodes dont la vitesse est limitée par le transfert de charges à l'interface électrode/ électrolyte (5).

L'équation [2] présente deux branches : une branche anodique  $i_0 \exp.(\eta/\beta_a)$  et une branche cathodique  $i_0 \exp.(-\eta/\beta_c)$ . A partir de cette équation, les coefficients de Tafel anodique et cathodique peuvent être définis comme suit:

$$\beta_a = dE / d \ln i_a \text{ et } \beta_c = - dE / d \ln i_c$$

On appelle domaine de Tafel anodique le domaine de potentiel où la valeur de  $\eta/\beta_a$  est très supérieure à 1. L'équation [2] devient:

$$i = i_a = i_0 \exp. (\eta/\beta_a).$$

L'expression logarithmique de cette équation donne:

$$\eta = -\beta_a \ln i_0 + \beta_a \ln i.$$

En passant au logarithme de base 10 et en définissant les constantes de Tafel anodiques  $a_a$  et  $b_a$ , on obtient l'équation de la droite de Tafel anodique :

$$\eta = a_a + b_a \log i \quad [3]$$

$$a_a = -2,303 \beta_a \log i_0$$

$$b_a = 2,303 \beta_a$$

De la même façon, on peut calculer la droite de Tafel cathodique pour le domaine cathodique ( $\eta/\beta_c$  très inférieur à 1).

$$\eta = a_c + b_c \log |i| \quad [4]$$

$$a_c = -2,303 \beta_c \log i_0$$

$$b_c = 2,303 \beta_c$$

Les équations de Tafel [équation 3] et [équation 4] décrivent les limites anodiques et cathodiques de l'équation de Butler-Volmer.

Pour une électrode mixte où le métal M s'oxyde en présence d'un oxydant B, les calculs mènent à une équation analogue à l'équation [2] sous la forme :

$$I = I_{cor} \exp.(\zeta / \beta_{aM}) - I_{cor} \exp.(-\zeta / \beta_{cB}) \quad [5]$$

où :

$$I_{cor} = \text{courant de corrosion et } \zeta = \text{surtension de polarisation}$$

Quand la polarisation  $\zeta$  dépasse en valeur absolue 50 à 100 mV, l'un des deux termes logarithmiques peut être négligé, et le courant mesuré représente le courant de la branche anodique ou cathodique. Au potentiel de corrosion ( $\zeta = 0$ ), le courant I correspond au courant de corrosion  $I_{cor}$ , et la vitesse de corrosion  $V_{cor}$  est donnée par :

$$V_{cor} = I_{cor} / n FA \text{ où A est la surface de l'électrode.}$$

Cette technique permet de déterminer au laboratoire, le courant de corrosion et la vitesse de corrosion de l'électrode au repos, par extrapolation des droites de Tafel. Les conditions de mesure sont données par la figure suivante (Fig.II.7).

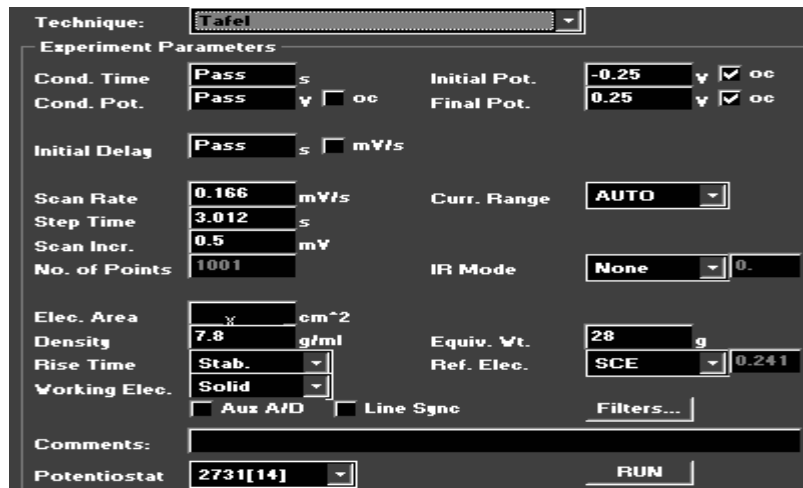


Fig.II.7. Conditions de mesure des droites de Tafel.

#### II.1.4.2.6. Méthode de la spectroscopie d'impédance électrochimique

Cette méthode est utilisée pour l'étude des semi conducteurs, les diélectriques et pour évaluer la qualité d'un revêtement par la mesure de la résistance de ses pores, le cas de notre revêtement obtenu par plasma d'oxygène.

Cette technique consiste à surimposer à un potentiel (ou une intensité) fixé, un signal variable (potentiel ou intensité) de forme variable (triangulaire, carrée ou sinusoïdale).

Souvent, l'étude se limite au cas d'un signal sinusoïdal, d'amplitude réduite et de fréquence variable afin de pouvoir rendre le système étudié non linéaire en un système linéaire par point local (Siebert, 1988 ; Demortier & al., 1990; Gabrielli, 1991).

Le principe de la méthode consiste en l'application d'un potentiel  $U$  à l'électrode de travail. Le potentiel se compose d'un potentiel fixe  $E$  et d'un potentiel sinusoïdal d'amplitude maximale  $V_m$  :

$$U = E + V_m \sin \omega t$$

$\omega$  étant la pulsation et  $t$  le temps

Ce potentiel génère dans le circuit un courant  $I$  à deux composantes, l'une fixe  $I_c$  et l'autre sinusoïdale d'amplitude maximale  $I_m$  :

$$I = I_c + I_m \sin(\omega t + \varphi)$$

$\varphi$  étant le déphasage qui dépend de la nature du circuit

Ce courant est mesuré en fonction du temps et pour différentes valeurs de la pulsation (généralement un balayage de fréquences sur un large domaine est effectué). Les termes constants  $I_c$  étant éliminé, le rapport  $U/I$  fournit pour chaque fréquence, l'impédance  $Z$  du circuit. Celle-ci traitée le plus souvent par la méthode des nombres imaginaires et en utilisant des représentations graphiques adéquates, permet d'atteindre différents paramètres liés à l'état de surface de notre électrode de travail et la nature de la solution corrosive au contact immédiat de cette dernière.

- Représentation de NYQUIST ou d'ANGRAND

C'est une représentation dans le plan complexe avec deux axes perpendiculaires. En abscisse est portée la partie réelle de l'impédance  $Z_{re} = |Z| \cos \varphi$ , tandis qu'en ordonnée, c'est la partie imaginaire  $Z_{im} = |Z| \sin \varphi$  et cela pour différentes fréquences.

- Pour les fréquences les plus élevées le point de concours donne la résistance ohmique  $R_\Omega$  de la solution ou  $R_e$  (solution de l'électrolyte)
- Pour les fréquences les plus faibles, celui-ci correspond à la somme  $R_\Omega + R_t$  ( $R_t$ : résistance de transfert de charge)

La fréquence correspondant au maximum de la partie imaginaire permet d'atteindre  $C_d$  en appliquant la relation :  $\omega_{max} = 1 / C_d R_t$ . Cette même fréquence donne aussi la valeur de  $R_t$  par la relation :  $R_t = 2|Z| \tan \varphi$ .

- Représentation de BODE

C'est une représentation qui donne les mêmes renseignements que la représentation de NIQUIST mais qui offre l'avantage de raccourcir la durée des mesures effectuées dans le domaine des basses fréquences (ce qui est important pour éviter que la mesure, en se prolongeant, modifie l'état de surface de l'électrode car il est possible en se basant sur la forme particulière de cette représentation et sur le large domaine de linéarité de la courbe de l'extrapoler aisément à partir des hautes fréquences).

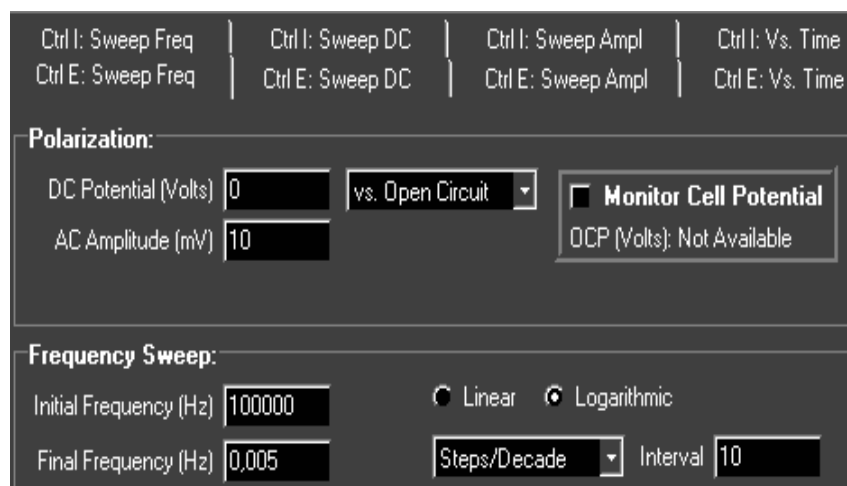
La méthode de la spectroscopie d'impédance électrochimique permet donc de mesurer la résistance de transfert de charge (de polarisation) et la capacité de la double couche électrochimique. L'efficacité d'un revêtement (E%) appliqué sur la surface d'un matériau à protéger est calculable :

$$E(\%) = \frac{(R_{ct_i} - R_{ct_0})}{R_{ct_i}} \cdot 100$$

$R_{ct_i}$  : Résistance de transfert de charge avec revêtement

$R_{ct_0}$  : Résistance de transfert de charge sans revêtement

Les conditions de mesure sont données par la figure suivante (Fig.II.8).



**Fig.II.8.** Conditions de mesure de la spectroscopie d'impédance électrochimique.

## II.2. Caractérisation du consortium de BSR et de la souche pure de BSR

### II.2.1. Préparation des milieux de culture spécifiques aux BSR

Les techniques de culture des BSR exigent un environnement anaérobie et un milieu approprié (**NACE TG 237, 2005**). Il existe plusieurs formules de milieux contenant tous une source de carbone et de petites quantités d'extrait de levure, sels inorganiques et un agent réducteur. A cause des difficultés d'obtention de comptage exact sur milieu solide en boîtes de pétri, et son inadaptation aux pratiques sur site, les BSR sont cultivées fréquemment dans un milieu liquide anaérobie en séries de dilutions (**NACE TM 0194, 1994**). Deux formules de milieux largement utilisées sont choisies, les compositions sont indiquées dans les tableaux suivants (Tab.II.1 & Tab.II.2).

**Tableau II.1.** Composition chimique du milieu API (API RP 38, 1990).

Elément	Quantité ou volume
Lactate de sodium (60 à 70 %) ( $C_3H_5NaO_3$ )	4,0 ml
Extrait de levure	1,0 g
Acide ascorbique ( $C_6H_8O_6$ )	0,1 g
Sulfate de magnésium ( $Mg SO_4 \cdot 7 H_2O$ )	0,2 g
Phosphate bi potassique ( $K_2HPO_4$ )	0,01 g
Sulfate d'ammonium et fer ( $Fe (SO_4)_2NH_4 \cdot 6H_2O$ )	0,2 g
Chlorure de sodium (NaCl)	10,0 g
Eau distillée (q. s. p)	1000ml

**Tableau II.2.** Composition chimique du milieu Postgate B thiosulfate (Postgate, 1959).

Elément	Quantité ou volume
Lactate de sodium à 60% ( $C_3H_5NaO_3$ )	3,5 ml
Phosphate potassique ( $KH_2PO_4$ )	0,5 g
Chlorure d'ammonium ( $NH_4Cl$ )	1 g
Thiosulphate de sodium ( $Na_2S_2O_3$ )	1,2 g
Dichlorure de magnésium ( $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$ )	1,65 g
Dichlorure de fer ( $Fe Cl_2 \cdot 4H_2O$ )	0,36 g
Chlorure de sodium (NaCl)	25 g
Extrait de levure	1 g
Acide thioglycollique	0,1 g
Acide ascorbique ( $C_6H_8O_6$ )	0,1 g
Eau distillée (q. s. p)	1000 ml

Les milieux de culture sont préparés par dissolution des éléments chimiques dans l'eau distillée sous chauffage doux, puis ajustement du pH à  $7,3 \pm 0,3$ . A cause de la difficulté de croissance de quelques BSR, 0,05 g d'acide thioglycollique est ajouté. La concentration en NaCl peut être ajustée pour atteindre celle du milieu naturel. Le milieu de culture est réparti dans des flacons type pénicilline de 10 ml de contenance à raison de 9 ml par flacon, puis désaéré par barbotage à l'azote. Des clous en fer dégraissés à l'acétone sont ajoutés juste avant le remplissage du milieu. Les flacons sont scellés avec des bouchons en caoutchouc, puis capsulés avec des couvercles métalliques jetables. Pour obtenir des milieux solides, 15 g d'agar-agar sont ajoutés aux ingrédients, ces milieux sont répartis dans des flacons de 250 ml de contenance.

Les flacons sont ensuite stérilisés par autoclavage à 120 °C pendant 20 min, à l'aide d'un autoclave de marque SHI AVX ELECTRONIC. Les milieux ainsi préparés sont conservés au réfrigérateur à 4 °C (NACE TM 0194, 1994).

### II.2.2. Prélèvement et conditions de culture des BSR

Les BSR utilisées dans notre étude, ont été prélevées à partir d'un puits producteur d'eau d'un champ pétrolier situé au Sud-Est de l'Algérie. La vanne de prélèvement du puits est purgée à fort débit de manière à entraîner tous les dépôts accumulés et à évacuer toutes les poches de gaz. Le débit est ensuite réduit à pas moins de 500 ml/min avant l'opération d'échantillonnage. Un tube souple de raccord aussi court que possible est branché, l'ensemble est ensuite purgé. Le flacon d'échantillonnage préalablement stérilisé est rincé au moins trois fois en le remplissant jusqu'au  $\frac{1}{4}$  de sa capacité avec

## Méthodologie expérimentale

l'eau de production, agité et vidé. Le tube souple est introduit jusqu'au fond du flacon, ce dernier est rempli, laissé déborder au moins cinq fois son volume avant de prendre l'échantillon. Des mesures instantanées de la température et du pH sont prises. Ainsi, la salinité est dosée par volumétrie et les paramètres organoleptiques de l'eau de production sont enregistrés. Le tube est remonté lentement en inondant le bouchon au cours de la fermeture du flacon, de manière à limiter au maximum le piégeage d'air dans le récipient.

L'inoculation est faite à raison de 1 ml d'eau de production par flacon contenant le milieu API, et l'incubation est faite à 40 °C (-/+ 2 °C) pendant 15 jours dans un incubateur de marque MEMMERT (un intervalle de +/- 5 °C la température de l'eau échantillonnée est admis), Les séries présentant un dépôt noir sont considérées positives, et sont ensuite stockées au réfrigérateur à 4 °C (**ASTM D3370-95a-R2003, 2003 ; NACE TM 0194, 1994**).

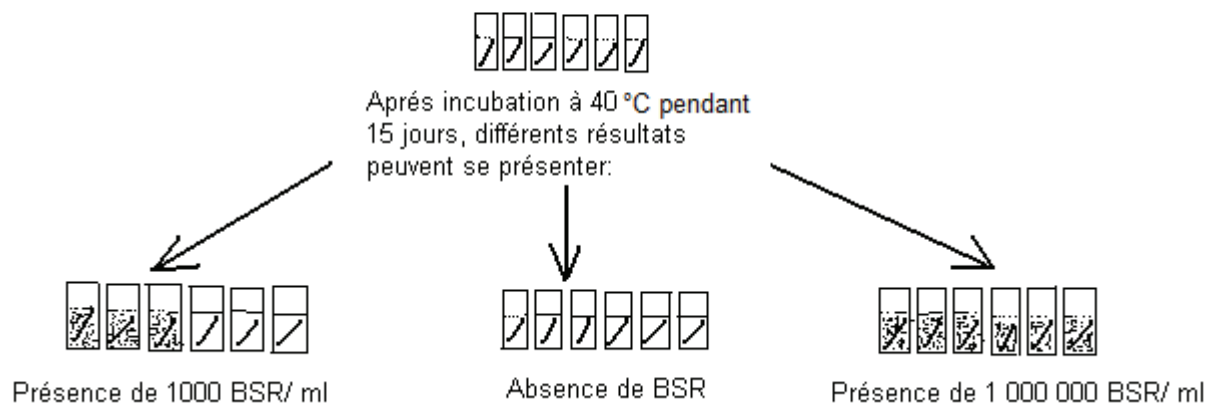
La température d'incubation a été choisie après l'analyse de la complétion du puits producteur d'eau, à partir duquel les BSR ont été prélevées. L'eau du prélèvement provient de l'albien (formation ou étage géologique appartenant au crétacé inférieur de l'ère mésozoïque) dont la température est de 45 °C.

### II.2.3. Culture, dénombrement, purification et conservation des BSR

#### II.2.3.1. Culture et dénombrement en milieu liquide

Le procédé le plus classique de dénombrement des BSR en milieu liquide est le « Test Kit ». Il consiste en la mise en culture des dilutions successives, dans des séries de flacons type pénicilline contenant le milieu de culture approprié. Un volume de 1 ml de l'échantillon étudié est introduit dans le premier flacon de la série, à l'aide d'une seringue stérile (dilution  $10^{-1}$ ), après agitation, un volume de 1 ml du premier flacon est introduit dans le deuxième flacon de la série (dilution  $10^{-2}$ ), l'opération est répétée jusqu'au dernier flacon de la série (Fig.II.9). Une croissance positive est révélée par un noircissement du milieu après incubation, du à la précipitation des sulfures métalliques en sulfures métalliques noir (sulfure de fer). Le nombre de germes présents correspond à l'inverse de la plus forte dilution ayant virée (**API RP 38, 1990 ; Crolet & al., 1997**).

Série de six (06) flacons type pénicilline remplis du milieu de culture spécifique aux BSR, inoculée par dilutions successives avec 1 ml de l'échantillon d'eau à étudier.



**Fig.II.9.** Schéma du principe de dénombrement des BSR en milieu liquide par le « Test Kit » (**Crolet & al., 1997**).



### II.2.3.2. Culture et purification sur milieu solide

L'ensemencement des BSR sur milieu solide est fait en profondeur (en surfusion) ; à l'aide d'une seringue stérile, un volume de 1 ml de la solution de BSR est introduit au fond de la boîte de pétri d'une manière stérile. Toute de suite, le milieu solide préalablement régénéré (ébullition prolongée pendant une demi heure et refroidi à 45 °C) est coulé. Les boîtes de pétri ainsi ensemencées et coulées, sont laissées entrouvertes jusqu'à solidification complète du milieu. Elles sont ensuite fermées, scellées à l'aide du parafilm et incubées dans un incubateur à CO<sub>2</sub> (12 % de CO<sub>2</sub>) de marque BINDER pendant 10 jours à 40 °C (-/+2°C) (**Larpen & al., 1975; Leclerc & al., 1984 ; Sebald & al., 1997**)

La purification des colonies isolées est basée sur les caractères macroscopiques, elle est faite par repiquages successifs sur milieu solide de la colonie isolée (au moins trois fois) (**Goutcharoff, 1971 ; Leclerc & al., 1984 ; Larpen, 1985**).

### II.2.3.3. Conservation des BSR

La conservation des prélèvements de BSR ainsi que des souches purifiées, est assurée par mise au réfrigérateur à 4 °C dans un milieu liquide adapté, contenu dans les flacons type pénicilline désaérés. Des transferts périodiques sur des milieux identiques, sont réalisés afin d'assurer la revivification des bactéries. Pour cela, il est nécessaire de connaître la durée limite de stockage (**Bergey, 1984 ; Leclerc & al., 1984**).

### II.2.4. Caractérisation phénotypique du consortium de BSR prélevé et de la souche purifiée

#### II.2.4.1. Etude morphologique

##### II.2.4.1.1. Etude macroscopique

Les colonies obtenues sur boîtes de Pétri, sont observées à l'œil nu puis décrites suivant les éléments d'identification macroscopique (**Larpen & al., 1975**) :

- la taille : colonie punctiforme (diamètre < 1 mm) ou non punctiforme (diamètre > 1 mm).
- La forme; caractérisée par l'allure des contours (régulière, irrégulière, déchiquetée, rhizoïde, circulaire, filamenteuse, ondulée) et par la forme des reliefs ou l'élévation (colonie bombée, plates, centre surélevé (convexe), ombiliqué, concave).
- La chromogénèse; l'élaboration d'un pigment par certaines bactéries est un critère précieux d'identification, le pigment peut être soluble ou non dans le milieu de culture.
- L'opacité ; elle est appréciée en lumière naturelle ou artificielle, certaines colonies sont transparentes, d'autres translucides ou opaques.
- L'aspect de la surface ; lisse, sèche, rugueuse, plissée, brillante ou mucoïde.
- La consistance ; colonies grasses et crémeuses non visqueuses, grasses et crémeuses visqueuses ou sèches.

##### II.2.4.1.2. Etude microscopique : examen à l'état frais (lutage)

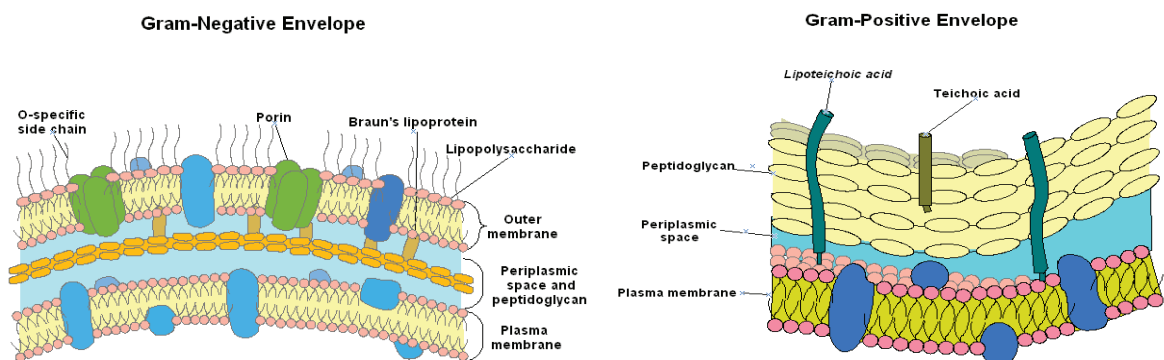
Le lutage renseigne sur la forme et la mobilité des germes (préférentiellement frais). A l'aide d'une pipette Pasteur, des colonies bien isolées sur milieu solide sont prélevées, puis

mises en suspension dans l'eau physiologique stérile. Si la culture est en milieu liquide, une goutte est prélevée à l'aide d'une seringue stérile. La goutte est déposée au centre de la lame et recouverte d'une lamelle, cette dernière est bordée d'un produit solidifiable imperméable à l'air appelé « lut » (vernis, paraffine). L'observation est faite au microscope optique de marque ZEISS type AXIOSKOP au Grossissement x100 (**Nelly, 1992**).

### II.2.4.2. Tests de différenciation

#### II.2.4.2.1. Coloration de Gram

- Principe : la coloration de Gram est une double coloration qui permet de différencier les bactéries, non seulement d'après leur forme, mais également selon leur affinité pour les colorants liée à la structure générale de la paroi. Les bactéries « Gram + » ne se décolorent pas en présence d'alcool, elles apparaissent en bleu-violet, leur paroi est constituée essentiellement de peptidoglycane. Les bactéries « Gram - » se décolorent en présence d'alcool et nécessitent donc une recoloration à la Fuschine, leur paroi est mince et plus complexe, elle est riche en muréine, en lipides et en protéines (Fig.II.10) (**Marchal, 1992 ; Nelly, 1992**).



**Fig.II.10.** Schéma de la paroi des bactéries Gram - et des bactéries Gram+ (**Marchal, 1992**).

- Procédure : cette technique est appliquée en trois étapes :
  - préparation du frottis : consiste à réaliser un étalement mince et homogène de l'inoculum à examiner. La lame est ensuite séchée par passage sur la flamme.
  - coloration du frottis : le frottis est imprégné par une solution de violet de Gentiane pendant 1 minute, puis celui-ci est fixé par un mordant (Lugol) pendant 45 secondes, le mordantage est répété à deux reprises. Une décoloration est ensuite réalisée avec l'alcool à 95 % pendant 30 secondes. Une recoloration à la Fuschine est faite à la fin pendant 1 minute. La lame est ensuite rincée puis séchée.
  - observation et interprétation : l'observation est faite au microscope optique de marque ZEISS type AXIOSKOP au Grossissement x100 avec de l'huile à immersion.

#### II.2.4.2.2. Test de formation de spores (test de la thermorésistance)

- Principe : la paroi de la spore est facilement traversée par la solution du vert de Malachite. Ce dernier colore essentiellement et sélectivement les substances propres à la spore. La chaleur favorise cette coloration et le lavage à l'eau élimine le vert de Malachite contenu dans le cytoplasme des bactéries.
- Procédure : un étalement de la colonie de BSR est fixé sur une lame. Cette dernière est recouverte de vert de Malachite à 0,5 %, l'ensemble est chauffé pendant 3 à 5

minutes jusqu'à émission de vapeur, un rinçage abondant à l'eau distillée est fait. La lame est ensuite recouverte de Fuschine aqueuse basique à 0,25 % pendant 1 à 2 minutes, la lame est par la suite rincée à l'eau distillée, séchée et examinée. L'observation est faite au microscope optique de marque ZEISS type AXIOSKOP au Grossissement x100. Les spores apparaissent en vert sur fond rouge (**Goutcharoff, 1971**).

La thermorésistance en milieu liquide est déterminée par chauffage d'un volume de 1ml d'une culture de BSR, âgée de huit jours à 80 °C pendant 10 à 20 minutes, à 90 °C pendant 5 à 10 minutes et à 100 °C pendant 10 minutes, ensuite la recultiver sur un milieu liquide similaire, un résultat positif est révélé par un noircissement de ce dernier (**Beerens & al., 1977 ; Ravot & al., 1999**).

### II.2.4.2.3. Test de la désulfovirdine

- Principe : la désulfovirdine est un pigment chromophore photosensible spécifique des BSR du genre *Desulfovibrio* ainsi que d'autres genres, il émet une fluorescence rouge sous lampe UV à 365 nm en condition alcaline.
- Procédure : les cellules sont cultivées en anaérobiose à 40 °C et à l'obscurité sur milieu API liquide jusqu'en phase stationnaire de croissance pour atteindre une densité bactérienne de l'ordre de 10<sup>9</sup> bactéries/ml. Le culot est récupéré par centrifugation à 7000 tr/min pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse de marque HETTICH type MIKRO 220R. Le culot est ensuite remis en suspension dans un millilitre d'eau distillée stérile. Une goutte d'hydroxyde de sodium à 20 % (m/v) est ajoutée à la suspension cellulaire. La fluorescence rouge est observée immédiatement sous lampe UV à 365 nm (**Postgate, 1959 ; Beerens & al., 1977 ; Ollivier & al., 1988 ; Boudaud & al., 2005**). La fluorescence est observée à l'aide d'un microscope à fluorescence UV-Visible de marque LEITZ type LABORLUX S équipé d'un dispositif à UV (360-380 nm).

### II.2.4.3. Tests biochimiques

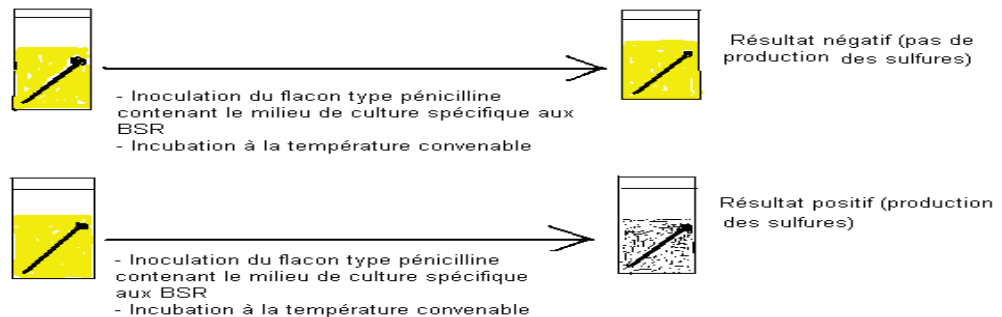
#### II. 2.4.3.1. Test du type respiratoire

- Principe : le type respiratoire est mis en évidence par l'ensemencement de la culture bactérienne à étudier, dans un tube à essai contenant le milieu de culture liquéfié et refroidi à 45 °C. Une croissance positive est révélée par l'apparition d'un noircissement du milieu. Selon la zone de croissance dans la colonne du milieu, le type respiratoire est déduit ; une croissance en profondeur indique que la culture est anaérobie stricte, une croissance en surface indique que la culture est aérobie stricte et une croissance tout le long du tube indique un caractère aéro-anaérobie (aérotolérant) de la culture (**Singleton, 1996 ; Sebald & al., 1997**).
- Procédure : un tube à essai est inoculé en surfusion par la suspension de BSR, après liquéfaction et refroidissement du milieu API à 45 °C. Le tube est fermé juste après inoculation. L'incubation est faite à 40 °C (-/+2°C ) pendant 10 jours dans un incubateur de marque MEMMERT.

#### II.2.4.3.2. Test de production des sulfures métalliques

- Principe : le test de production des sulfures est réalisé selon la méthode du Test Kit. Ce test est basé sur l'observation visuelle d'un dépôt noir, correspondant au sulfure de fer métabolique des BSR, issu de la combinaison des sulfures d'hydrogène gazeux avec les ions du fer présents dans le milieu (**Postgate, 1959**).

● Procédure : des séries de trois flacons type pénicilline remplis avec les deux types de milieux de culture sont utilisées (API et Postgate B thiosulfate). Chaque flacon est inoculé avec 1 ml de l'échantillon étudié puis incubé à 40 °C (-/+2°C) pendant 15 jours dans un incubateur de marque MEMMERT (Fig.II.11).



**Fig.II.11.** Schéma du principe de la production des sulfures chez les BSR par la méthode du test Kit (Crolet & al., 1997).

### II.2.4.3.3. Test de production de gaz (sulfure d'hydrogène)

Le test de production de gaz est réalisé dans des tubes à essai de 9x180 mm, remplis du milieu API. Les tubes sont inoculés avec 1 ml des cultures liquides de BSR, laissés se solidifier en position verticale, puis incubés à 40 °C (-/+2°C) pendant 10 jours dans un incubateur de marque MEMMERT. Afin d'éviter le contact avec l'air, une couche de 1 cm de hauteur de vaseline stérile est ajoutée à la surface du milieu. La production de gaz est détectée par la présence de bulles d'air dans la masse du milieu (Beerens & al., 1977).

### II.2.4.3.4. Test d'utilisation du thiosulfate comme accepteur final d'électrons

● Principe : le thiosulfate peut être utilisé par certaines BSR comme accepteur final d'électrons. Le test est réalisé sur le milieu Postgate B thiosulfate, qui ne contient que le thiosulfate comme seule source de soufre et pas de sulfate.

Le test est positif si après inoculation de BSR, un dépôt noir est observé dans le milieu. Ce dépôt correspond aux sulfures de fer, issus de la combinaison du sulfure d'hydrogène gazeux avec les ions du fer présents dans le milieu (Crolet & al., 1997).

● Procédure : des séries de trois flacons type pénicilline remplis du milieu Postgate B thiosulfate sont utilisées. Chaque flacon est inoculé avec 1 ml de l'échantillon étudié puis incubé à 40 °C (-/+2°C) pendant 15 jours dans un incubateur de marque MEMMERT.

### II.2.4.4. Tests physiologiques (Mellor, 2000)

Les tests physiologiques sont réalisés sur des séries de trois flacons type pénicilline remplis du milieu API, inoculés à raison de 10 % de la suspension bactérienne. L'incubation est faite à 40 °C pendant 15 jours dans un incubateur de marque MEMMERT.

Pour les tests d'optimisation de la température, le milieu reste sans modification et les séries sont ensuite incubées à différentes températures, à savoir; 24 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C, 37 °C, 40 °C, 45 °C et 46 °C.

Pour les tests d'optimisation du pH, ce dernier est ajusté pour chaque série à la valeur du pH testée. Les valeurs du pH testées sont ; 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12 et 13.

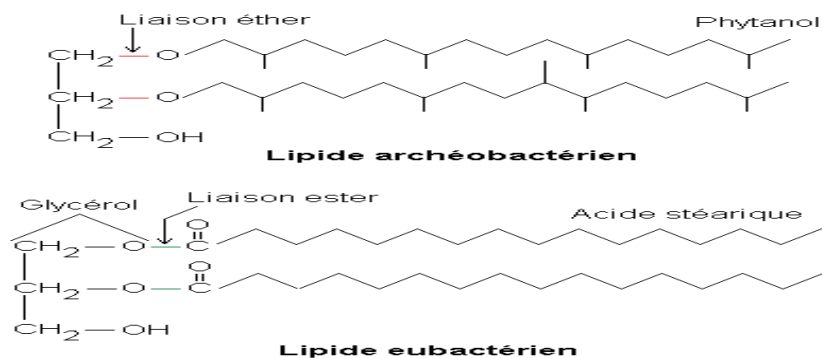
Pour les tests d'optimisation de la salinité, cette dernière est ajustée à différentes concentrations. Les teneurs en Na Cl testées sont ; 0 g/l, 10 g/l, 20 g/l, 30 g/l, 40 g/l, 50 g/l, 60 g/l, 70 g/l, 80 g/l et 90 g/l, 100 g/l, 110 g/l.

### II.2.4.5. Analyse par Spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF)

En plus des méthodes classiques de caractérisation des micro-organismes (analyse biochimique et génomique) qui sont souvent longues, différents travaux ont montré les potentialités de la spectroscopie IRTF pour l'identification, la différenciation et la classification des bactéries. Les analyses par IRTF sont faites à l'aide d'un Spectromètre Infra Rouge de type MAGNA IR 560-Spectrometer-Nicolet avec une résolution de  $4 \text{ cm}^{-1}$  et un nombre de balayage égal à 5. Le principe de la méthode IRTF est présenté en annexe 2.

#### II.2.4.5.1. Analyse des lipides membranaires des BSR par IRTF (Ross & al., 1981)

Les Archaeobactéries se distinguent des Eubactéries par la composition en lipides qui servent de marqueurs chimiques pour leur identification et leur distinction des autres groupes taxonomiques. Les Archaeobactéries présentent dans leur structure membranaire les lipides suivants : Glycérol-diéther appelé glycérol diether phytanyl, contrairement aux Eubactéries qui contiennent des méthyl-ester d'acide gras non hydroxylé (Fig.II.12).

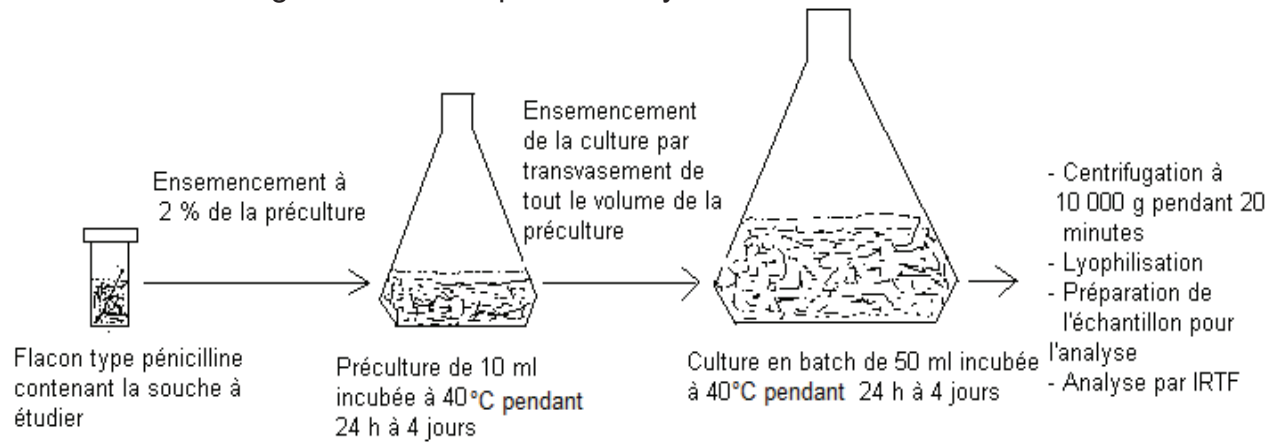


**Fig.II.12.** Schéma de la structure d'un lipide Archéobactérien comparé à un lipide Eubactérien (Woese, 1994).

- Procédure : le protocole suivant a été réalisé (Fig.II.13):
  - Préparation de la préculture : la souche à étudier estensemencée dans un erlen Meyer de 100 ml, contenant 10 ml du milieu API. L'incubation se fait à 40 °C pendant 1 à 4 jours.
  - Préparation de la culture : la préculture obtenue sert d'inoculum pour la culture en erlen Meyer de 500 ml contenant 1/10 du milieu API. La culture ainsi obtenue est incubée pendant 1 à 4 jours selon les espèces à 40 °C dans un incubateur de marque MEMMERT.
  - Analyse des lipides : les cultures obtenues sont centrifugées à 10 000 g pendant 20 minutes à l'aide d'une centrifugeuse de marque HETTICH type MIKRO 220R, puis lyophilisées à l'aide d'un lyophilisateur de type CHRIST-ALPHA 1-2 LD. Une quantité de 100 mg de ces cellules est additionnée de 3 ml de toluène, 3 ml de méthanol et de 0,1 ml d'acide sulfurique concentré. Le mélange est chauffé à 50 °C pendant 15 à 18 heures. Les composés à chaînes longues sont extraits à partir de ces complexes par addition de 1,5 ml d'hexane. Cet extrait d'hexane sera par la suite analysé par spectroscopie IRTF. La méthode des pastilles en KBr exempt d'humidité est utilisée pour la réalisation de



cette analyse. Le KBr finement broyé est comprimé dans une presse hydraulique sous une presse de 10 tonnes pendant 2 à 5 minutes. La pastille transparente ainsi obtenue est imbibée d'une gouttelette du liquide à analyser.

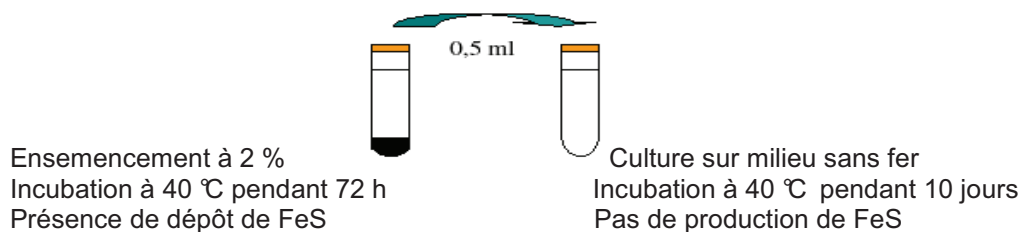


**Fig.II.13.** Schéma de la procédure de préparation des BSR pour l'analyse des lipides membranaires par IRTF (Ross & al., 1981).

### II.2.4.5.2. Analyse de la culture de BSR par spectres IRTF

Le spectre d'absorption infrarouge d'un micro-organisme reflète en effet sa composition totale : c'est une « empreinte » spécifique, constituée de nombreuses bandes d'absorption, dont certaines peuvent être attribuées à des constituants particuliers (protéines, lipides, polysaccharides et ADN). Les spectres infrarouges peuvent ainsi être utilisés pour différencier les bactéries et les identifier par comparaison avec ceux d'une « spectrothèque » élaborée à partir de souches de collection (Boudaud & al., 2005).

● Procédure : les BSR sont ensemencées à 2 % dans le milieu API, l'incubation est faite à 40 °C pendant 72 h à l'obscurité (préculture). Pour la culture, un volume de 0.5 ml de la préculture est ensuite réensemencée dans le milieu API exempt de fer et incubée à 40 °C pendant 10 jours à l'obscurité dans un incubateur de marque MEMMERT (Fig.II.14). Deux cultures sont réalisées pour chaque type de BSR. Lorsque la phase stationnaire de croissance est atteinte, les culots bactériens sont lavés par deux centrifugations successives (7000 tr/min pendant 10 min) avec une solution stérile de NaCl à 30 g/l. Les culots sont repris par 100 µl de solution stérile à 30 g/l en NaCl. Les échantillons sont ensuite concentrés (7000 tr/min pendant 5 min), et les culots sont repris dans 30 µl d'eau distillée stérile et placés 35 min dans un dessiccateur (dépression 1 bar) pour éliminer l'excédent d'eau. Les centrifugations sont faites à l'aide d'une centrifugeuse de marque HETTICH type MIKRO 220R. Les culots déshydratés sont analysés par spectroscopie IRTF. La méthode des pastilles en KBr est utilisée pour la réalisation de cette analyse (même préparation que l'essai précédent). Le rapport KBr/Culots déshydratés est de 10.



**Fig.II.14.** Schéma de la méthode de culture des BSR pour l'analyse par spectroscopie IRTF (Boudaud & al., 2005).



### II.3. Etude de la biocorrosion des éprouvettes d'acier en cultures en batch pures et mixtes

#### II.3.1. Conduite des essais d'immersions des éprouvettes d'acier

Les essais de biocorrosion en batch sont réalisés dans des erlens Meyer de 1000 ml de contenance, remplis de 1 litre de milieu de culture API spécifique aux BSR, et fermés avec un bouchon muni de deux orifices pour l'injection de gaz (barbotage). Les volumes minimums des solutions d'essais, recommandés pour les tests de corrosion par immersion, varient entre 20 et 40 ml par cm<sup>2</sup> de surface d'acier (**ASTM G 31-72, 1999 ; ASTM G 1- 03, 2003**). Le milieu est barboté à l'azote puis autoclavé à 120 °C pendant 20 minutes, à l'aide d'un autoclave de marque SHI AVX ELECTRONIC.

L'introduction des éprouvettes d'acier dans les erlens, est faite d'une manière aseptique à l'aide d'une pince stérile, afin d'éviter les empreintes digitales ou la contamination avec les corps étrangers. La suspension des éprouvettes est faite par un matériau inerte et résistant à l'agressivité du milieu et à la température considérée à savoir ; du téflon.

La reproductibilité des essais de corrosion est difficilement obtenue ; il est donc indispensable de multiplier le nombre d'éprouvettes d'acier pour un même essai élémentaire. Pour chaque essai sont suspendues trois éprouvettes d'acier neuves et trois éprouvettes d'acier traitées par plasma d'oxygène.

L'ermen est refermé, barboté à l'azote, puis inoculé à raison de 2 % (**Keresztes & al., 1997**) de la solution bactérienne, en culture mixte (consortium de BSR) et en culture pure (souche pure ; BSR1). L'incubation est faite à 40 °C à l'obscurité pendant différentes durées d'immersion. Les durées admises dans notre étude sont les suivantes : 1 mois, 2 mois, 3 mois, 4 mois, 5 mois, 6 mois et 7 mois.

L'essai d'immersion correspondant au « blanc » est incubé pendant une durée de 7 mois, où les éprouvettes d'acier sont immergées dans le milieu de culture API, non inoculé avec la solution de BSR.

A la fin de chaque essai d'immersion (fin de la culture en batch), les éprouvettes sont retirées avec soin à l'aide d'une pince stérile et le dépôt ne doit pas être gratté. Des observations visuelles sont faites immédiatement après retrait (**Comité des techniciens IFP, 1969**).

#### II.3.2. Mesure des paramètres métaboliques des cultures

Les paramètres suivants sont mesurés à la fin de la durée de chaque essai d'immersion :

- dénombrement des BSR sessiles aux éprouvettes traitées et aux éprouvettes non traitées, ainsi que le dénombrement des BSR planctoniques ;
- mesure du pH, de la salinité et de la conductivité ;
- dosage du fer dissous et du sulfure d'hydrogène.

Les paramètres métaboliques de l'immersion « blanc », sont mesurés au début et à la fin de l'essai d'immersion.

##### II.3.2.1. Dénombrement des BSR planctoniques et sessiles

Le dénombrement des BSR planctoniques est fait par la méthode du test Kit. Un volume de 1 ml de la culture bactérienne est prélevé après homogénéisation du milieu à l'aide d'une seringue stérile, puis introduit dans le premier flacon de la série. Les dilutions successives sont par la suite réalisées. L'incubation est faite à 40 °C pendant 15 jours.

Pour le dénombrement des BSR sessiles, un tampon phosphate salin (PBS) est préparé, sa composition est la suivante (pour 1000 ml eau distillée) : 8,7 g NaCl, 0,4 g

$\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,23 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 20 ml de cystéine-HCl à 2,5 %, et/ou 20 ml de l'acide ascorbique à 5 %. Les composants sont mélangés et le tampon est mis en bouteille et autoclavé à 120 °C pendant 20 minutes). La teneur en NaCl est ajustée à 10 g/l (**NACE TM 0194, 1994**).

Les éprouvettes d'acier sont introduites immédiatement après retrait, dans un flacon contenant le tampon PBS stérile. Le biofilm et les produits associés sont complètement dispersés (détachés) des éprouvettes d'acier en utilisant un mixeur vortex de type ROTOLAB OSI. Un volume de 1 ml du mélange « biofilm-tampon PBS », est prélevé à l'aide d'une seringue stérile pour réaliser les dilutions successives, dans une série de flacons contenant le milieu API. L'incubation est faite à 40 °C pendant 15 jours.

### II.3.2.2. Mesure du pH, de la conductivité et de la salinité

Les mesures du pH sont faites à l'aide d'un dispositif pH-mètre de marque HACH type sensION3. Pour la conductivité et la salinité, un conductimètre de marque HACH type sensION5 est utilisé.

### II.3.2.3. Dosage du fer dissous par spectrophotométrie

- Principe : le fer dissous est dosé par spectroscopie d'absorption UV-visible, par la méthode colorimétrique à l'orthophénantroline à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de marque LAMOTTE type Smart spectro. L'absorbance de l'échantillon est mesurée à une longueur d'onde constante de 510 nm. Cette absorbance est proportionnelle à la concentration du fer dissous selon une loi linéaire (loi de Lambert-Beer) (**Rodier, 2005**).

- Procédure : un volume de 1 ml de la solution est utilisé pour le dosage du fer dissous. La concentration du fer dissous est donnée par le spectrophotomètre en ppm (mg/l).

### II.3.2.4. Dosage des sulfures par un comparateur

- Principe : pour effectuer le dosage des sulfures, on utilise un Kit « sulfide test Kit » dont le principe est basé sur la comparaison de couleurs, entre la solution testée ajoutée de réactifs du Kit et le comparateur (couleurs standards).

- Procédure : un volume de 5 ml de la solution est utilisé pour le dosage de l' $\text{H}_2\text{S}$ . L'échantillon est ajouté de réactifs du kit, et la coloration obtenue est comparée avec celle du comparateur. La correspondance en ppm (mg/l) en sulfures est obtenue.

## II.3.3. Etude du biofilm bactérien formé à la surface des éprouvettes d'acier

### II.3.3.1. Evaluation du poids des biofilms

Les éprouvettes d'acier après retrait, sont recouvertes d'une couche noirâtre correspondant au biofilm de BSR. Afin de quantifier ce biofilm, les éprouvettes sont mises dans un dessiccateur en présence de silicagel, et après déshydratation, elles sont pesées avant décapage (**Comité des techniciens IFP, 1969**). La pesée est faite à l'aide d'une balance analytique de marque SARTORIUS type M2P sensible au 1/100 de milligramme (ou une balance analytique METTLER type PM 200 sensible au 1/100 de gramme).

### II.3.3.2. Analyse par diffraction des rayons X

- Le principe de la méthode est présenté en annexe n° 2.

- Procédure : les biofilms déposés sur les surfaces des éprouvettes d'acier sont grattés après déshydratation, déposés sur un support inerte en silicium et analysés par

diffraction des rayons X. Le détecteur fait le tour de l'échantillon pour mesurer l'intensité des rayons X selon la direction. Le diffractomètre utilisé est un PHILIPS-PW 1800 équipé d'un tube à RX anode en cuivre. Les conditions d'analyses sont citées précédemment.

### II.3.3.3. Observation au Microscope Electronique à Balayage avec analyse EDS

- Le principe de la méthode est présenté en annexe n° 2.
- Procédure : les échantillons d'acier recouverts de biofilms de BSR nécessitent une préparation de surface à cause de la non conductivité des biofilms. Leur métallisation est faite par dépôt d'une couche ultramince de platine, dans une enceinte sous vide d'argon par la méthode de pulvérisation cathodique. Cette dernière est particulièrement appropriée pour le traitement des objets à surface très structurée. Les échantillons sont ensuite récupérés et observés au MEB avec analyse EDS de leur structure. L'analyse est faite à l'aide de deux microscopes électroniques à balayage: PHILIPS et JEOL JSM-63 60 LV. La microanalyse est faite à l'aide d'un système d'Energy Dispersiv Spectrometer de type EDAX.

### II.3.4. Evaluation de la corrosion par piqûres des éprouvettes d'acier traitées et non traitées

#### II.3.4.1. Décapage du biofilm bactérien et évaluation de la perte de poids

Pour l'étude de l'état de surface des éprouvettes d'acier (traitées et non traitées par plasma d'oxygène), le biofilm et les dépôts de corrosion sont décapés. Le décapage peut être fait mécaniquement, électrolytiquement ou chimiquement, dans notre étude, un nettoyage chimique est réalisé, par immersion dans une solution décapante servant à la dissolution des produits de corrosion. La solution décapante est une solution d'HCl à 15 % inhibé (100 ml d'HCl à 15 % ajoutés de 5 ml d'un bon inhibiteur de corrosion) (**ASTM G1- 03, 2003; ASTM G 31-72, 1999**). La procédure de nettoyage commence par un rinçage sous un jet d'eau de robinet de l'éprouvette retirée, afin de détacher le biofilm formé sur la surface, puis un rinçage à l'eau distillée et enfin l'immersion dans la solution décapante, pendant un temps suffisant sous agitation magnétique si nécessaire.

L'éprouvette est rincée avec de l'eau distillée puis avec l'acétone, séchée à l'air chaud et enfin pesée à l'aide d'une balance analytique SARTORIUS type M2P sensible au 1/100 de milligramme (ou balance analytique METTLER type PM 200 sensible au 1/100 de gramme). L'évaluation de la perte de poids de chaque éprouvette est faite par soustraction du poids final (poids après immersion) du poids initial (poids avant immersion).

#### II.3.4.2. Observation au microscope métallographique et au MEB des piqûres de corrosion et évaluation de la densité de piquuration

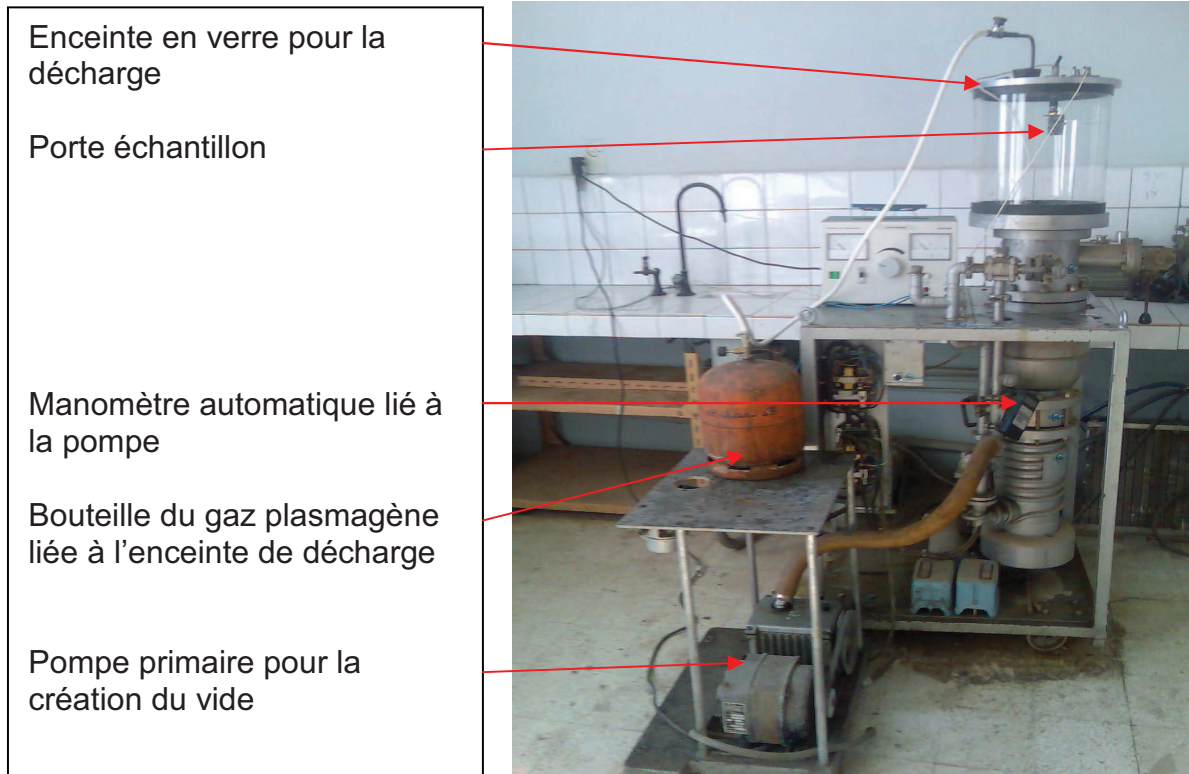
Les éprouvettes d'acier traitées et non traitées, sont examinées attentivement après retrait et nettoyage. Dans le cas de piqûres, un examen au microscope métallographique avec ou sans attaque, donne des renseignements utiles sur le type de corrosion (**Comité des techniciens IFP, 1969 ; ASTM G 46-94, 1999**). Un microscope métallographique de marque OLYMPUS équipé d'un logiciel analyseur d'images dénommé ANALYSIS, ainsi, qu'un logiciel de traitement de phases dénommé ATLAS sont utilisés pour l'évaluation de la corrosion par piqûres. Ces dernières sont également observées au MEB et analysées par EDS. L'analyse est faite à l'aide de deux microscopes électroniques à balayage: PHILIPS et JEOL JSM-63 60 LV. La microanalyse est faite à l'aide d'un système d'Energy Dispersiv Spectrometer de type EDAX.

***Chapitre III***  
***Résultats et***  
***interprétations***

### III.1. Traitement de surface par plasma d'oxygène et caractérisation des éprouvettes

#### III.1.1. Traitement de surface par plasma d'oxygène

L'installation de traitement par plasma d'oxygène, est illustrée par la figure III.1.



**Fig. III.1.** Illustration de l'installation de traitement de surface par plasma d'oxygène.

Les étapes de production de plasma dans l'enceinte, sont illustrées par la figure III.2.

La décharge électrique obtenue à une pression de  $8,3 \cdot 10^{-2}$  torr (Fig.III.2.c) pendant 52 heures, donne un meilleur aspect de traitement de surface (surface de l'éprouvette est bleue noirâtre à noire). La couleur « bleu noir » est obtenue sur différents alliages suite à un traitement par implantation d'ions (**Tan & al., 2003**).

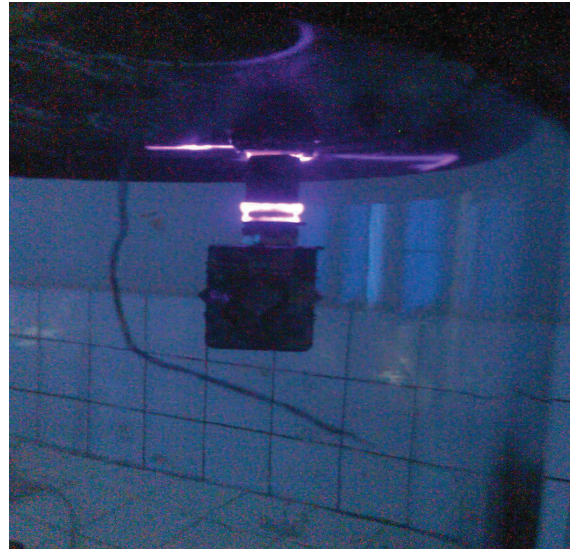
Le traitement de surface par plasma d'oxygène, dépend fortement des caractéristiques de l'installation utilisée (montage, pression, température, énergie) et de la durée du traitement. L'illustration suivante (Fig.III.3) donne l'aspect de surface des éprouvettes d'acier après différentes durées de traitement:

- éprouvette d'acier avant traitement : aspect miroir de surface (Fig.III.3.a) ;
- éprouvette d'acier après 6 h de traitement : bleu très clair avec des zones dorées ;
- éprouvette d'acier après 12 h de traitement : bleu foncé avec des zones dorées ;
- éprouvette d'acier après 20 h de traitement : bleu avec des vagues marron ;
- éprouvette d'acier après 30 h de traitement : fond bleu avec des vagues non homogènes (marron, rouge brun) (Fig.III.3.b);
- éprouvette d'acier après 40 h de traitement : couleur rouge brun non homogène ;
- éprouvette d'acier après 45 h de traitement : couleur rouge brun homogène ;
- éprouvette d'acier après 52 h de traitement : couleur bleu noirâtre à noir (Fig.III.3.c).

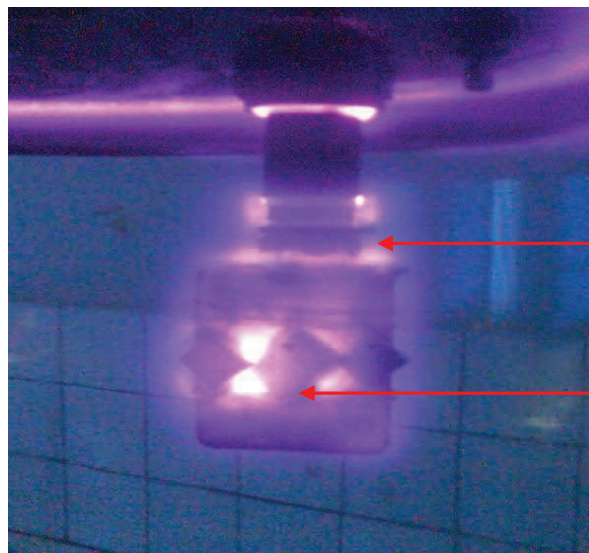




(Fig.III.2.a)



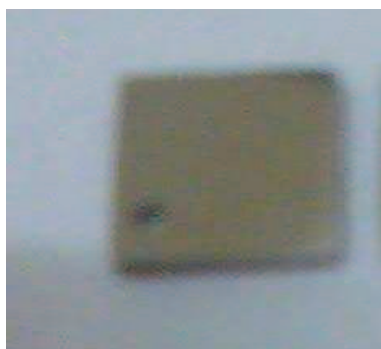
(Fig.III.2.b)



Raies lumineuses  
de la décharge  
électrique  
luminescente  
Echantillons d'acier  
en voie de traitement

(Fig.III.2.c)

**Fig.III.2.** Evolution des zones lumineuses en fonction de la pression créée dans l'enceinte de la décharge électrique : (a) pression atmosphérique, (b)  $1,8 \cdot 10^{-1}$  torr, (c)  $8,3 \cdot 10^{-2}$  torr.



(Fig.III.3.a)



(Fig.III.3.b)



(Fig.III.3.c)

**Fig.III.3.** Evolution de l'aspect de surface des éprouvettes d'acier du début à la fin du traitement par plasma d'oxygène (de gauche à droite respectivement).



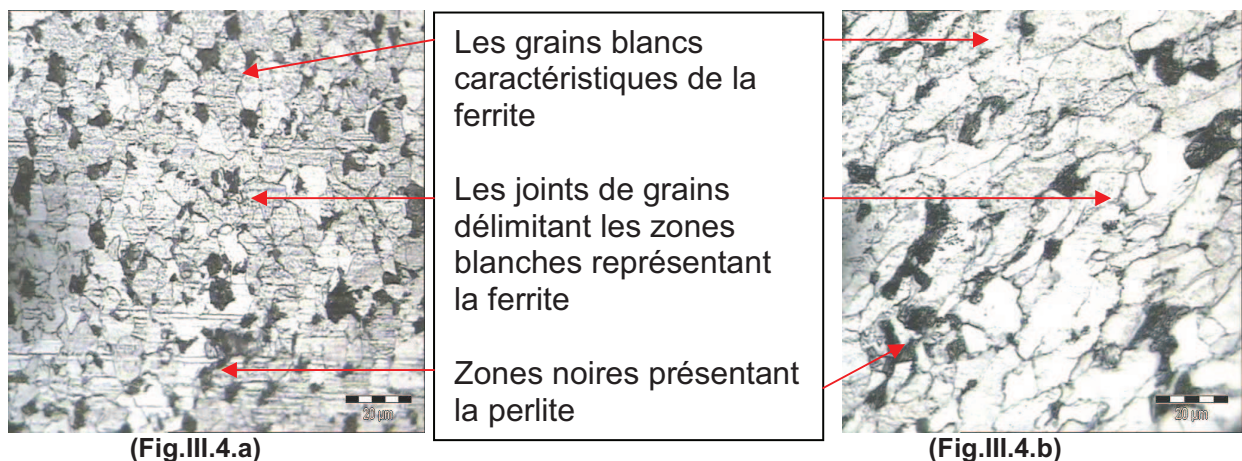
Plusieurs phénomènes se passent au cours du traitement par plasma. Sous l'effet du champ électrique qui règne à l'intérieur de l'enceinte en verre, les électrons sont accélérés dans le gaz plasmagène et acquièrent une énergie suffisante pour arracher d'autres électrons aux atomes neutres résiduels, et ainsi se multiplier avant d'être absorbés par l'anode. Chemin faisant, ils abandonnent des ions gazeux chargés positivement, qui remontent lentement vers la cathode. Pratiquement, chaque fois qu'un ion positif percute la cathode (pièce à traiter), il libère un nouvel électron de la surface métallique. Celui-ci redescend à son tour vers l'anode en se multipliant le long du trajet, etc. Lorsque tous les électrons perdus à l'anode sont exactement remplacés par des électrons émis à la cathode, la décharge électrique devient "autonome" (**Booth, 1984 ; Sarrazin & al., 2000 ; Torregrosa, 2004**). Cette décharge est le résultat d'une excitation électronique ; lors du choc avec un électron libre, un électron des couches périphériques de l'atome percuté (atome cible) migre sur une orbitale extérieure plus énergétique. Cette dernière est instable, l'électron redescend immédiatement sur son orbitale d'origine en émettant un photon lumineux. Lorsque le courant délivré par le générateur extérieur est suffisant, la décharge devient "luminescente" et visible à l'œil nu. Sa couleur est donnée par un ensemble de raies spectrales caractéristiques de la nature du gaz d'épreuve ; l'oxygène donne une couleur violette mauve avec des régions bien distinctes, alternativement sombres et lumineuses (**Audisio & al., 1999 ; Booth, 1984**).

Dans la décharge, le plasma électriquement conducteur met à profit cette propriété pour refouler le champ électrique vers ses frontières. La chute de potentiel se localise ainsi dans une "gaine" sombre adjacente à la cathode (pièce à traiter).

### III.1.2. Caractérisation des éprouvettes d'acier avant et après traitement par plasma

#### III.1.2.1. Analyse de la microstructure de l'acier API 5L X52 par attaque chimique

La figure III.4 donne la microstructure de l'acier API 5L X52 après l'attaque NITAL.

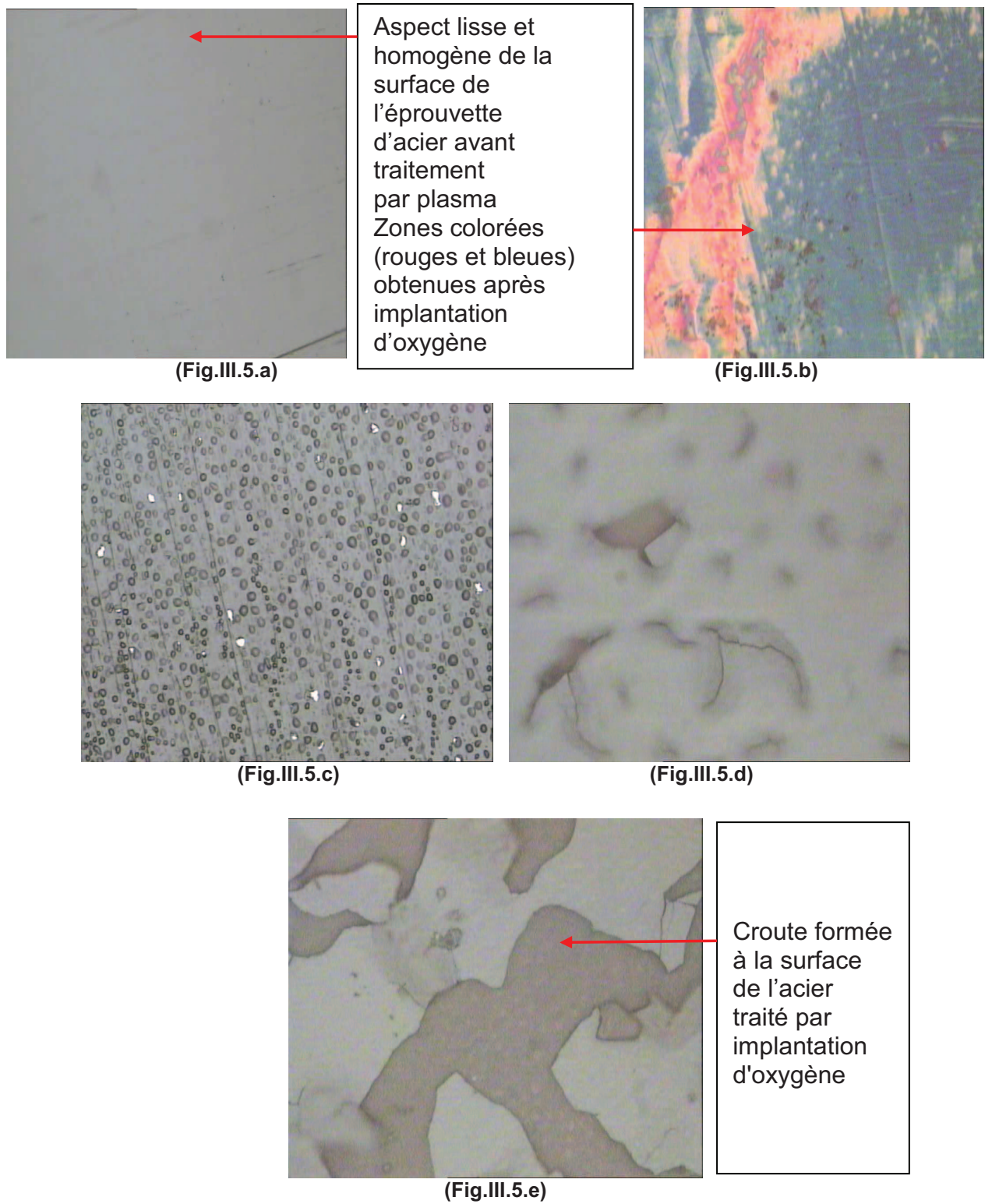


**Fig.III.4.** Micrographies de l'état de surface de l'acier au carbone API 5L X52 soumis à l'attaque chimique NITAL.

Les micrographies montrent que l'acier API 5L X52, présente deux phases : la ferrite et la perlite noire. La ferrite est une solution solide de carbone dans le fer de forme cubique centrée, elle est présentée par des grains blancs délimités par des joints de grains bien distincts. La perlite est issue de la transformation eutectoïde de l'acier, c'est un agrégat de ferrite et de cémentite de morphologie parfois nodulaire (**ASM HANDBOOK, 1985**).

### III.1.2.2. Caractérisation au microscope métallographique

Les illustrations suivantes donnent l'aspect de surface des éprouvettes d'acier avant et après traitement par implantation ionique (Fig.III.5).



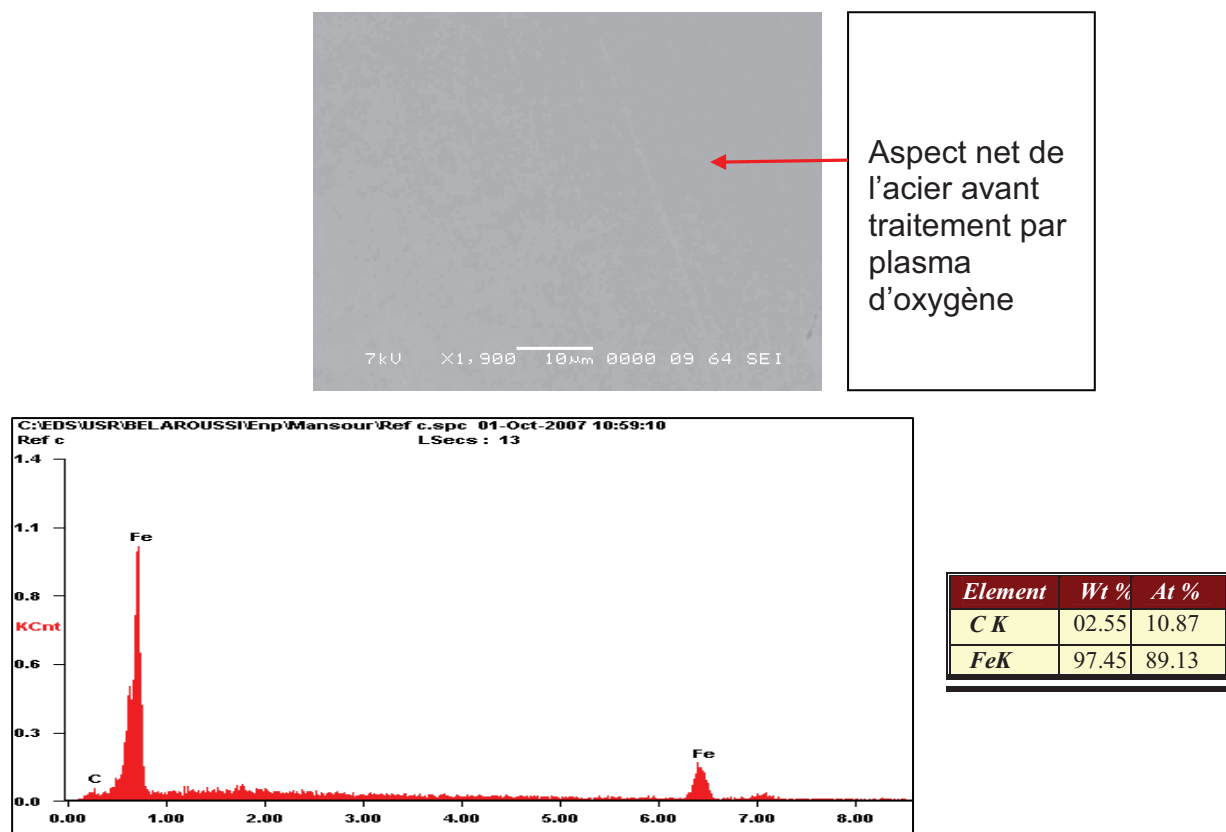
**Fig.III.5.** Micrographies des éprouvettes d'acier non traitées (a: 1000X) et traitées (b: 1000X, c: 1000X, d: 1000X, e: 1000X) par plasma d'oxygène à différentes étapes du traitement.

## Résultats et interprétations

Les résultats montrent que l'éprouvette non traitée par plasma d'oxygène (Fig.III.5.a), présente une homogénéité de surface et de couleur, avec un aspect très net. Cependant, les éprouvettes traitées présentent au début du traitement (Fig.III.5.b), une couleur nettement différente ; des zones bleues et rouge brun, par la suite, la surface présente des inclusions de petites tailles et de formes rondes à ovales (Fig.III.5.c). Ces inclusions augmentent de taille au cours du traitement, et tendent à s'agglomérer pour permettre la formation d'une croûte sur la surface des éprouvettes (Fig.III.5.d et Fig.III.5.e). Ces dernières ont une couleur noire. L'implantation d'ions induit une modification de l'état microstructural de la région superficielle du substrat traité, suite à l'amorphisation, à la formation de verres métalliques et à la création de solutions solides sursaturées (**Audisio & al., 1999 ; IBS, 2004**).

### III.1.2.3. Caractérisation au MEB avec analyse EDS

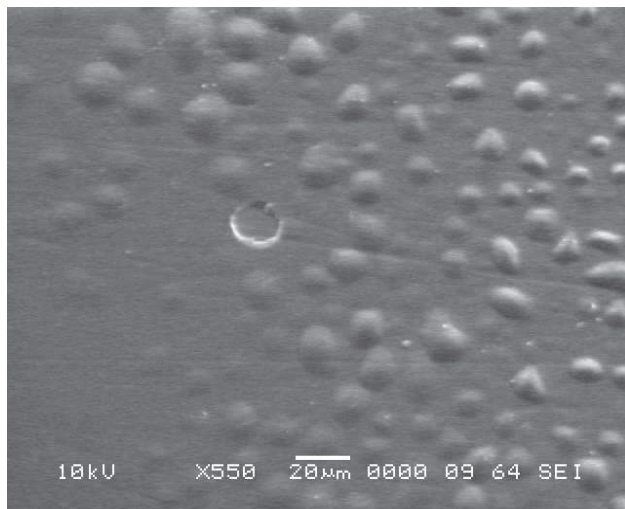
Les illustrations suivantes (Fig.III.6, Fig.III.7 & Fig.III.8) donnent les résultats de la caractérisation au MEB des éprouvettes avant et après traitement, et leur analyse EDS.



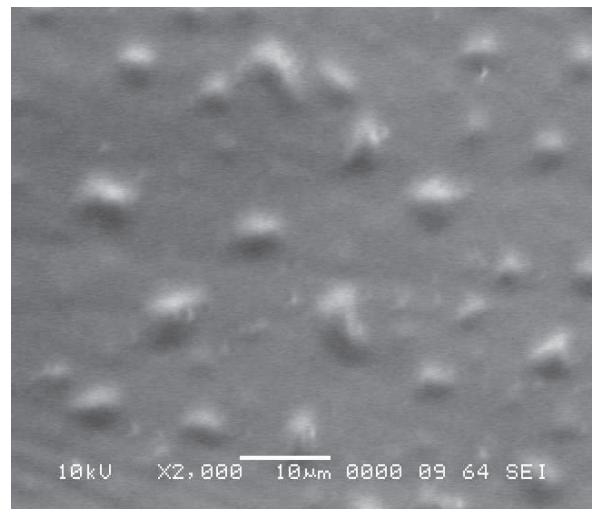
**Fig.III.6.** Micrographie électronique avec analyse EDS (Intensité en fonction de l'énergie en KeV) d'une éprouvette d'acier avant traitement par plasma d'oxygène.

L'éprouvette d'acier non traitée, montre un aspect homogène et très net de la surface (Fig.III.6). L'analyse EDS montre la présence de deux pics caractéristiques du fer et du carbone. Le pourcentage massique de C est de 2,55 % et celui de Fe est de 97,45 %. La concentration en carbone donnée par l'analyse EDS n'est pas celle habituellement trouvée pour les aciers au carbone, cette anomalie est expliquée par le fait que la quantification des éléments légers par EDS, n'est pas trop significative ou représentative.

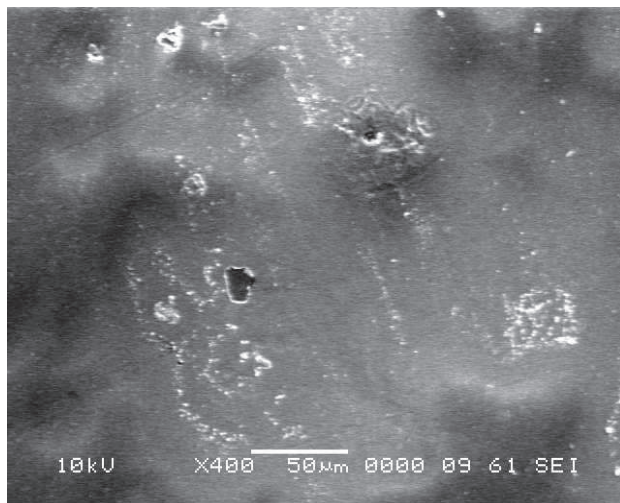




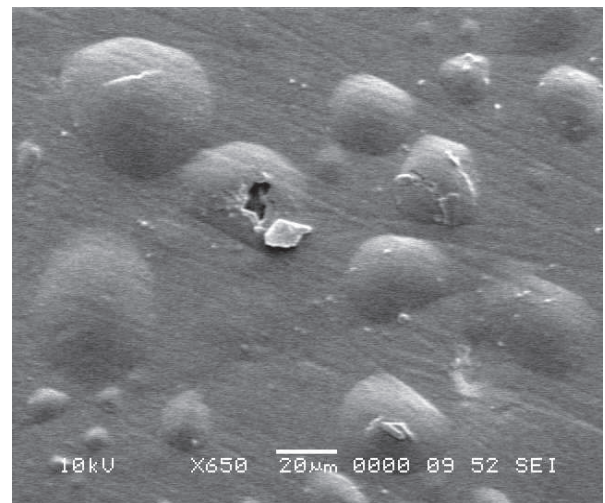
(Fig.III.7.a)



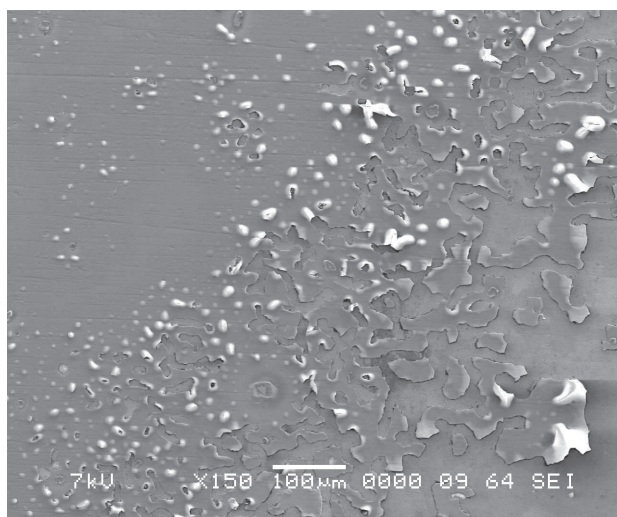
(Fig.III.7.b)



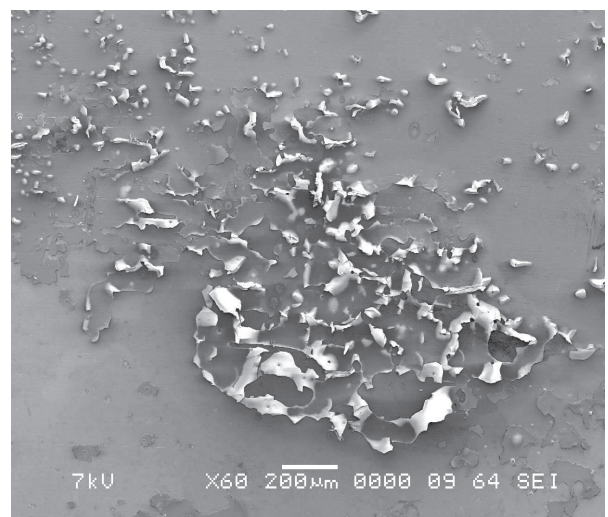
(Fig.III.7.c)



(Fig.III.7.d)

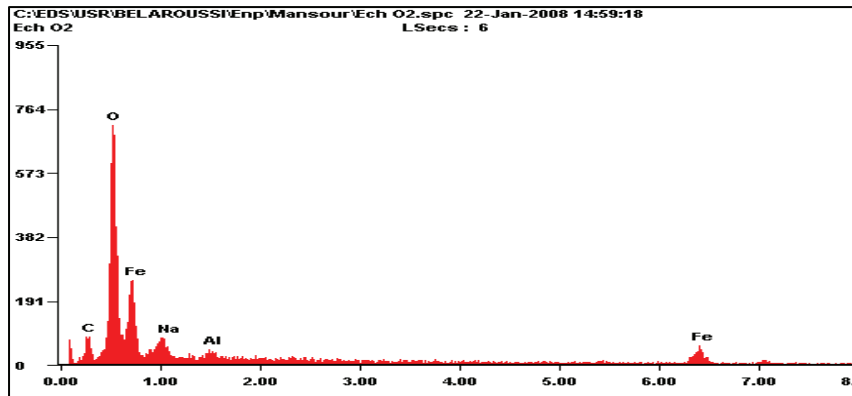


(Fig.III.7.e)



(Fig.III.7.f)

**Fig.III.7.** Micrographies électroniques d'une éprouvette d'acier à différentes étapes du traitement par plasma d'oxygène.



Element	Wt %	At %
C K	08.29	16.39
O K	39.76	59.01
NaK	03.40	03.52
AlK	00.97	00.85
FeK	47.58	20.23

**Fig.III.8.** Microanalyse EDS (Intensité en fonction de l'énergie en KeV) de la surface d'une éprouvette d'acier traitée par plasma.

Les micrographies des éprouvettes traitées par plasma d'oxygène, montre que les inclusions vues au microscope métallographique, correspondent à des gonflements (Fig.III.7.a & Fig.III.7.b) qui se perforent (Fig.III.7.c & Fig.III.7.d) pour donner une croûte caractéristique à ce procédé (Fig.III.7.e & Fig.III.7.f). L'analyse EDS détermine la composition élémentaire de la couche implantée (Fig.III.8), il s'agit essentiellement d'un mélange d'oxygène et du fer, avec du carbone, du sodium et d'aluminium. Le pourcentage massique en O dépasse 39 % et celui de Fe dépasse 47 %, pour le pourcentage atomique il y'a un excès d'oxygène (plus de 59 %) par rapport au fer (près de 20 %), donc la couche implantée est un complexe du fer et d'oxygène. Le fer révélé est issu de la matrice originale de l'acier, l'oxygène est issu du gaz plasmagène (oxygène). Les éléments en état de traces révélés (Na, Al), peuvent être des contaminants provenant de l'enceinte du traitement (passages électriques en céramique), et l'excès de carbone provient généralement des huiles des pompes utilisées. A noter que l'EDS en tant qu'analyse ponctuelle, peut ne pas détecter tous les éléments présents sur l'échantillon analysé.

#### III.1.2.4. Caractérisation par fluorescence des rayons X

Les résultats obtenus sont consignés sur le tableau suivant (Tab.III.1).

**Tableau.III.1.** Composition en % de l'acier donnée par fluorescence des rayons X avant et après traitement par plasma d'oxygène.

Elément	Fe	Cr	Ni	Mn	Si	Cu	Zn	V	S	P	Al	Ca	K	Cl	C
Eprouvette d'acier non traitée par plasma d'oxygène	96,35	0,078	0,078	1,179	0,15	0,1715	0	0,0423	0,012	0,010	0,012	0	0,046	0,07	0,29
Eprouvette d'acier traitée par plasma d'oxygène	96,35	<b>0,32</b>	<b>0,14</b>	1,27	<b>0,36</b>	<b>0,57</b>	<b>0,37</b>	0,042	0,020	0,015	0,02	<b>0,21</b>	0,11	0,20	0,29

La composition de l'acier au carbone API 5L X52 avant et après traitement de surface, donnée par fluorescence X renferme un pourcentage similaire en fer (96 %), de même pour les teneurs en éléments suivants : C, V, S, Mg, Al, Cl et P. Par contre, des pourcentages différents sont notés pour le Cr, Ni, Si, Cu, Zn et Ca.

Les changements des pourcentages sont issus des modifications apportées par le traitement par plasma d'oxygène; les composantes de l'enceinte du traitement, le porte

## Résultats et interprétations

échantillon et les éventuels gaz contaminants, peuvent interférer avec le gaz plasmagène et induire par conséquent des modifications de composition.

### III.1.2.5. Caractérisation par diffraction des rayons X

Les diffractogrammes obtenus sont donnés par la figure III.9 et la figure III.10.

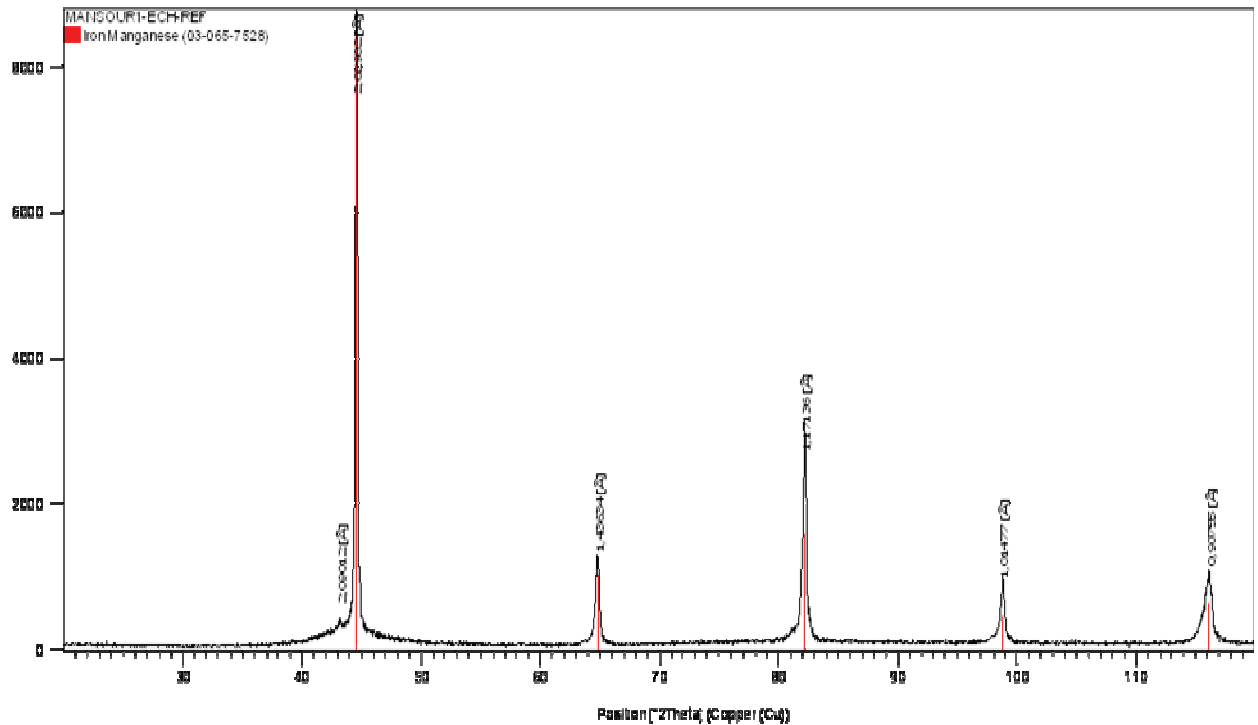


Fig.III.9. Diffractogramme de l'éprouvette d'acier non traitée par plasma d'oxygène.

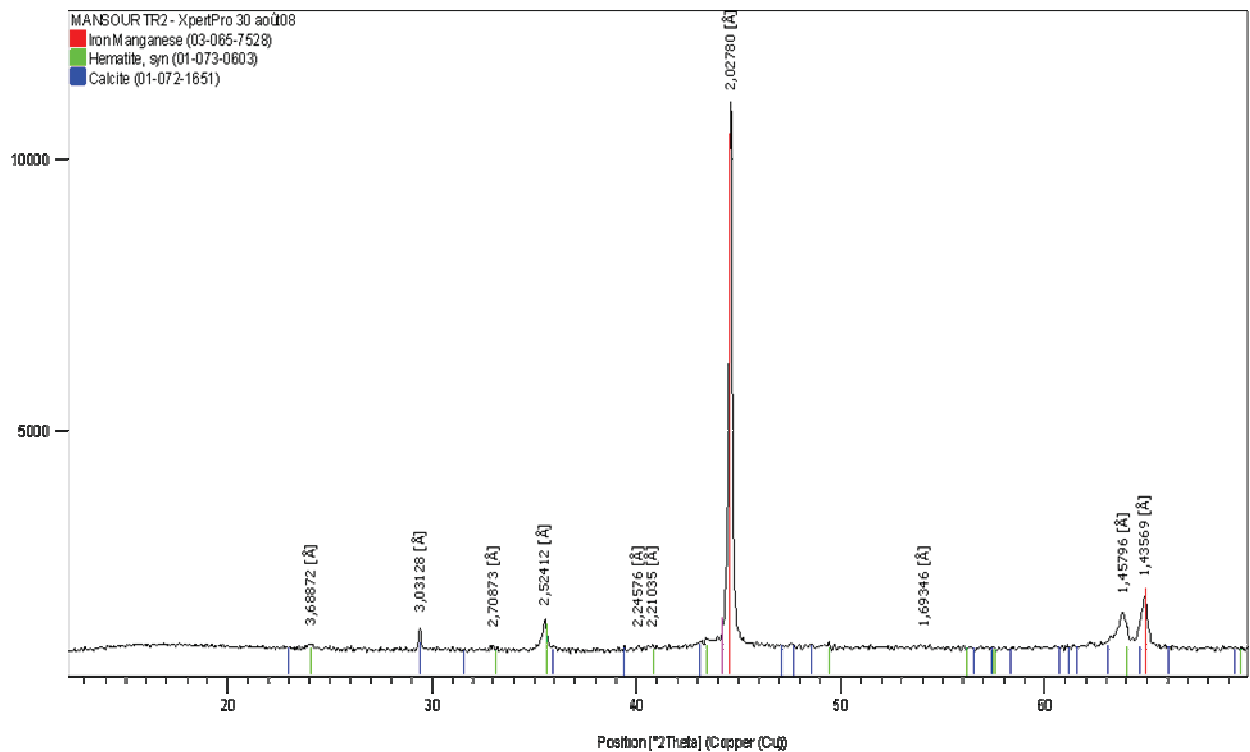


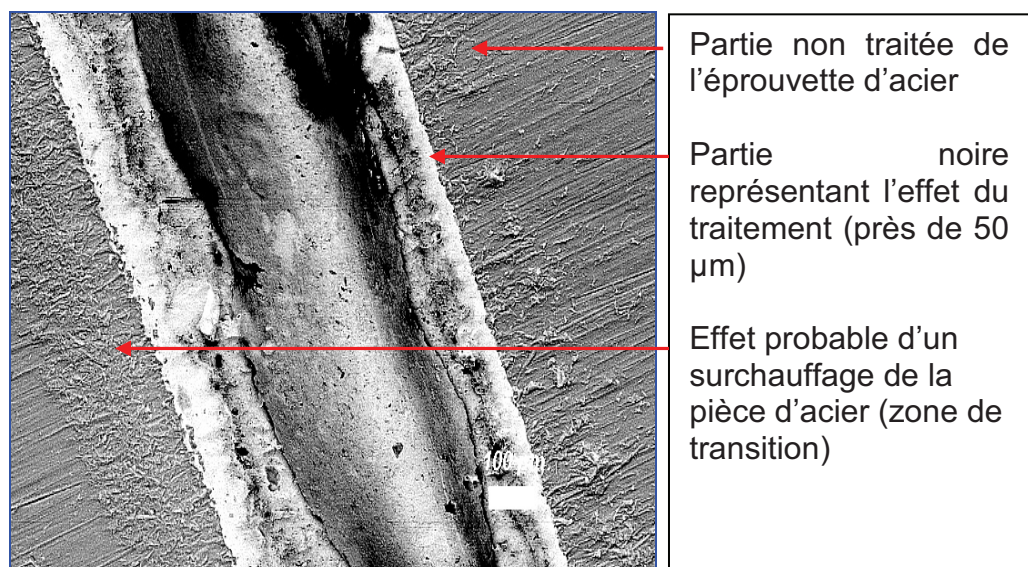
Fig.III.10. Diffractogramme de l'éprouvette d'acier traitée par plasma d'oxygène.



Le diffractogramme de l'éprouvette d'acier non traitée (Fig.III.9), met en évidence la présence d'une seule phase « fer manganèse » ( $\text{Fe}_{19}\text{Mn}$ ), l'éprouvette traitée par plasma d'oxygène montre en plus de cette phase principale, deux autres formes cristallographiques, à savoir l'hématite ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) et la calcite ( $\text{CaCO}_3$ ) (Fig.III.10). Vu sa composition, l'hématite est issue du traitement de surface, l'oxygène ionisé bombardant la surface de l'éprouvette d'acier se lie avec les atomes du fer du matériau de base pour former le complexe  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ . Ces résultats consolident ceux obtenus par analyse EDS, où un excès d'oxygène par rapport au fer est détecté. Le dépôt formé suite à l'implantation d'oxygène est donc de l'hématite. La calcite révélée peut être le résultat d'un dépôt contaminant, issu de l'installation du traitement par plasma. La calcite n'est pas détectée par la microanalyse EDS, car cette dernière est ponctuelle et non représentative de tout l'échantillon.

### III.1.2.6. Détermination de l'épaisseur de la couche implantée sur les éprouvettes d'acier

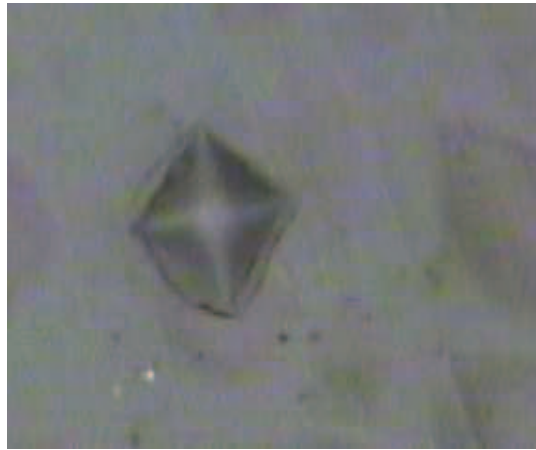
L'analyse de la micrographie électronique prise sur la découpe des éprouvettes d'acier traitées par plasma d'oxygène (Fig.III.11), montre que la couche implantée formée sur la surface des éprouvettes d'acier, a une couleur sombre par rapport à la couleur de l'acier et mesure près de  $50\ \mu\text{m}$ . Ainsi, une faible couche qui suit la couche implantée est observée, c'est une probable zone de transition qui vient juste avant le matériau de base. Ceci peut être expliqué par un effet secondaire du traitement (effet d'un surchauffage des échantillons). En implantation ionique, les ions formés se répartissent dans la profondeur du substrat de façon approximativement gaussienne (CETIM, 1994).



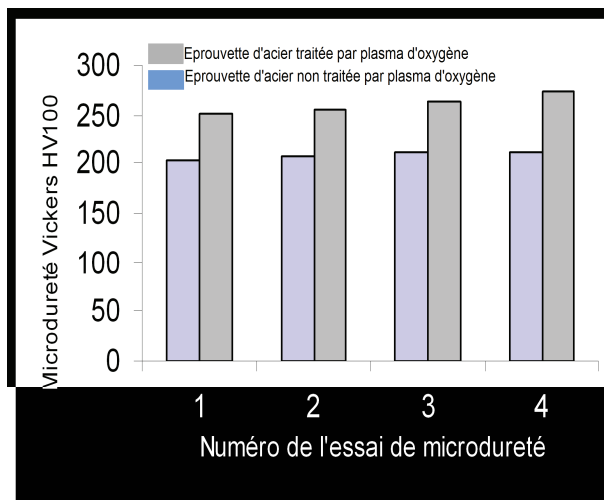
**Fig.III.11.** Micrographie électronique d'une découpe d'éprouvettes d'acier traitées par plasma d'oxygène.

### III.1.2.7. Mesure de la microdureté

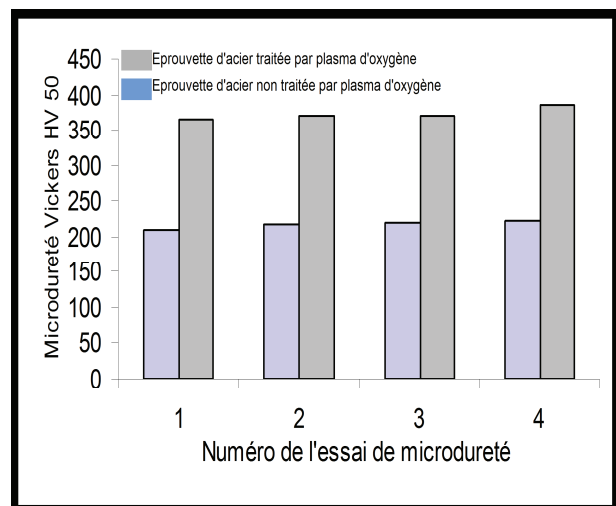
L'empreinte de la pyramide du microduromètre obtenue sur une éprouvette d'acier traitée, est donnée par la figure III.12. Les résultats des mesures de la microdureté sont illustrés sur la figure III.13.



**Fig.III.12.** Micrographie de l'empreinte de la pyramide du microduromètre sur une éprouvette d'acier traitée par plasma d'oxygène (500X).



**(Fig.III.13.a)**



**(Fig.III.13.b)**

**Fig.III.13.** Microduretés HV<sub>100</sub> (a) et HV<sub>50</sub> (b) mesurées sur une éprouvette d'acier neuve et sur une éprouvette d'acier traitée par plasma d'oxygène.

Les résultats montrent que l'éprouvette traitée par plasma d'oxygène, présente une dureté Vickers plus grande que celle obtenue pour l'éprouvette non traitée, ceci, quelque soit la charge appliquée (50g ou 100 g). Les microduretés moyennes de l'éprouvette traitée sont de 261,325 HV<sub>100</sub> et 373,875 HV<sub>50</sub> et celles de l'éprouvette non traitée sont de 203,475 HV<sub>100</sub> et 218 HV<sub>50</sub>. Le traitement de surface par plasma d'oxygène améliore donc, la dureté des éprouvettes traitées. Ces dernières présentent une augmentation significative de la microdureté, en passant de la charge 100 g à la charge 50 g (de 261,325 HV<sub>100</sub> à 373,875 HV<sub>50</sub>), ce qui peut être expliqué par le fait que la charge 50 g touche une faible épaisseur correspondant à celle de la couche implantée, et que même l'indentation avec la charge 100 g n'atteint pas le matériau original.

L'implantation d'ions induit une modification de l'état microstructural de la région superficielle, permettant ainsi la modification du mode de déformation en introduisant par exemple, des obstacles au mouvement des dislocations : formation d'une seconde phase ou d'une fine dispersion de précipités durs (Audisio & al., 1999 ; IBS, 2004).

## Résultats et interprétations

### III.1.3. Evaluation du traitement de surface par plasma d'oxygène

#### III.1.3.1. Essais de résistance des éprouvettes d'acier traitées et non traitées

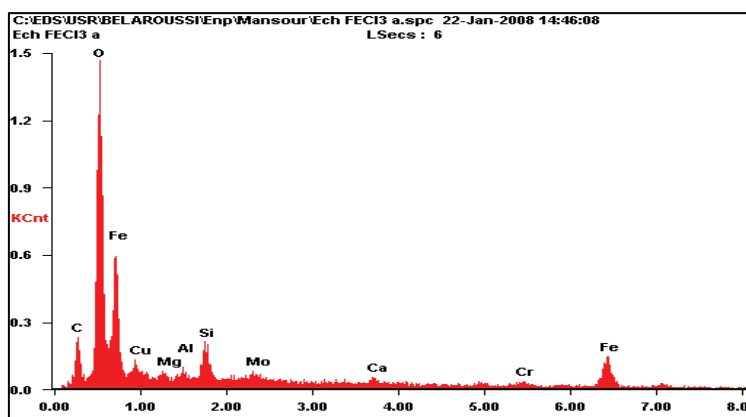
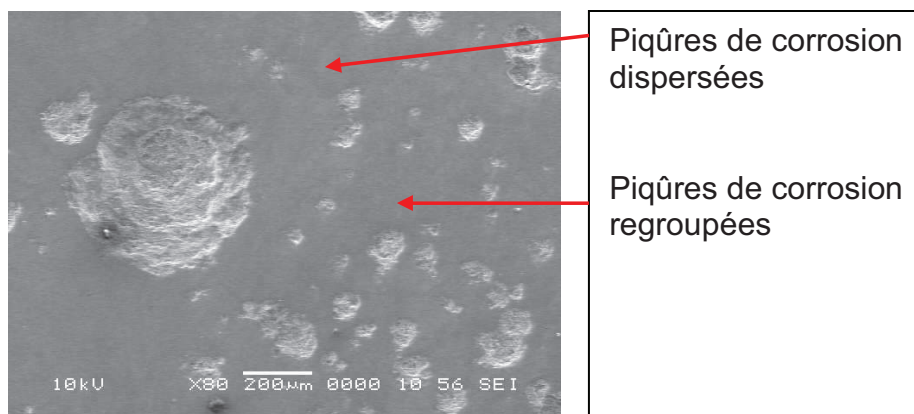
Les résultats des essais de résistance sont résumés dans le tableau suivant (Tab.III.2).

**Tableau.III.2.** Résultats des essais de résistance sur les différentes éprouvettes d'acier.

Paramètres Type d'éprouvette	Température de test de 50 °C		Température de test de 22 °C	
	Perte de poids	% de piqûres	Perte de poids	% de piqûres
Eprouvette d'acier non traitée (API 5L X52)	200,934 mg/cm <sup>2</sup>	79,4 %	171,993 mg/cm <sup>2</sup>	77,6 %
Eprouvette d'acier traitée par plasma	122,848 mg/cm <sup>2</sup>	57,4 %	147,690 mg/cm <sup>2</sup>	52,8 %

Les résultats montrent que les éprouvettes d'acier traitées par plasma d'oxygène, présentent des pertes de poids et des pourcentages de piqûres plus faibles que ceux des éprouvettes non traitées, ceci est probablement dû à une résistance à la corrosion acquise après traitement. Ainsi, la corrosion est relativement plus sévère à 50 °C qu'à 22 °C, la température est connue comme un facteur qui favorise la corrosion.

La figure suivante (Fig.III.14) illustre les piqûres de corrosion après l'essai d'immersion, et donne leur analyse EDS.



Element	Wt %	At %
C K	07.84	17.74
O K	29.37	49.88
Cu L	03.41	01.46
Mg K	00.72	00.80
Al K	00.60	00.61
Si K	02.61	02.53
Mo L	01.68	00.47
Ca K	01.16	00.78
Cr K	03.35	01.75
Fe K	49.26	23.97

**Fig.III.14.** Micrographie électronique de la surface d'une éprouvette d'acier soumise à l'essai de résistance, dans une solution de FeCl<sub>3</sub>, avec microanalyse EDS (Intensité en fonction de l'énergie en KeV) d'une piqûre après décapage.

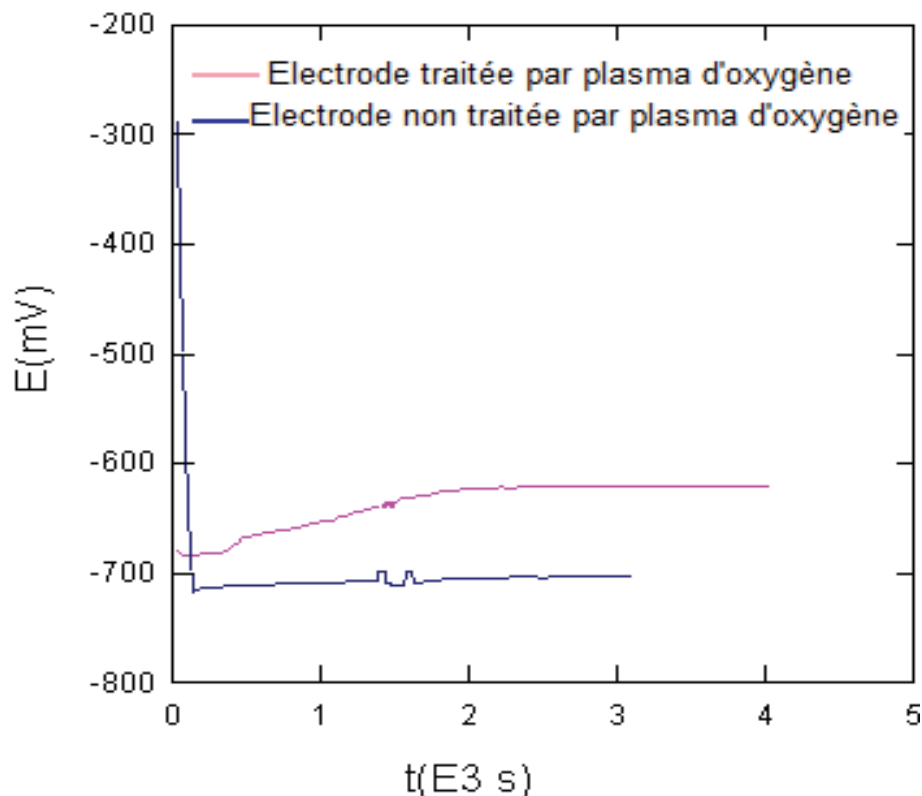
## Résultats et interprétations

Les piqûres apparaissent profondes et la surface de l'éprouvette présente des irrégularités. Le contenu des piqures est essentiellement composé d'oxygène et de fer, correspondant probablement aux oxydes de fer (produits de corrosion). D'autres éléments sont révélés : C, Cu, Mo, Si, Ca et Cr, ainsi que des traces de : Mg, Al, ces éléments sont issus de la solution d'essai ou du matériau (acier).

### III.1.3.2. Essais électrochimiques

#### III.1.3.2.1. Potentiel de corrosion à l'abandon

Les tracés du potentiel à l'abandon en fonction du temps des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène sont représentés sur la figure III.15. Les paramètres électrochimiques des essais sont donnés dans le tableau III.3.



**Fig.III.15.** Evolution du potentiel à l'abandon en fonction du temps des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.

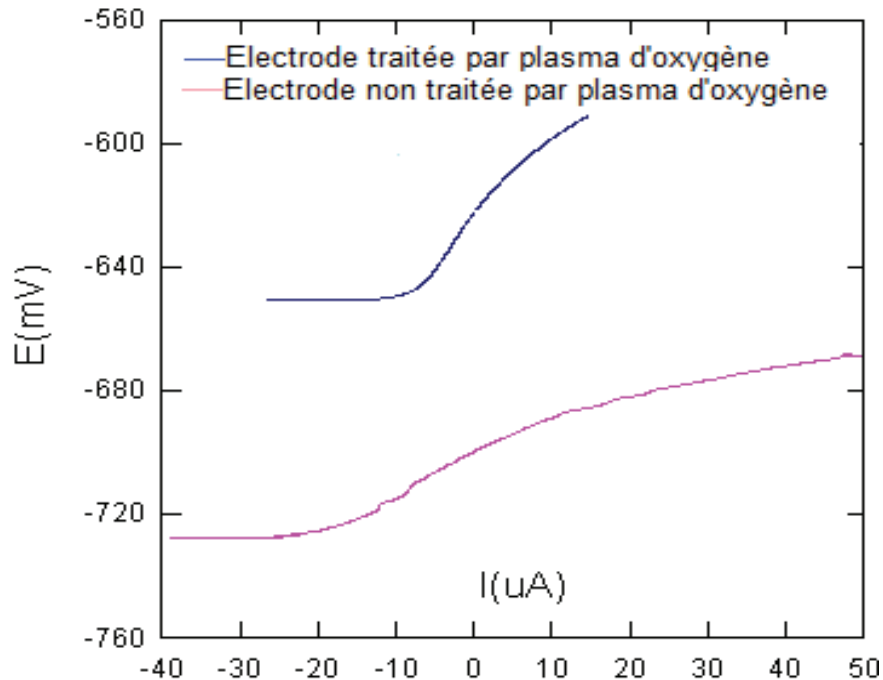
**Tableau.III.3.** Paramètres électrochimiques relevés des tracés du potentiel à l'abandon des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène, immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.

Electrode	Potentiel à l'abandon/ECS (mV)
Électrode non traitée (API 5L X52)	- 703
Electrode traitée par plasma d'oxygène	- 622

Les résultats montrent une protection apparente par une variation du potentiel à l'abandon de l'électrode revêtue, vers les zones cathodiques. Ceci, permet de dire que le dépôt résultant du traitement par plasma, présente un comportement cathodique.

III.1.3.2.2. Résistance de polarisation linéaire

Les tracés de  $R_p$  des deux électrodes, traitée et non traitée, sont représentés sur la figure III.16. Les paramètres électrochimiques sont donnés dans le tableau III.4.



**Fig.III.16.** Evolution du potentiel en fonction de la densité du courant des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.

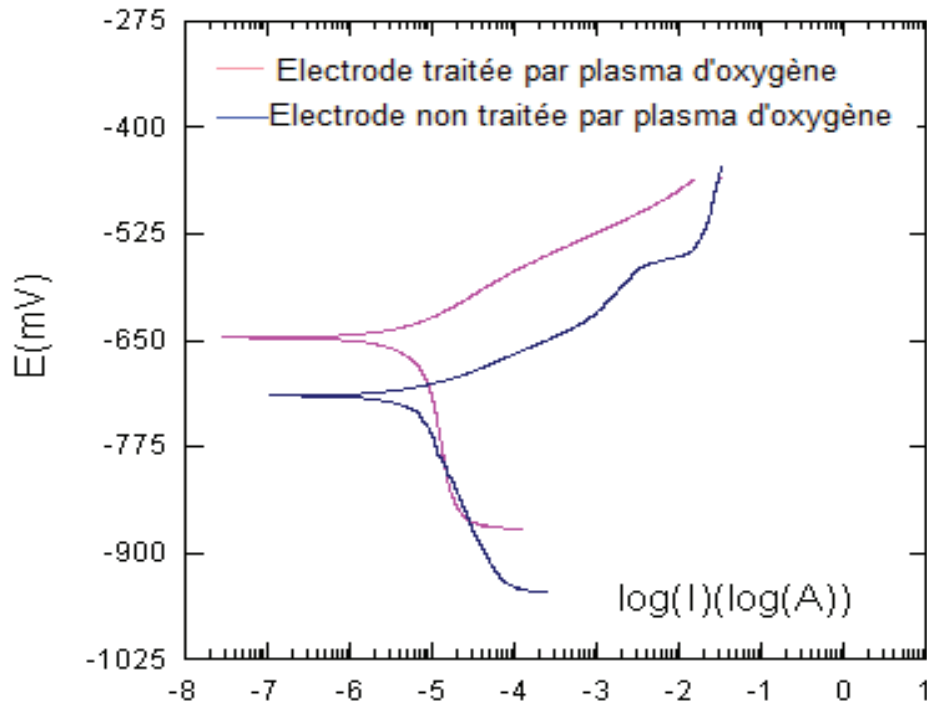
**Tableau.III.4.** Paramètres électrochimiques relevés des tracés de la résistance de polarisation des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène, immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.

Electrode	$E_{cor} (i=0)$ mV/ECS	$I_{cor} (R)$ $\mu A$	$V_{cor}$ mm/an	$R_p$ K $\Omega$
Électrode non traitée (API 5L X52)	-699,5	14,64	0,113	1,478
Electrode traitée par plasma d'oxygène	-621,9	5,787	0,063	3,757

Les résultats obtenus montrent que la  $R_p$  augmente significativement pour l'électrode revêtue. Le revêtement formé suite au traitement par plasma d'oxygène, confère à l'électrode traitée une protection vis-à-vis à la corrosion dans le milieu utilisé.

III.1.3.2.3. Tracés des droites de Tafel

Les tracés des droites de Tafel des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène, sont représentés sur la figure III.17. Les paramètres électrochimiques des essais sont donnés dans le tableau III.5.



**Fig.III.17.** Tracés des droites de Tafel ( $\log I = f(E)$ ) des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.

**Tableau III.5.** Paramètres électrochimiques relevés des tracés des droites de Tafel, des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène, immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.

Electrode	Ecor (i=0) mV/ECS	Icor $\mu A$	Vcor mm/an	$\beta_c$ V/decade
Electrode non traitée (API 5L X52)	-715,7	10,85	0,0837	$-634,1 \cdot 10^{-3}$
Electrode traitée par plasma d'oxygène	-647	5,954	0,045	$-371,8 \cdot 10^{-3}$

Les résultats révèlent un comportement cathodique du revêtement résultant du traitement par plasma d'oxygène ; le potentiel de l'électrode traitée se déplace vers les zones cathodiques. La vitesse de corrosion chute de 0,0837 mm/an pour l'électrode non traitée à 0,045 mm/an pour l'électrode traitée. Ceci, prouve que le revêtement formé confère une protection à l'acier au carbone API 5L X52 contre la corrosion.

#### III.1.3.2.4. Spectroscopie d'impédance électrochimique

Les tracés d'impédance électrochimique des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène, sont représentés sur la figure III.18. Les paramètres électrochimiques des essais sont donnés dans le tableau III.6.

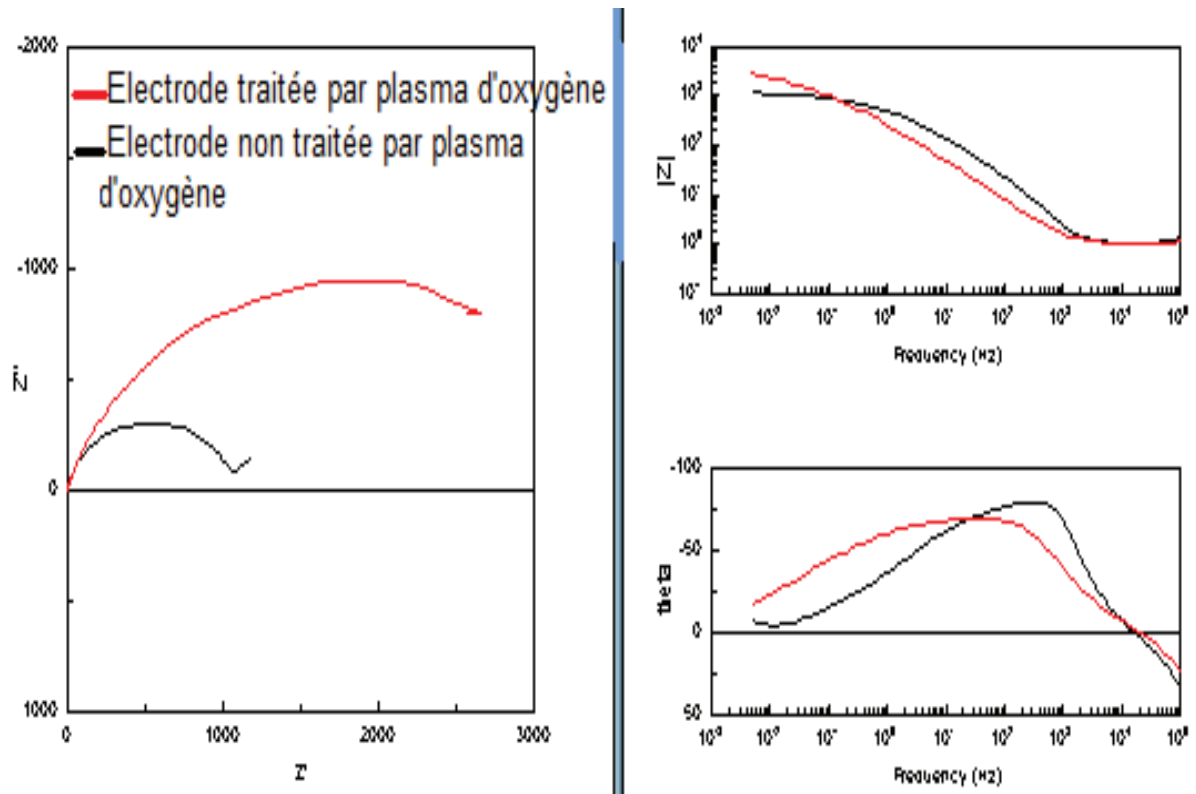
**Tableau III.6.** Paramètres électrochimiques relevés des tracés d'Impédance électrochimique des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène, immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl.

Electrode	Résistance de l'électrolyte ( $R_e$ ) ( $\Omega$ )	Résistance de transfert de Charge ( $R_p$ ) ( $\Omega$ )	Capacité de la double couche électrique ( $C_{dl}$ ) ( $\mu Fa$ )
Electrode non traitée (API 5L X52)	1077,4	1113,8	239,42
Electrode traitée par plasma d'oxygène	997	3547,6	2252,5



## Résultats et interprétations

Les résultats obtenus montrent que la résistance de polarisation augmente pour l'électrode traitée par plasma d'oxygène par rapport à l'électrode non traitée, ce qui concorde avec les résultats des essais de la résistance de polarisation et prouve que la couche implantée joue le rôle d'un film protecteur contre la corrosion.



**Fig.III.18.** Tracés d'Impédance électrochimique des deux électrodes, traitée et non traitée par plasma d'oxygène immergées dans une solution à 3,5 % de NaCl : (a) : diagramme dans le plan de Nyquist (b) et (c): diagrammes dans le plan de Bode.

## Résultats et interprétations

### III.2. Etude et caractérisation des BSR

#### III.2.1. Caractérisation du consortium de BSR

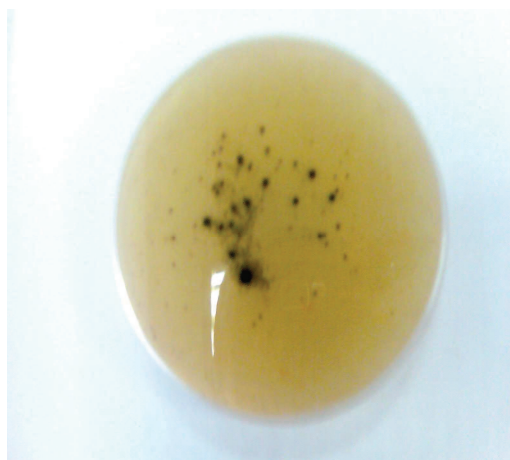
##### III.2.1.1. Caractéristiques morphologiques et de différenciation

Les résultats de la caractérisation morphologique (macro & microscopique) des colonies de BSR et des tests de différenciation, sont illustrés dans le tableau suivant (Tab.III.7).

**Tableau III.7.** Caractérisation des colonies du consortium de BSR.

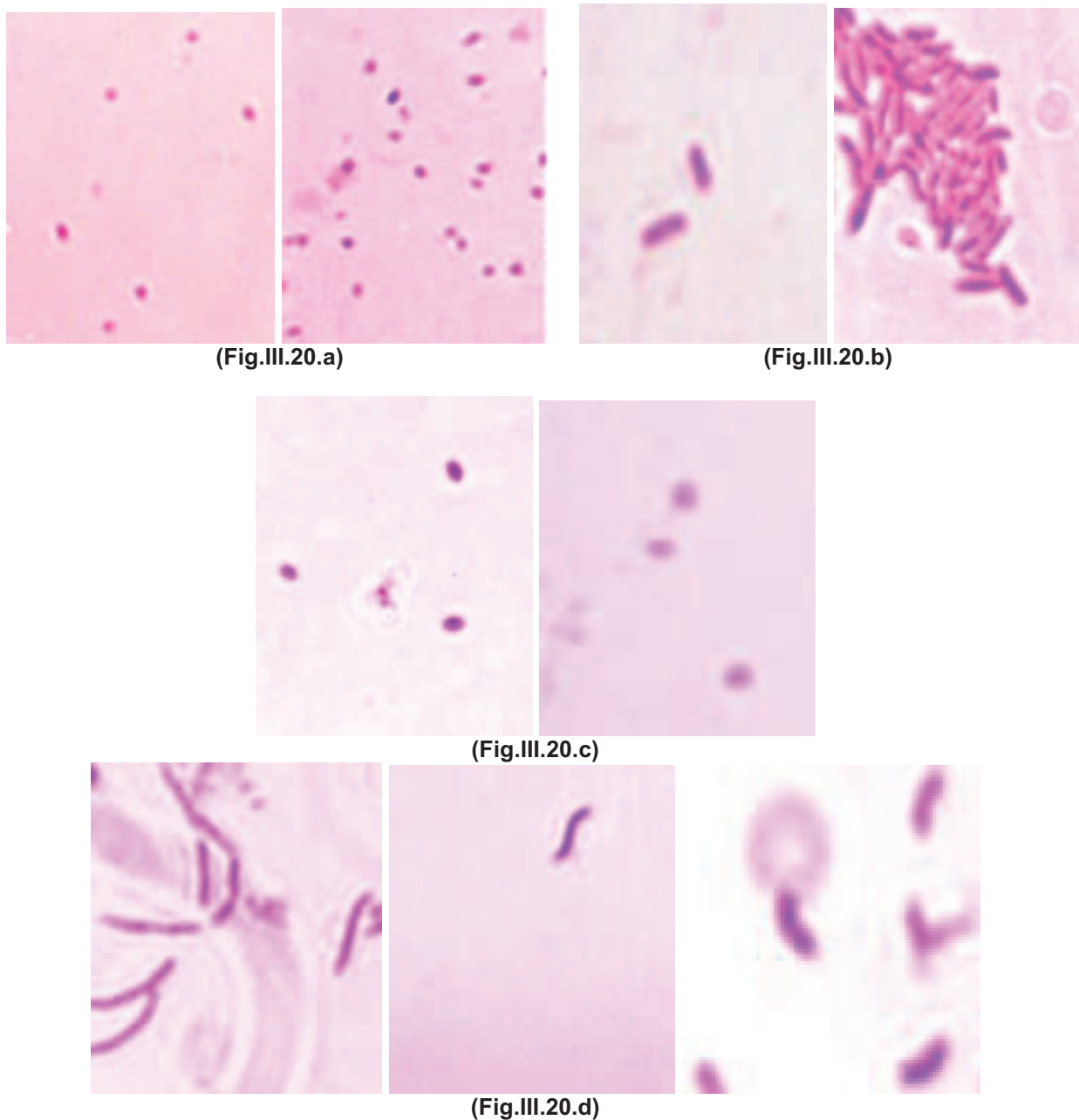
Colonie	BSR 1	BSR 2	BSR 3	BSR 4
Caractère				
Chromogénèse	Grisâtre	Orange, couleur de pêche	Blanchâtre (blanc nacré)	Noire
Forme	Circulaire	Circulaire	Circulaire	Circulaire
Taille	Punctiforme	Non punctiforme	Non punctiforme	Punctiforme ou non
Consistance	Non déterminée	Visqueuse	Visqueuse	Visqueuse
Opacité	Opaque ou non	Translucide à opaque	Opaque	Opaque
Allure des contours	Régulier	Très régulier	Très régulier	Très régulier
Surface	Non déterminée	Lisse et brillante	Lisse et brillante	Lisse
Elavation	Non déterminée	Légèrement bombée	Plate	Plate
Gram et forme	Gram négatif Cocci très fins	Gram négatif Bacilles droits ou légèrement incurvés	Gram négatif Forme citron ou oignon, ovoïde avec extrémités pointues	Gram négatif Bâtonnets incurvés, vibron ou spirale
Regroupement	Isolés Diplocoque Triplocoque Tétrade En chaîne En amas	Isolés Regroupés	Isolés En paire	Isolés Regroupés
Mobilité	Mobile	Mobile	Mobile	Mobile
Test de production des sulfures	Positif	Positif	Positif	Positif
Test de formation de spore	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

La figure suivante (Fig.III.19) donne l'aspect morphologique de la BSR 4. Des colonies noires sont obtenues dans la masse du milieu. Ce type de colonies est caractéristique du genre *Desulfovibrio*.



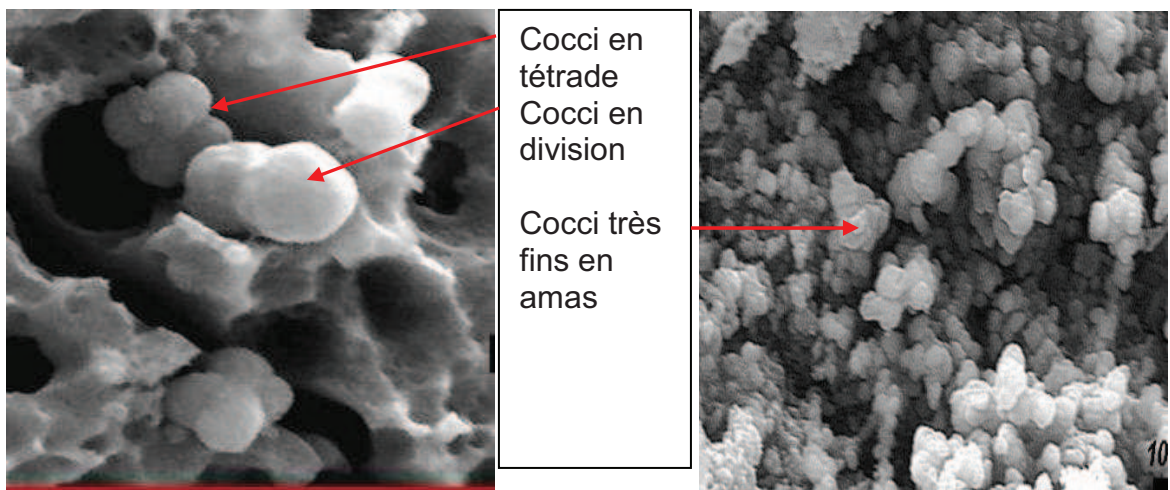
**Fig.III.19.** Morphologie de BSR 4 ensemencée sur le milieu solide API après 7 jours d'incubation à 40 °C en anaérobiose.

La figure III.20 donne le résultat des observations microscopiques des colorations Gram faites sur les différentes colonies de BSR, obtenues sur milieu solide.

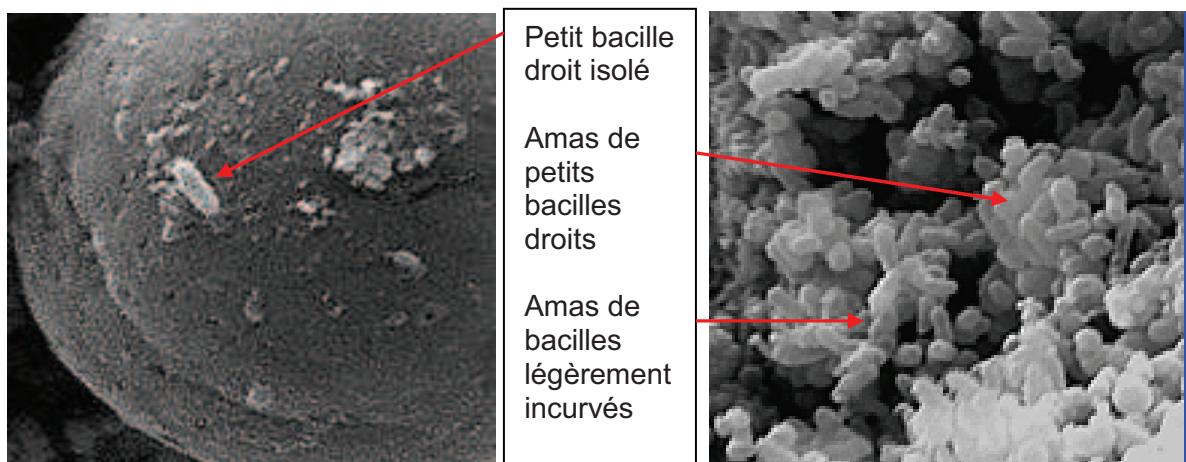


**Fig.III.20.** Observations microscopiques des colorations Gram des différentes colonies obtenues sur les milieu API : BSR1 (a), BSR2 (b), BSR3 (c), BSR4 (d) (GX100).

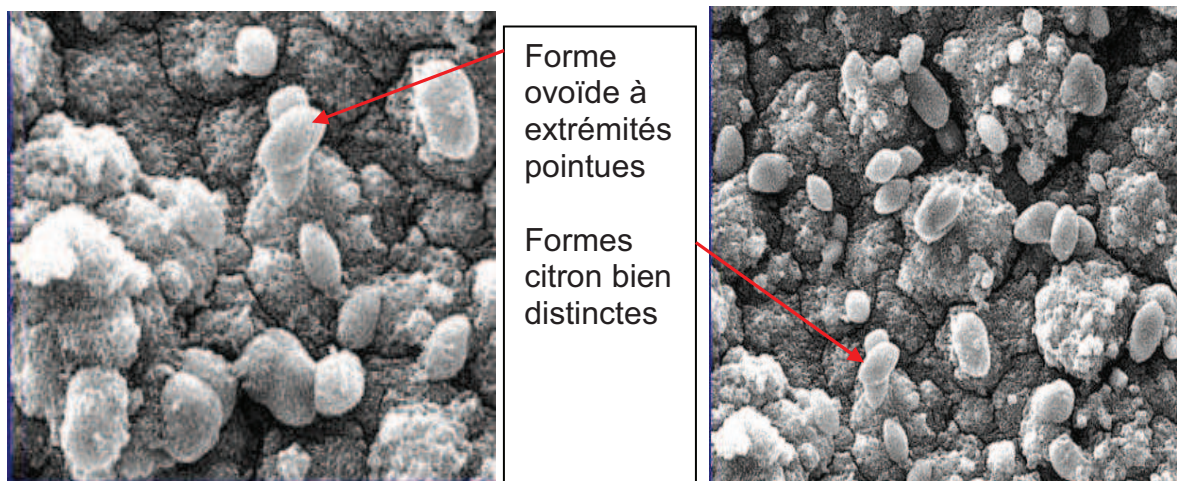
Les micrographies prises au MEB (Fig.III.21), confirment la richesse du consortium de BSR étudié et illustrent les différentes formes cellulaires de BSR isolées.



(Fig.III.21.a)

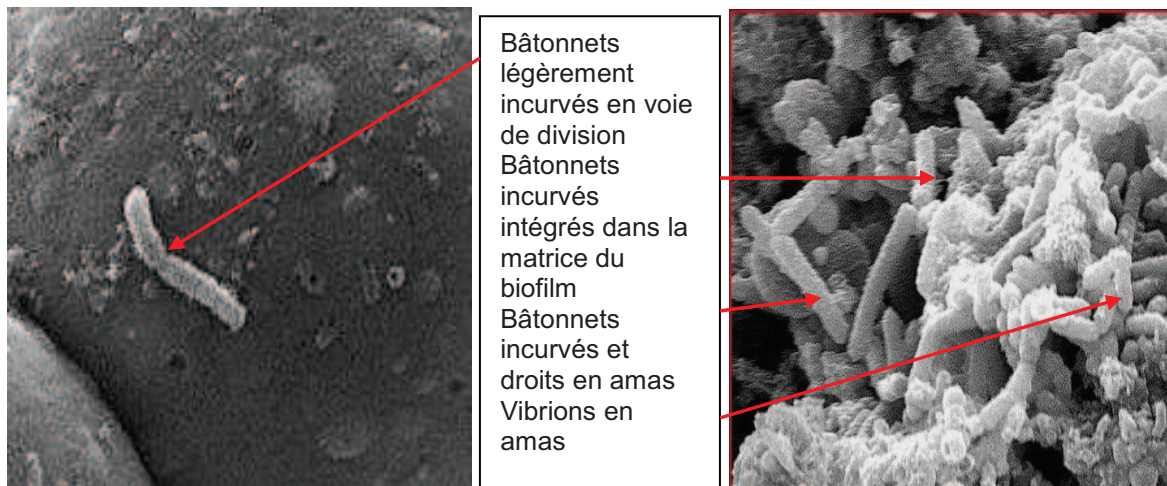


(Fig.III.21.b)



(Fig.III.21.c)





(Fig.III.21.d)

**Fig.III.21.** Micrographies électroniques des différentes BSR du consortium étudié (a : BSR 1, b : BSR 2, c : BSR 3, d : BSR 4) (2000X).

Les résultats de la caractérisation morphologique du consortium de BSR, révèlent la présence de différentes formes cellulaires (Tab.III.7). Les caractéristiques des colonies obtenues peuvent donner une orientation pour une identification préliminaire :

-BSR 1 : peut se rapprocher du genre *Desulfococcus* (Fig.III.20.a & Fig.III.21.a). Une étude plus poussée est lancée pour cette bactérie.

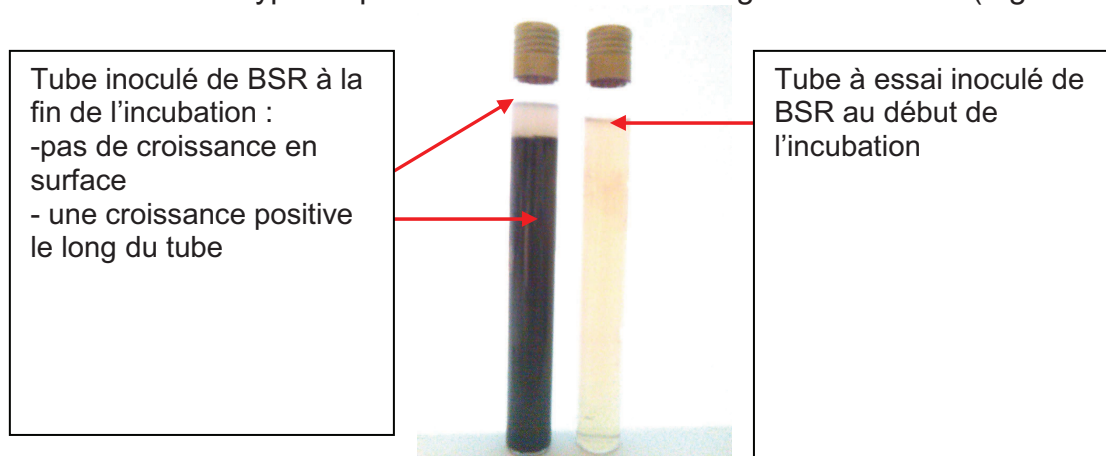
-BSR 2 : peut se rapprocher du genre *Desulfuromonas* ; les colonies oranges caractéristiques de ce genre sont obtenues. Les cellules sont mobiles et non sporulantes sous forme de petits bacilles droits ou légèrement incurvés (Fig.III.20.b & Fig.III.21.b) à Gram négatif. Ces caractéristiques correspondent à celles référencées du genre *Desulfuromonas* (Bergey, 1984 ; Hamilton, 1983 ; Marchal, 1999).

- BSR3 : peut se rapprocher du genre *Desulfobulbus* ; les colonies obtenues ont une couleur blanche nacrée, les cellules sont mobiles et non sporulantes, ovoïdes à extrémités pointues et sous formes citron toutes à Gram négatif (Fig.III.20.c & Fig.III.21.c). Ces caractéristiques correspondent à celles référencées pour le genre *Desulfobulbus* (Bergey, 1984; Hamilton, 1983 ; Hector & al., 2000 ; Marchal, 1999).

- BSR4 : peut se rapprocher du genre *Desulfovibrio* ; les colonies noires caractéristiques du genre *Desulfovibrio* sont obtenues (Bergey, 1984), leur aspect est illustré par la figure III.19. Les cellules de BSR 4 sont mobiles, non sporulantes et à Gram négatif, sous forme de bâtonnets légèrement incurvés ou droits (*Desulfovibrio* peut se présenter occasionnellement sous forme de bâtonnets droits), des formes spiralées ainsi que des vibrions (Fig.III.20.d & Fig.III.21.d). Ces résultats correspondent aux descriptions référencées du genre *Desulfovibrio* (Hamilton, 1983 ; Hector & al., 2000 ; Marchal, 1999).

### III.2.1.2. Caractéristiques biochimiques

Le résultat du test du type respiratoire est donné sur la figure ci-dessous (Fig.III.22).

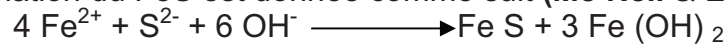


**Fig.III.22.** Test du type respiratoire du consortium de BSR.

Les résultats obtenus, montrent que le consortium de BSR étudié est anaérobie. La croissance du consortium est positive tout le long du tube à essai, ce qui est révélé par le noircissement du milieu. Cependant, la croissance n'a pas eu lieu dans la partie supérieure du tube à essai, qui est en contact avec l'air. En effet, les BSR se développent en absence d'oxygène, mais peuvent résister plusieurs jours dans une solution oxygénée (**Feugeas & al., 1997**).

Le test de production des sulfures métalliques par le consortium de BSR étudié s'est révélé positif. Le résultat est illustré par la figure III.23. Le milieu de culture API inoculé par le consortium de BSR étudié, présente un noircissement du aux dépôts de sulfures de fer issus du métabolisme bactérien (**Schmidt, 1999**).

La réaction de formation du FeS est donnée comme suit (**Me Neil & Little., 1990**) :



(Fig.III.23.a)



(Fig.III.23.b)

**Fig.III.23.** Test de production de sulfures par le consortium de BSR avant (a) et après (b) inoculation.



## Résultats et interprétations

Le test de production de gaz par le consortium de BSR, s'est révélé positif. Le consortium étudié est producteur de gaz correspondant à l'hydrogène sulfuré ( $H_2S$ ). Ce gaz est issu de l'oxydation de l'hydrogène atomique ou moléculaire après réduction des sulfates contenus dans le milieu de culture en anaérobiose (**Neveux, 1968**). Cette réaction nécessite une hydrogénase (**Feugeas & al., 1997**). Cette production de gaz est révélée par la présence de bulles gazeuses dans la masse du milieu solide après inoculation par les BSR. Dans le milieu liquide inoculé par les BSR, la production de l'hydrogène sulfuré est vérifiée par le dégagement d'une odeur nauséabonde.

Le résultat du test d'utilisation du thiosulfate comme accepteur final d'électrons sur le milieu Pg Bt s'est révélé positif (noircissement du milieu après inoculation par les BSR). Le consortium de BSR étudié a donc l'aptitude de se développer dans un milieu ne contenant que le thiosulfate comme source de soufre, en l'utilisant comme accepteur final d'électrons dans la chaîne respiratoire (**Magot, 1999**).

Les résultats obtenus permettent de dire que le consortium de BSR étudié est hétérogène. Il est constitué d'une communauté de quatre types de BSR qui correspondent probablement aux genres suivants : *Desulfococcus*, *Desulfuromonas*, *Desulfobulbus*, *Desulfovibrio*. Seuls les tests biochimiques et génétiques d'identification, peuvent confirmer l'appartenance des BSR caractérisées aux genres cités.

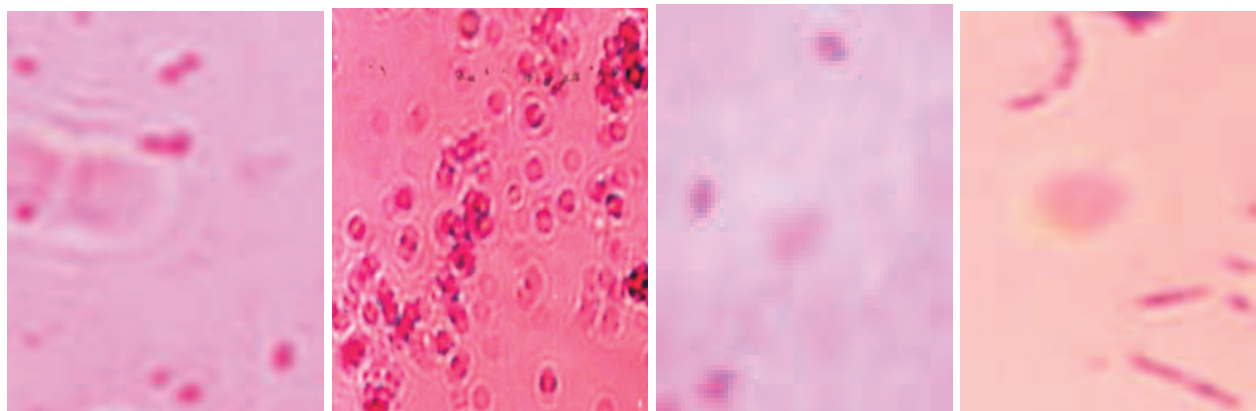
### III.2.2. Caractérisation de la souche BSR 1

La souche pure BSR 1, isolée après plusieurs cycles de repiquages sur le milieu API solide, présente les caractéristiques suivantes :

#### III.2.2.1. Caractéristiques morphologiques et de différenciation

La souche BSR 1 donne des colonies grisâtres se développant en profondeur sur les deux milieux de culture (API et Postgate Bt), ces colonies sont circulaires ; punctiformes ; opaques et à contours très réguliers. La BSR 1 est une souche mobile, et Gram négatif. Les cellules de BSR 1 sont sphériques (rondes), leur regroupement est varié, à savoir ; des cocci isolés (Fig.III.24.a); diplocoques, triplocoques et cocci en amas (Fig.III.24.b) ; des cocci en tétrades (Fig.III.24.c) et cocci en chaîne (Fig.III.24.d).

Le test de la formation de spore s'est révélé négatif, ainsi que les tests de la thermorésistance, la BSR 1 est donc une bactérie non sporulante.



(Fig.III.24.a)

(Fig.III.24.b)

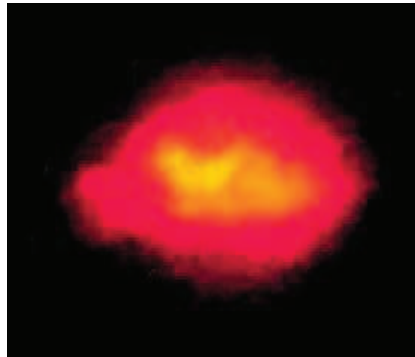
(Fig.III.24.c)

(Fig.III.24.d)

**Fig.III.24.** Observations microscopiques après coloration de Gram de la BSR 1 montrant la forme des cellules et leurs différents arrangements (GX100).

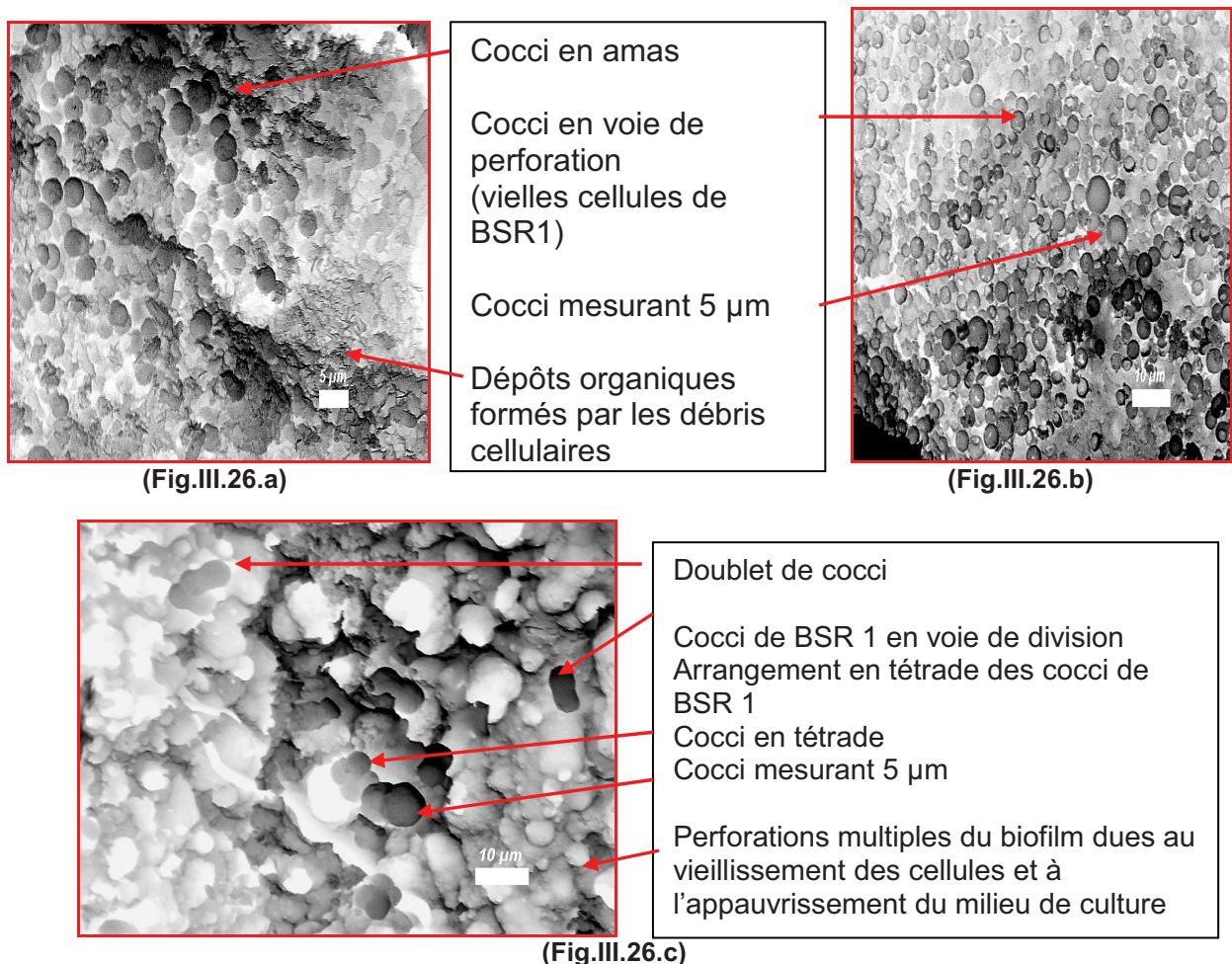
## Résultats et interprétations

Le test de production de la désulfovirdine par BSR 1 s'est révélé positif. La figure suivante (Fig.III.25) illustre l'observation de la fluorescence rouge, caractéristique de la désulfovirdine contenue dans le cytoplasme des cellules de BSR 1.



**Fig.III.25.** Observation microscopique de la fluorescence rouge caractéristique de la désulfovirdine, contenue dans les cellules de BSR 1 (GX100).

Les résultats des observations microscopiques de BSR 1 par MEB, sont donnés par les micrographies qui suivent (Fig.III.26).



**Fig.III.26.** Micrographies électroniques des cellules de BSR1, dans des biofilms formés sur une éprouvette d'acier API 5LX52 immergée pendant trois mois.

## Résultats et interprétations

Les micrographies électroniques de BSR 1 (Fig.III.26) confirment les observations microscopiques des colorations de Gram. Les cellules de BSR 1 sont sphériques et très régulières, elles mesurent de 2 à 5  $\mu\text{m}$ . L'arrangement des cellules est variable ; des cocci isolés libres dans la masse du biofilm ou en amas sont observés (Fig.III.26.a & Fig.III.26.b), des cocci associés en deux, en voie de division ou associées en quatre formant des tétrades sont ainsi décelés (Fig.III.26.c).

### III.2.2.2. Caractéristiques biochimiques

Les tests biochimiques montrent que la BSR 1 est une bactérie anaérobie, productrice de sulfure de fer avec production d'hydrogène sulfuré, dans le milieu API ainsi que dans le milieu Pg Bt. La BSR 1 est capable de pousser dans un milieu en présence de thiosulfate comme seule source de soufre (accepteur final d'électrons pour l'oxydation des substrats organiques en anaérobie).

### III.2.2.3. Caractéristiques physiologiques

Les résultats des tests d'optimisation des différents paramètres physiologiques, faits sur BSR 1 sont illustrés sur le tableau III.8.

**Tableau.III.8.** Résultats des tests physiologiques de la température, du pH et de la salinité faits sur BSR 1.

Température testée (°C)	24	25 & 30	35, 37 & 40	45 & 46	47	–	–
Temps de virage (h)	Pas de virage	48	16	48	Pas de virage	–	–
pH testé	3	4	5	6 & 7	8	10	11 & 12
Temps de virage (h)	Pas de virage	216 (9 j)	72	16	92	148	Pas de virage
Salinité testée (g/l)	0	10, 20 & 30	40, 50, 60 & 70	80	90	100	110
Temps de virage (h)	144	16	72	96	120	168	Pas de virage

L'intervalle optimal de température favorisant la croissance de BSR 1 est compris entre 25 et 46 °C (Tab.III.8), avec une meilleure croissance de 35 et à 40 °C (virage du milieu au bout de 16 h). La BSR 1 est donc une bactérie mésophile (bactérie se développant dans un intervalle de température de 25 à 45 °C). D'ailleurs, le prélèvement des BSR s'est fait à partir d'une eau de production à une température de 40 °C.

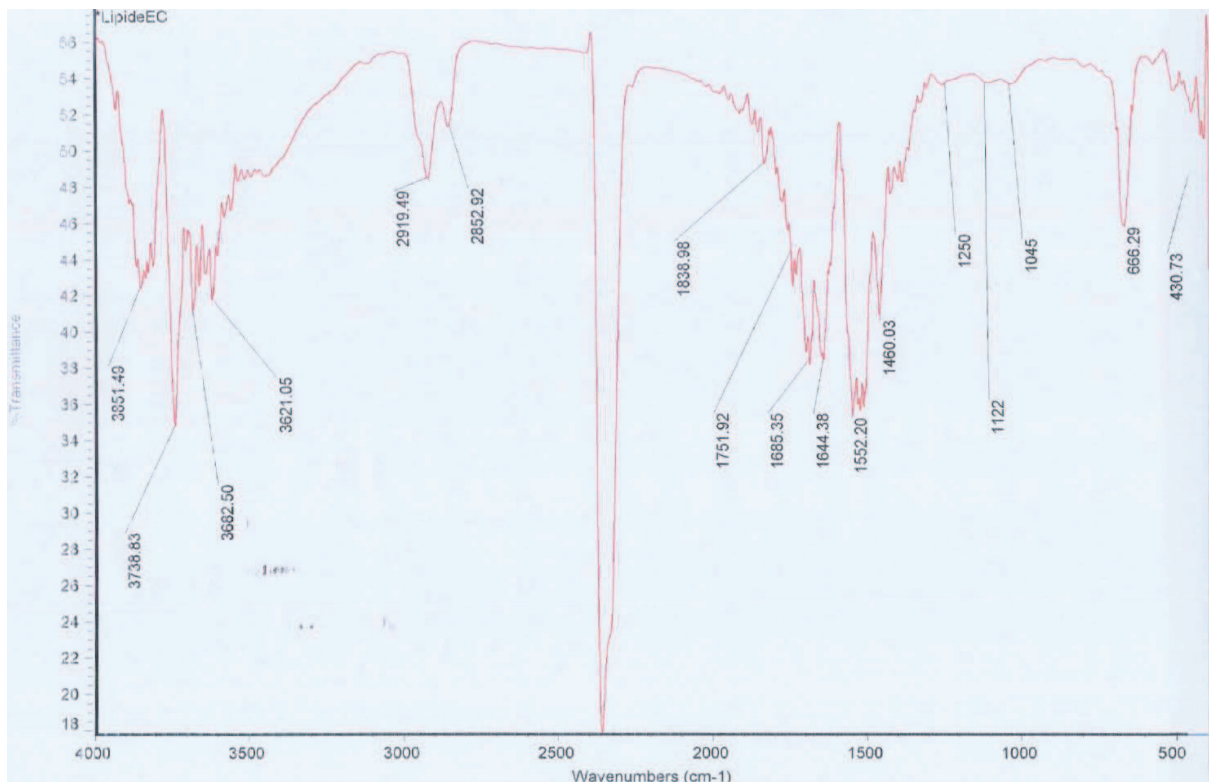
L'intervalle optimal de pH pour la croissance de BSR 1 est de 4 à 10, avec un optimum à pH 6 et 7 (virage du milieu au bout de 16 h) (Tab.III.8). Le pH 4 n'a donné une croissance qu'au bout de 216 h, c'est le pH le plus défavorable. Le pH 10 est moins défavorable que le 4 (virage au bout de 148 h). La BSR 1 a un caractère neutrophile caractérisant les bactéries qui se développent dans un intervalle de pH allant de 5,5 à 8,5, avec un optimum autour de 7, c'est le cas de la BSR 1. A noter que l'eau de production à partir de laquelle les BSR sont prélevées à un pH de 7,2.

L'intervalle optimal de salinité pour BSR 1 est de 0 à 10 % (g/v) avec un optimum à une teneur en sels de 10 à 30 g/l (virage du milieu au bout de 16 h) (Tab.III.8). La teneur en sel de 100 g/l est la plus défavorable pour la croissance (virage au bout de 168 h), la concentration de 0 g/l en sel est moins défavorable que 100 g/l (virage au bout de 144 h). La BSR 1 est donc une bactérie faiblement halophile, l'intervalle de concentration favorisant la croissance de telles bactéries est de 1 à 6 % NaCl. A noter, que la salinité de l'eau de production à partir de laquelle la BSR 1 est prélevée est de 10 g/l.

### III.2.2.4. Analyse des lipides membranaires par IRTF

Les résultats de l'analyse de l'extrait de BSR 1 par IRTF en vue de caractériser les lipides membranaires de cette bactérie, sont illustrés sur la figure suivante (Fig.III.27).

L'analyse du spectre infra-rouge de la souche BSR 1 révèle la présence de plusieurs bandes. Les bandes conventionnelles caractéristiques des groupements esters (C=O) correspondent aux longueurs d'ondes suivantes :  $1050\text{ cm}^{-1}$ ,  $1250\text{ cm}^{-1}$ ,  $1745\text{ cm}^{-1}$ ,  $2750\text{ cm}^{-1}$ ,  $2950\text{ cm}^{-1}$ . Les trois pics obtenus sur le spectre et qui se rapprochent fortement des pics conventionnels ( $1050\text{ cm}^{-1}$ ,  $1250\text{ cm}^{-1}$ ,  $1745\text{ cm}^{-1}$ ), se présentent à des longueurs d'ondes de :  $1045\text{ cm}^{-1}$ ,  $1250\text{ cm}^{-1}$  et  $1751,92\text{ cm}^{-1}$ . Les deux autres bandes conventionnelles ( $2750\text{ cm}^{-1}$ ,  $2950\text{ cm}^{-1}$ ) sont absentes. Ces résultats permettent de dire que la BSR 1 appartient probablement au domaine Bacteria et non pas au domaine Archea. D'ailleurs, les BSR du domaine Archea sont des thermophiles (**Andrew & al., 2000 ; Feugeas & al., 1997**).



**Fig.III.27.** Spectre IRTF des lipides membranaires de BSR1 (région des ( $4000\text{ cm}^{-1}$  -  $500\text{ cm}^{-1}$ )).

### III.2.2.5. Spectre IRTF de la BSR 1

Les résultats de l'analyse de l'extrait de BSR 1 par IRTF en vue de caractériser cette bactérie, sont illustrés sur la figure suivante (Fig.III.28).

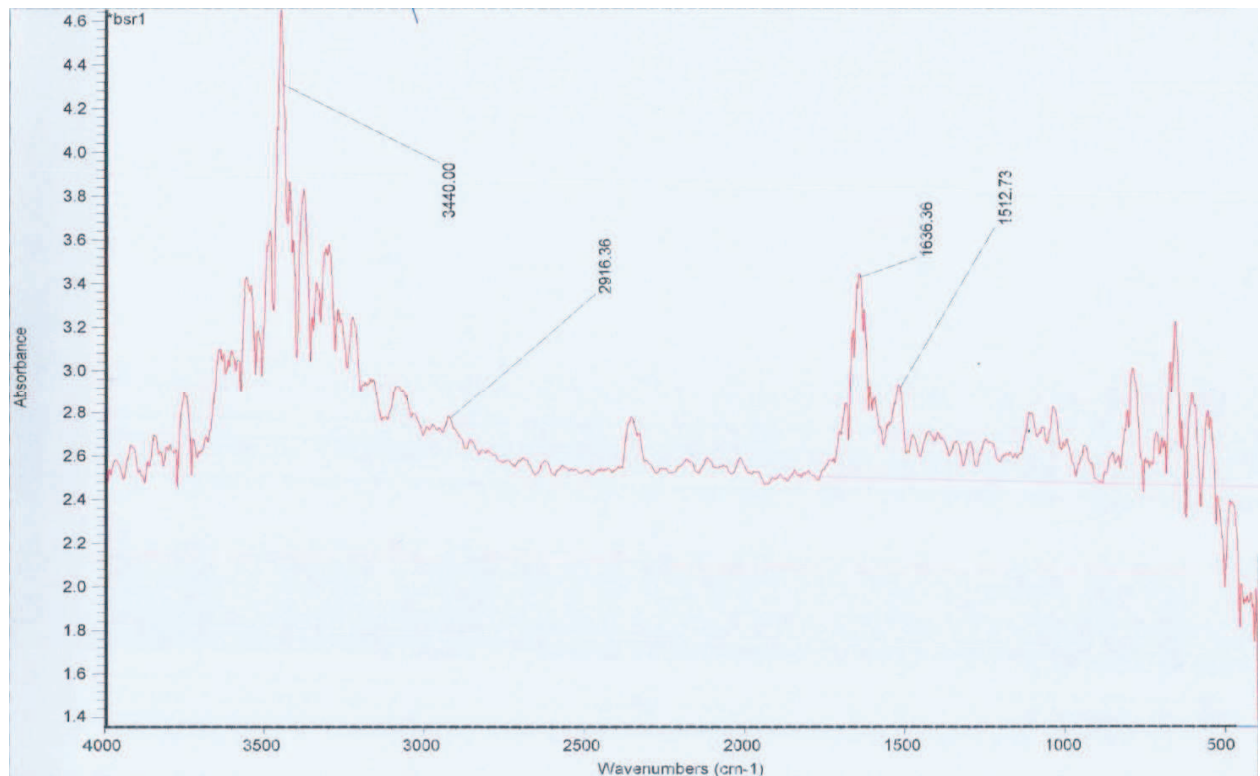
Les bandes conventionnelles caractéristiques des acides gras membranaires et pariétaux, les polysaccharides et de la zone « fingerprint » des BSR correspondent aux longueurs d'ondes suivantes : ( $3100\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$  et  $1500\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ ), ( $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ ) et ( $900\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ ) respectivement (**Boudaud & al., 2005**). Le spectre IRTF de la BSR 1 montre des pics très prononcés aux longueurs d'ondes précitées. Ceci prouve que la



## Résultats et interprétations

bactérie isolée est une bactérie sulfatoréductrice. Cependant, comparant aux spectres IRTF caractéristiques des BSR, l'allure générale du spectre de BSR 1 ne correspond à aucun spectre conventionnel.

Finalement, l'analyse IRTF a apporté des données préliminaires, pour l'identification de BSR 1. Vu la non adaptation de l'équipement utilisé, aux procédures référencées pour l'analyse des extraits de BSR, l'utilisation d'un appareil mieux adapté (plaque inerte en silicium) sera plus intéressante pour cette étude.



**Fig.III.28.** Spectre IRTF de l'extrait de BSR1 (région des (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ )).

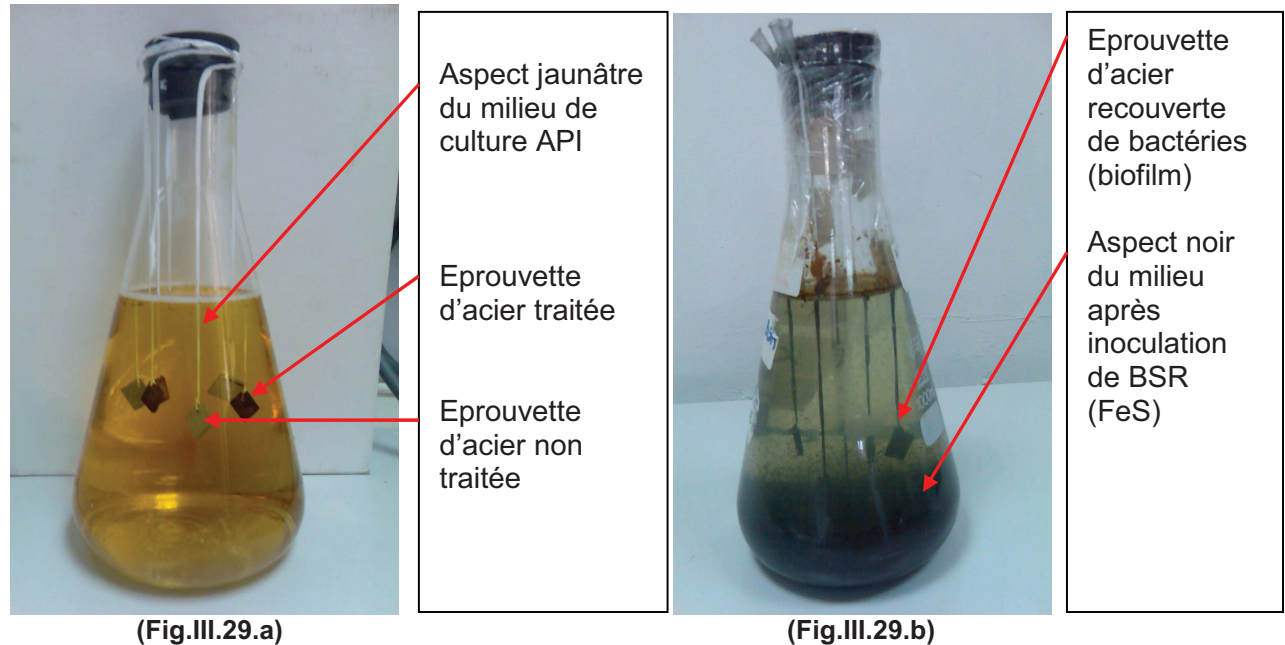
En résumé, la BSR1 donne des colonies grisâtres et se présente sous forme de cellules sphériques, aux différents arrangements. Elle est mobile à Gram négatif, productrice de désulfovirdine et non sporulante. L'utilisation des sulfates et des thiosulfates comme accepteurs finaux d'électrons, conduit à la synthèse de sulfure d'hydrogène par BSR 1. La BSR 1 appartient au domaine Bacteria et elle présente les bandes caractéristiques des BSR. La BSR 1 est une bactérie mésophile, neutrophile et à caractère faiblement halophile.

D'après le manuel Bergy de bactériologie (**Bergey, 1984**), et les études de Andrew et Feugeas et collaborateurs (**Andrew & al., 2000 ; Feugeas & al., 1997**), la BSR1 peut se rapprocher du genre *Desulfococcus*. Seuls, les tests biochimiques et génétiques d'identification, peuvent confirmer l'appartenance de BSR1 au genre *Desulfococcus*.

## Résultats et interprétations

### III.3. Etude de la biocorrosion des éprouvettes d'acier traitées et non traitées en cultures batch pures et mixtes

L'aspect des erlens utilisés pour l'immersion des éprouvettes d'acier, est illustré sur la figure III.29.



**Fig.III.29.** Aspect des erlens contenant les éprouvettes d'acier immergées dans le milieu API: (a) milieu avant inoculation de BSR (b) et milieu après inoculation de BSR.

Le milieu avant inoculation de BSR présente une couleur jaunâtre (Fig.III.29.a). L'inoculation des BSR induit un noircissement du milieu, quelque soit la durée de l'immersion (Fig.III.29.b). Par conséquent, un noircissement des surfaces des éprouvettes d'acier, correspondant à la formation de biofilms est observé. Ainsi des ficelles en détachement, formées par l'agencement des composés du biofilm sont observées au tour des éprouvettes. Les nouvelles générations de bactéries ont tendance à quitter le biofilm afin de coloniser d'autres surfaces dans le milieu environnant (**Feugeas & al., 1997**).

#### III.3.1. Suivi des paramètres métaboliques des cultures de BSR au cours du temps

##### III.3.1.1. Paramètres métaboliques du témoin « immersion blanc »

Le tableau III.9 donne les paramètres métaboliques de l'immersion « blanc ».

Perte de poids pour une éprouvette traitée par plasma d'oxygène =  $0,00454 \text{ g/cm}^2$ .

Perte de poids pour une éprouvette non traitée par plasma d'oxygène =  $0,00638 \text{ g/cm}^2$ .

Pourcentage de piqures pour une éprouvette traitée par plasma d'oxygène = 1%

Pourcentage de piqures pour une éprouvette non traitée par plasma d'oxygène = 1,9%

La chute de la conductivité et de la salinité peut être expliquée par une précipitation des ions dans la solution, et la formation probable des complexes.



## Résultats et interprétations

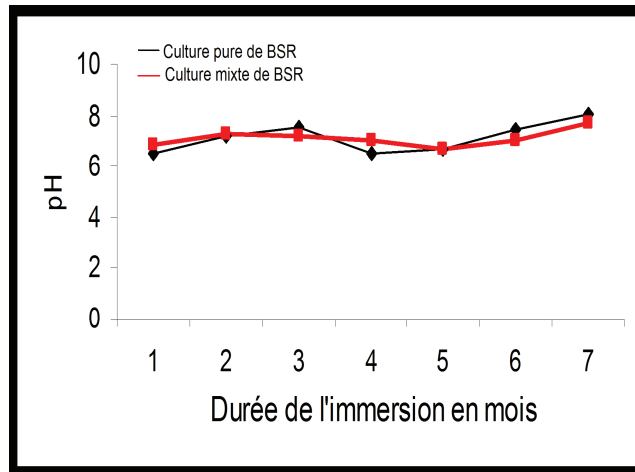
**Tableau III.9.** Résultats de mesure des différents paramètres métaboliques de l'immersion « blanc ».

Paramètres métaboliques	Début de l'immersion	Fin de l'immersion
pH	7,3	8
Teneur en H <sub>2</sub> S (ppm)	0	0
Teneur en fer dissous (mg/l)	35	45
Salinité (g/l)	10	8
Conductivité (mS/cm)	15,53	9,71

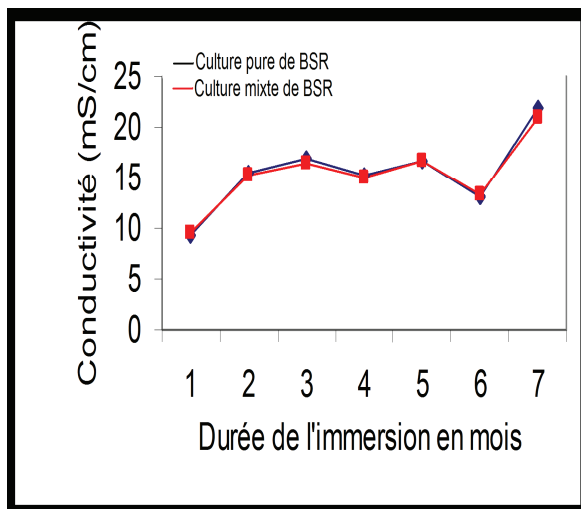
Les valeurs des différents paramètres de l'immersion « blanc », sont prises en compte dans l'évaluation de ces mêmes paramètres pour les différentes cultures de BSR.

### III.3.1.2. Evolution du pH, de la salinité et de la conductivité

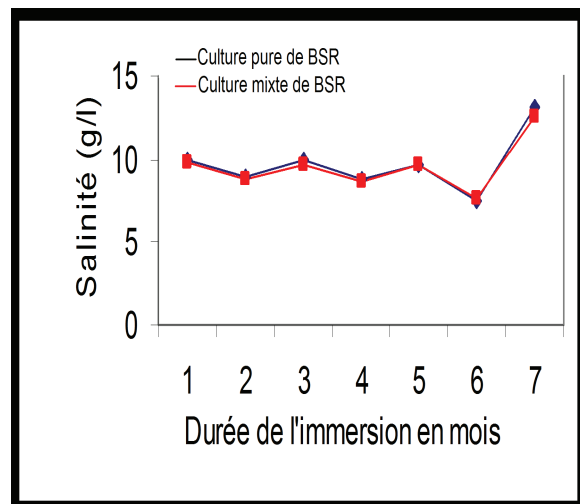
Les figures III.30 illustre l'évolution du pH, de la salinité et de la conductivité des différentes cultures de BSR, au cours du temps.



(Fig.III.30.a)



(Fig.III.30.b)



(Fig.III.30.c)

**Fig.III.30.** Evolution du pH (a), de la conductivité (b) et de la salinité (c) des différentes cultures de BSR, au cours du temps.

Le pH des différentes cultures évolue en fonction du temps (Fig.III.30.a). Il passe après 1 mois d'immersion, d'une valeur neutre (pH 7) à 6,85 pour la culture mixte, et à 6,53 pour la culture pure, ce qui signifie que les bactéries font baisser le pH du milieu environnant. Les BSR, modifient les propriétés acido-basiques du milieu suite à l'excrétion des produits du métabolisme, qui tendent à acidifier le milieu. L'acidification de l'environnement bactérien immédiat, pourrait contribuer à satisfaire l'exigence nutritionnelle en ions  $Fe^{2+}$  des bactéries sulfurogènes. Cette acidification est un facteur déterminant en termes d'électrochimie et de croissance microbienne, elle explique vraisemblablement la disponibilité des ions  $Fe^{2+}$  dans un environnement chargé d'ions sulfures, et la persistance de l'activité physiologique dans un environnement riche en  $H_2S$  (**Marchal, 1999**).

Après 2 mois d'immersion, le pH remonte à une valeur de 7,83 pour la culture mixte et à 7,2 pour la culture pure. Pour les différentes durées d'immersion qui suivent, les valeurs du pH tournent autour de la basicité et la neutralité. La consommation des anions sulfates tend à basifier le milieu de culture et il a été vérifié que la source de carbone intervient également dans ce processus. Cas de l'acide lactique utilisé dans notre étude. La valeur théorique du pH du milieu, pour laquelle la production d'acidité du métabolisme est nulle, peut être déterminée pour chaque substrat. Les BSR tendent à réguler le pH de leur environnement à cette valeur (**Marchal, 1999**).

Le pH du milieu après 7 mois d'immersion est légèrement basique ; il est à 8,01 pour la culture pure et à 7,72 pour la culture mixte.

L'analyse des résultats obtenus, amène à dire que les BSR tendent à réguler leur pH environnant. A noter que les comportements métaboliques des deux types de cultures ; mixtes et pures, sont relativement similaires. Le dernier mécanisme proposé par Crolet et al. stipule que le métabolisme des composés soufrés, et la régulation du pH environnemental par les BSR sont les principaux responsables de la corrosion (**Crolet & al., 1993; Feugeas & al., 1997**).

Pour la salinité et la conductivité, elles évoluent d'une manière similaire entre elles et pour les deux types de cultures (pures et mixtes) (Fig.III.30.b & Fig.III.30.c). Ce qui amène à dire que ces cultures présentent un comportement métabolique comparable.

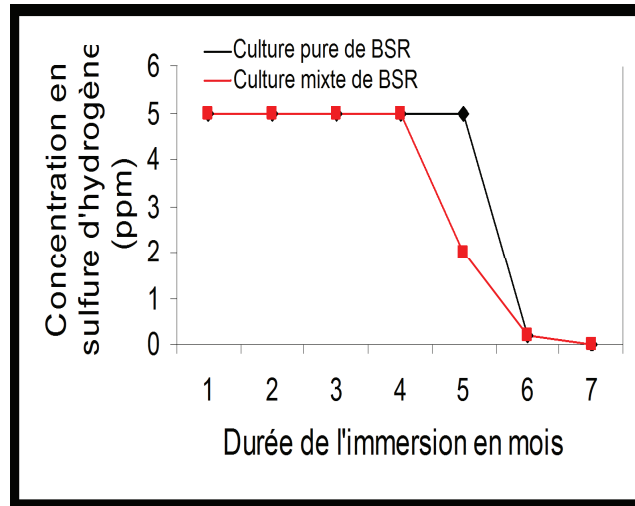
La salinité du milieu mesurée à blanc est de 10 g/l, après un mois d'immersion cette valeur chute au environ de 9,8 g/l. De même, la conductivité du milieu mesurée à blanc égale à 15,53 mS/cm, chute à une valeur de 9,40 mS/cm après un mois d'immersion. Ces diminutions peuvent être expliquées par l'activité métabolique des BSR et l'éventuelle consommation des ions nécessaires à la croissance bactérienne.

Pour les autres durées d'immersion, la salinité et la conductivité augmentent de valeur et présentent des fluctuations, probablement dues à l'irrégularité de l'activité bactérienne.

Cette activité libère des ions ferreux et des sulfures de fer (bons conducteurs électriques) (**Marchal, 1999**) qui font vraisemblablement augmenter la conductivité. Les immersions de 7 mois présentent les valeurs de salinité et de conductivité les plus grandes, ce qui peut être expliqué par une éventuelle minéralisation de la matière organique (S.E.P et débris cellulaires) et par une formation de sels dans le milieu de culture. Des analyses des biofilms peuvent confirmer cette information.

### III.3.1.3. Evolution de la concentration en sulfure d'hydrogène

La figure III.31 illustre l'évolution de la concentration en sulfure d'hydrogène des différentes cultures de BSR, au cours du temps.



**Fig.III.31.** Evolution de la teneur en H<sub>2</sub>S des différentes cultures de BSR, au cours du temps.

La concentration en H<sub>2</sub>S, évolue d'une manière similaire pour les deux types de cultures (pures et mixtes). Cette teneur est de 5 ppm après 1 mois d'immersion pour les deux types de cultures, cette concentration reste stable jusqu'au 4<sup>ème</sup> mois d'immersion. Ceci peut être expliqué par le fait que la production d'H<sub>2</sub>S acidifie le milieu, et il semble que les BSR tendent à réguler cette acidité en maintenant une teneur stable en H<sub>2</sub>S en le précipitant sous forme de FeS (en présence des ions Fe<sup>2+</sup>) et en formant des ions H<sup>+</sup>. La production de sulfure d'hydrogène résulte d'un processus bioénergétique unique mettant en jeu la réduction dissimilatrice du sulfate en sulfure (**Crolet & al., 1977; Boudaud & al., 2005**). Les phénomènes de biocorrosion observés avec les bactéries sulfurogènes, dépendent de la production de sulfures dont la corrosivité est potentialisée par l'acidification microbienne locale du milieu (**Magot, 1999**). A noter que l'H<sub>2</sub>S exerce une action inhibitrice, directe ou indirecte sur la croissance bactérienne (**Marchal, 1999**). A partir du 5<sup>ème</sup> mois d'immersion, la teneur en H<sub>2</sub>S commence à chuter et elle est nulle au 7<sup>ème</sup> mois, ceci est expliqué par une baisse d'activité cellulaire suite à l'appauvrissement du milieu en éléments nutritifs (cultures batch où pas d'apport externe).

### III.3.1.4. Evolution du nombre des BSR planctoniques et sessiles

Les résultats des différents dénombrements de BSR (planctoniques et sessiles) sont donnés dans le tableau III.10.

Les résultats montrent que les BSR planctoniques dans les deux types de cultures, ont une activité intense pendant les trois premiers mois d'immersion ; leur concentration dépasse 10<sup>14</sup> BSR/ml, ceci est expliqué par la richesse du milieu de culture. Les BSR fluctuent de concentration après les différentes durées d'immersion qui suivent, ce qui peut être expliqué par les différences que peut avoir leur comportement métabolique. Les BSR sessiles aux éprouvettes d'acier traitées et non traitées par plasma d'oxygène, dépassent 10<sup>14</sup> BSR/ml dans les deux types de cultures après 1 mois d'immersion. Cette concentration, chute au cours du temps et connaît des fluctuations. A noter que les BSR sessiles présentent une concentration relativement élevée au 7<sup>ème</sup> mois d'immersion, par rapport aux autres immersions (indépendamment du type d'éprouvette), ce qui pourrait expliquer une recolonisation des éprouvettes d'acier.

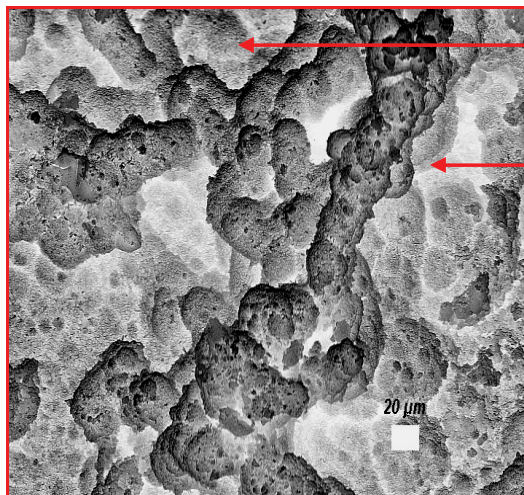
**Tableau III.10.** Résultats du dénombrement des BSR planctoniques et sessiles, des différentes cultures au cours du temps.

Durée de l'immersion en mois	1	2	3	4	5	6	7
Concentration de BSR (BSR/ml)							
BSR planctoniques (cultures mixtes)	$>10^{14}$	$>10^{14}$	$>10^{14}$	$10^{13}$	$10^8$	$10^{14}$	$10^{11}$
BSR planctoniques (cultures pures)	$>10^{14}$	$>10^{14}$	$>10^{14}$	$10^{12}$	$10^{14}$	$10^{13}$	$10^7$
BSR sessiles aux éprouvettes traitées (cultures mixtes)	$>10^{14}$	$10^{13}$	$10^{13}$	$10^{11}$	$10^{12}$	$10^{10}$	$10^{12}$
BSR sessiles aux éprouvettes traitées (cultures pures)	$>10^{14}$	$10^{13}$	$10^5$	$10^{14}$	$10^4$	$10^5$	$10^{14}$
BSR sessiles aux éprouvettes non traitées (cultures mixtes)	$>10^{14}$	$10^{11}$	$10^{12}$	$10^9$	$10^{13}$	$10^6$	$10^{10}$
BSR sessiles aux éprouvettes non traitées (cultures pures)	$>10^{14}$	$>10^{14}$	$10^5$	$10^{12}$	$10^3$	$10^9$	$10^{12}$

### III.3.2. Etude de la formation des biofilms du consortium de BSR et de BSR 1 par MEB

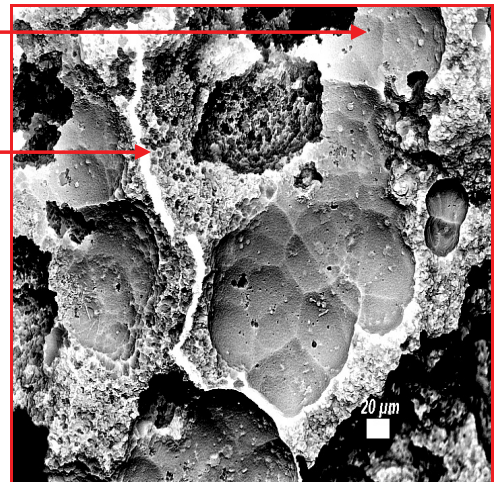
#### III.3.2.1. Etude de la formation des biofilms en fonction du type d'éprouvette d'acier

Les micrographies suivantes, illustrent l'aspect des biofilms de BSR 1 (Fig.III.32) et du consortium de BSR (Fig.III.33) de trois mois, formés sur les éprouvettes d'acier traitées et non traitées par plasma d'oxygène.

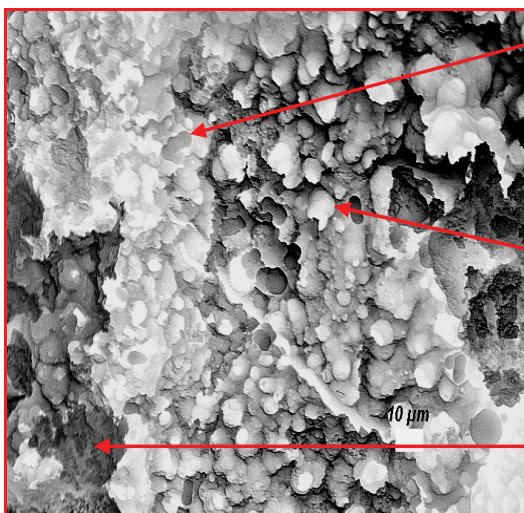


(Fig.III.32.a)

Présence de flocons de M.E.S  
Fissuration du biofilm

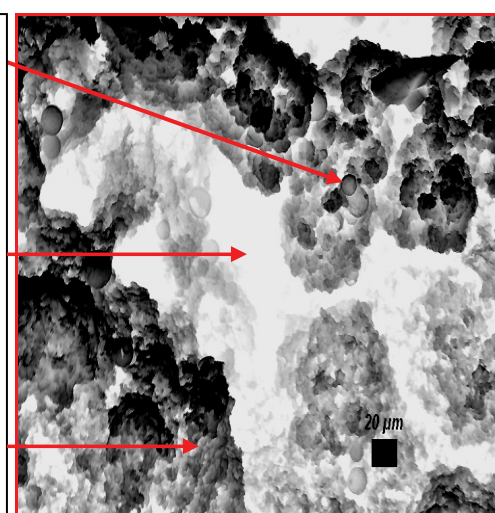


(Fig.III.32.b)



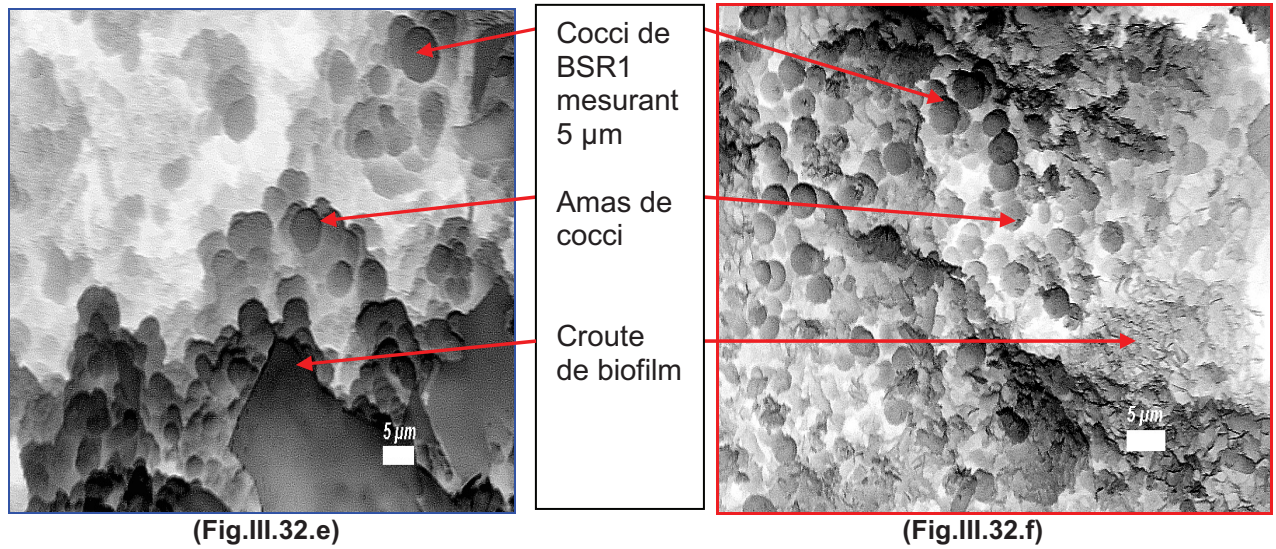
(Fig.III.32.c)

Présence de quelques cocci  
Perforations profondes du biofilm  
M.E.S en amas

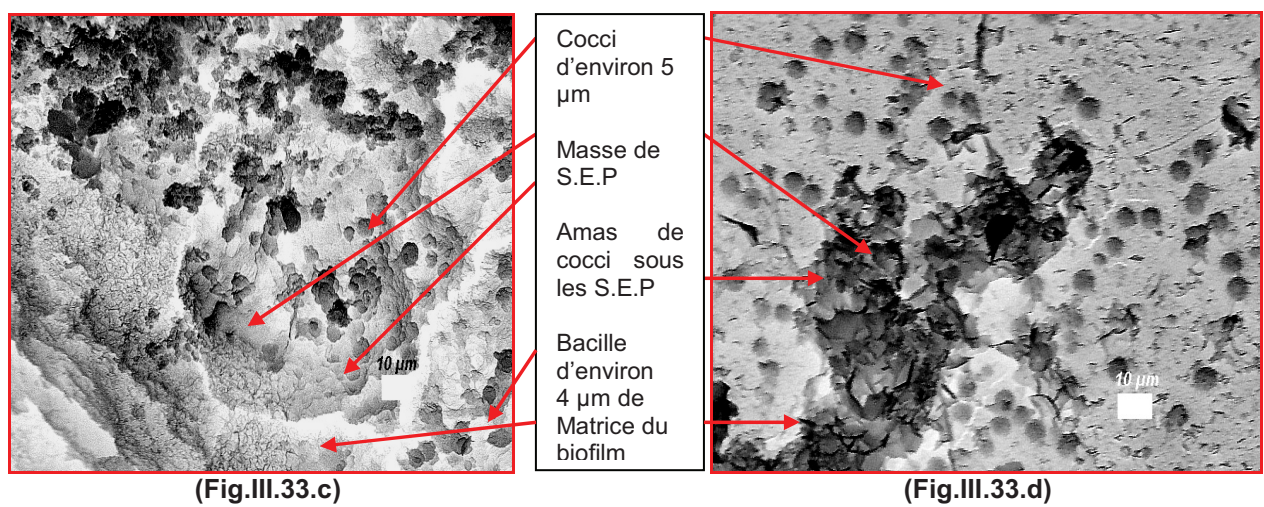
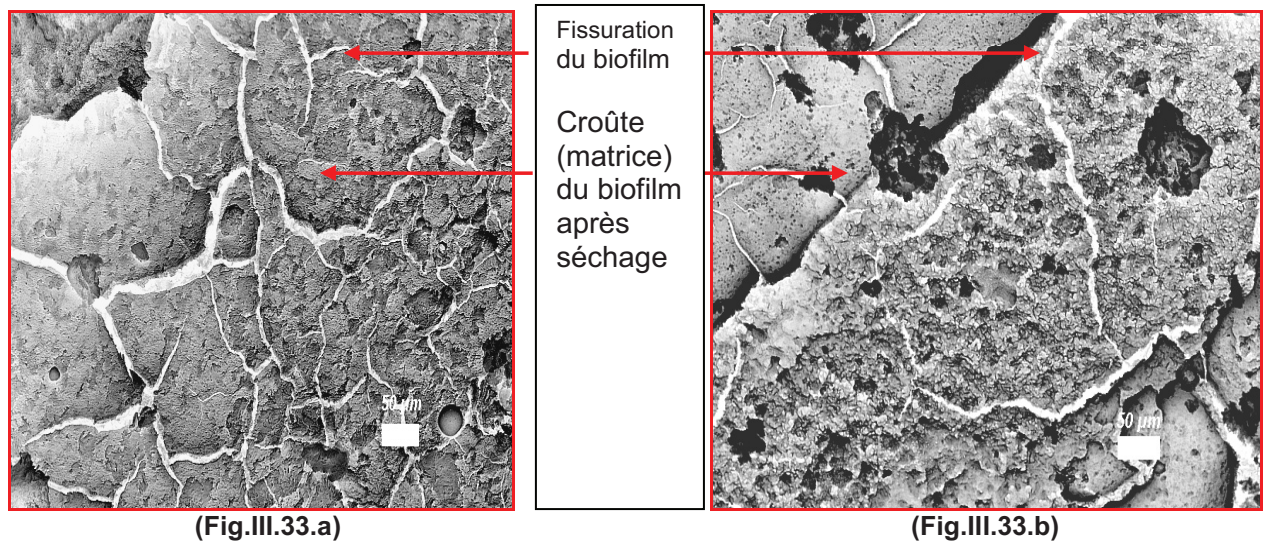


(Fig.III.32.d)

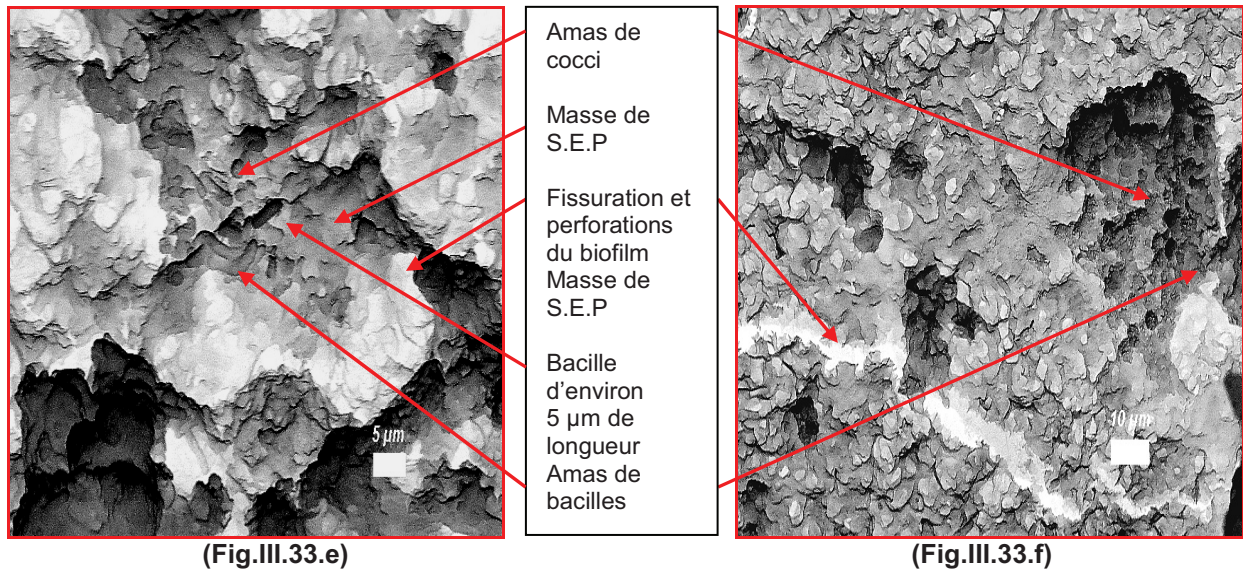




**Fig.III.32.** Micrographies des biofilms de BSR1 de trois mois formés sur les éprouvettes d'acier ; non traitée (à gauche) et traitée par plasma d'oxygène (à droite).







**Fig.III.33.** Micrographies des biofilms du consortium de BSR de trois mois formés sur les éprouvettes d'acier ; non traitée (à gauche) et traitée par plasma d'oxygène (à droite).

Les biofilms de BSR1 formés sur les éprouvettes d'acier, traitées et non traitées par plasma d'oxygène montrent de grandes similarités. Une vue d'ensemble (Fig.III.32.a & Fig.III.32.b) montre que les biofilms présentent des fissurations, des anfractuosités et des crevasses, ainsi que des flocons de S.E.P sécrétés par la BSR1. A un grossissement plus grand (Fig.III.32.c & Fig.III.32.d), les cellules sont dispersées dans la masse du biofilm et des perforations profondes de la matrice organique sont observées. Les cocci sont bien repérés au fort grossissement (Fig.III.32.e & Fig.III.32.f), ils mesurent près de 5 µm quel que soit le type d'éprouvette. Ceci peut amener à dire que les deux biofilms de BSR1 sont au même stade d'évolution, et que la nature de l'éprouvette d'acier (traitée ou non traitée par plasma d'oxygène) n'influe pas l'évolution du biofilm.

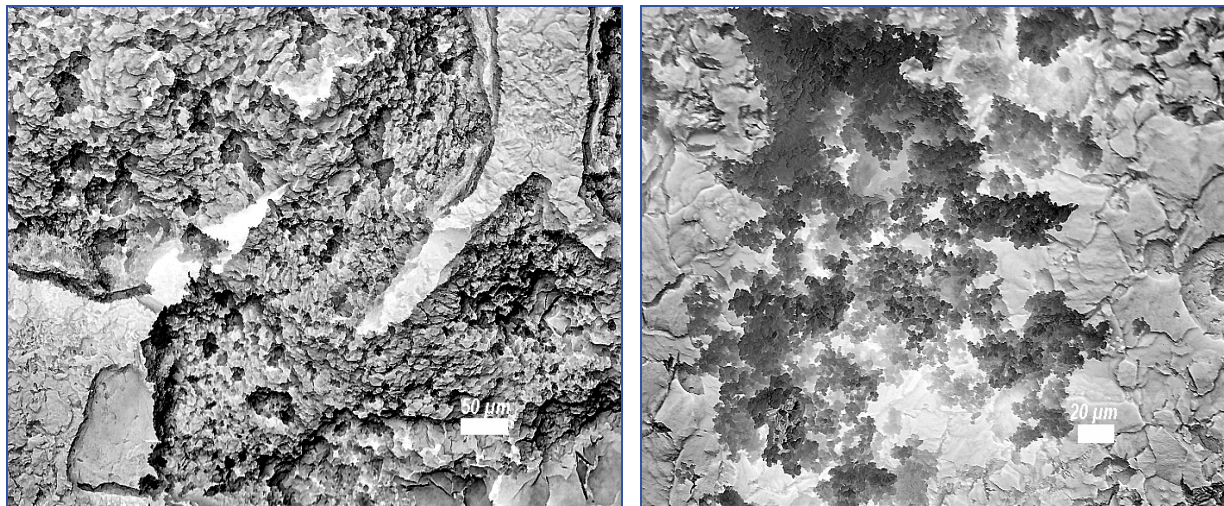
Les biofilms du consortium de BSR formés sur les éprouvettes d'acier traitées et non traitées par plasma d'oxygène, montrent de fortes ressemblances. Une vue d'ensemble (Fig.III.33.a & Fig.III.33.b) montre que les biofilms présentent une croûte fissurée. A un grossissement plus élevé (Fig.III.33.c & Fig.III.33.d), des amas de cocci de tailles rapprochées (4 à 5 µm) sont observés. Ainsi, des flocons de S.E.P, des amas de bacilles d'environ 5 µm de longueur et des amas de cocci sont repérés dans les deux biofilms (Fig.III.33.e & Fig.III.33.f).

L'aspect évolutionnaire des deux biofilms, ne semble pas être influé par le type du substratum (éprouvette d'acier traitée ou non traitée), leur évolution physique est donc indépendante du type d'éprouvette. Pour la suite des observations de caractérisation des biofilms, la nature de l'éprouvette peut donc ne pas être prise en compte.

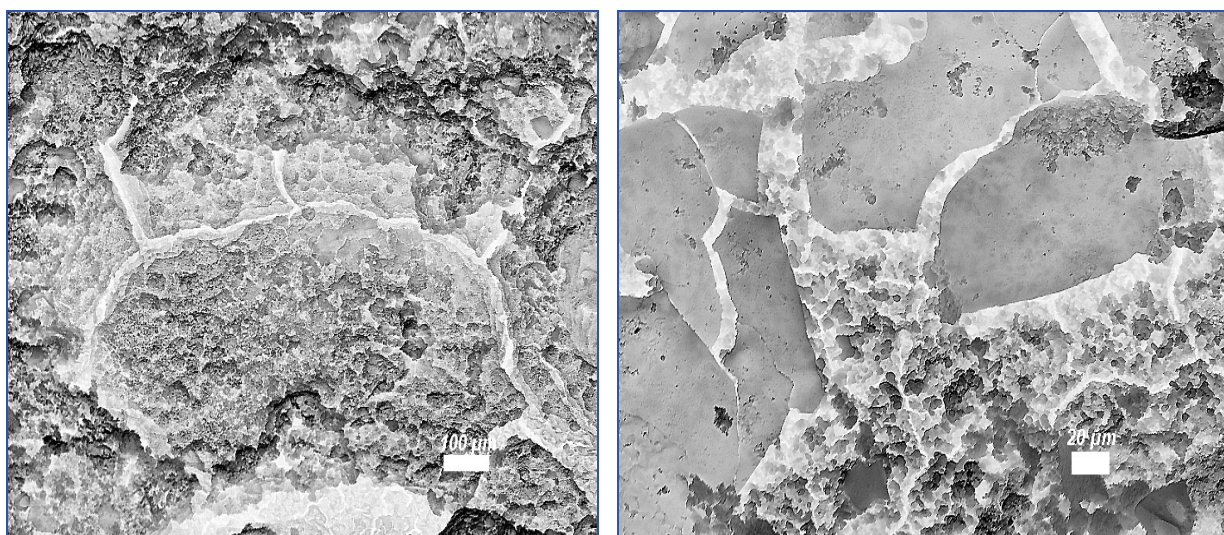
### III.3.2.2. Etude de la formation des biofilms (consortium et BSR1) en fonction du temps

Les biofilms formés sur les éprouvettes d'acier des différentes cultures, sont observés au MEB. Les figures III.34 & III.35, donnent l'aspect de ces biofilms en fonction du temps (1, 2, 5, 6 et 7 mois).

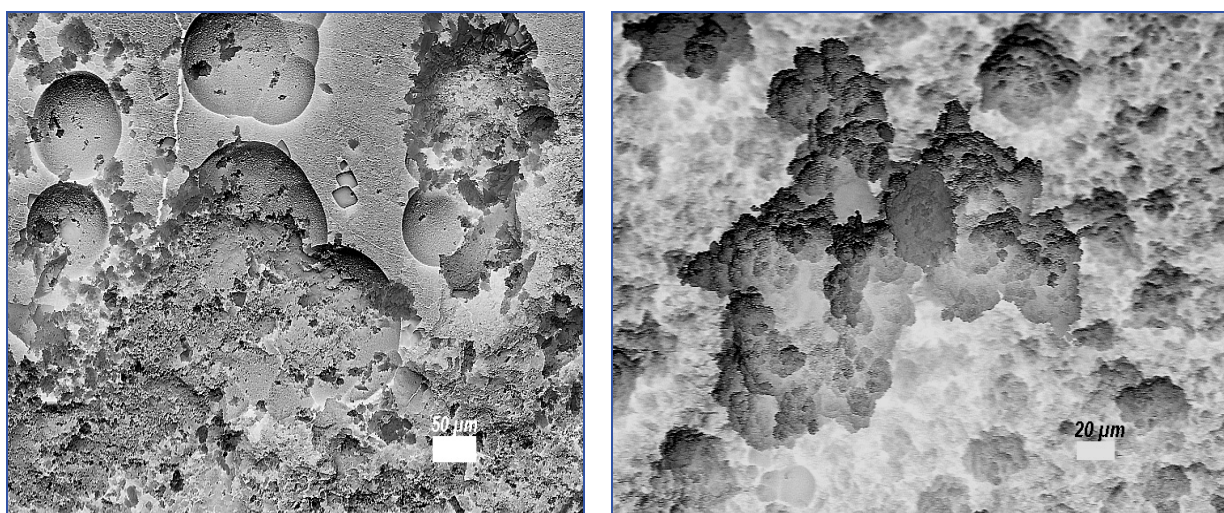




**Fig.III.34.a.** Biofilm de BSR1 après 1 mois d'immersion (500X ; 1000X respectivement).



**Fig.III.34.b.** Biofilm de BSR1 après 2 mois d'immersion (800X ; 2000X respectivement).



**Fig.III.34.c.** Biofilm de BSR1 après 5 mois d'immersion (500X ; 1000X respectivement).



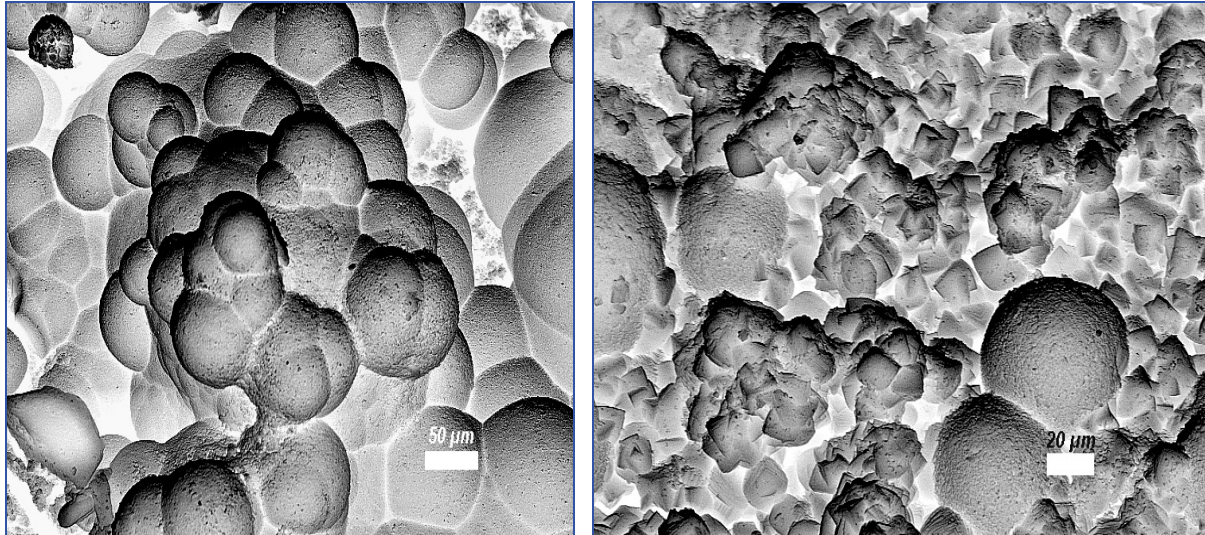


Fig.III.34.d. Biofilm de BSR1 après 6 mois d'immersion (592X ; 1184X respectivement).

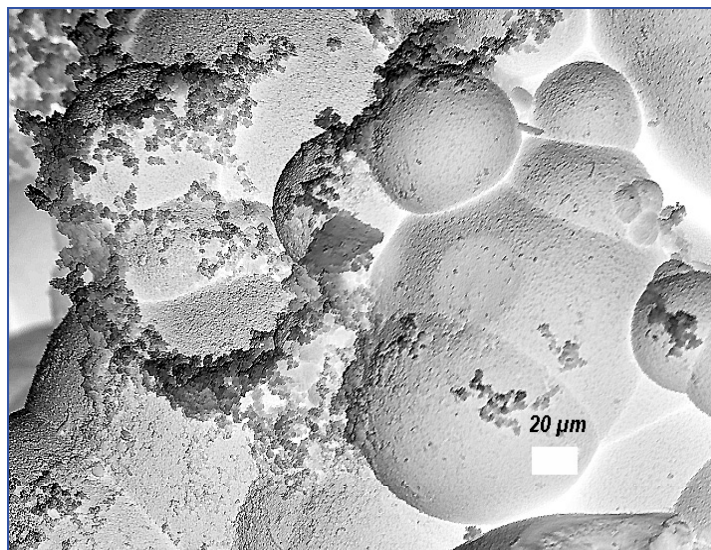
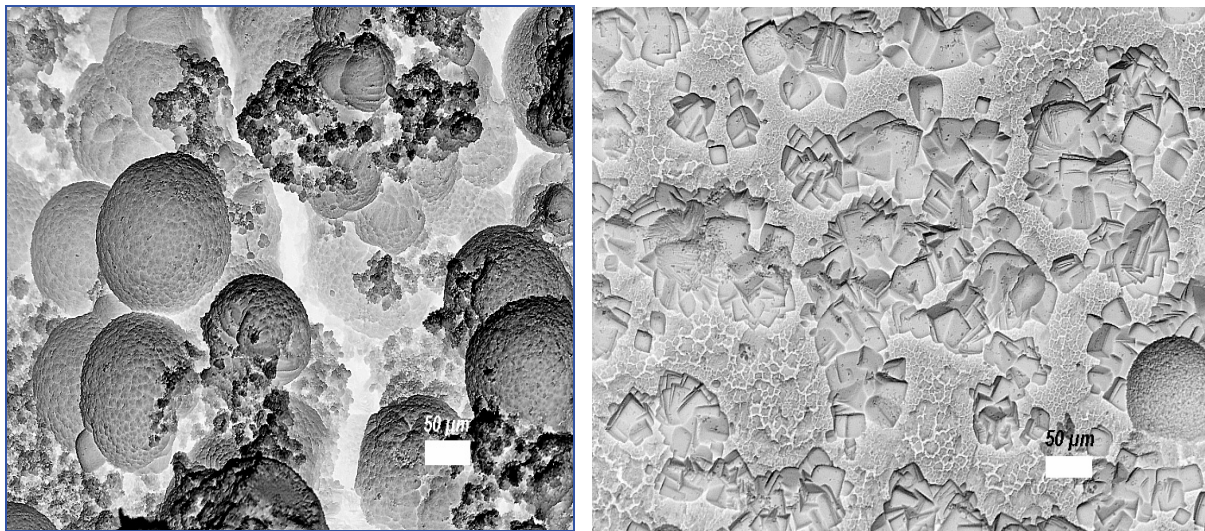


Fig.III.34.e. Biofilm de BSR1 après 7 mois d'immersion (500X ; 1000X ; 2000X respectivement).

Fig.III.34. Micrographies électroniques des biofilms de BSR1 formés sur les surfaces des éprouvettes d'acier en fonction du temps.



L'observation des biofilms de BSR1 au MEB montre qu'après différentes durées d'immersion :

- **Biofilm de 1 mois** (Fig.III.34.a): toute la surface de l'éprouvette d'acier est recouverte d'un film lisse de FeS et la croûte est fissurée (500X). Des amas très denses de cocci fins sont repérés. Les cellules mesurent moins de 5  $\mu\text{m}$ , ce qui est expliqué par leur âge (1 mois) (1000X). Les regroupements de cocci sont renfermés dans le biofilm et semblent être attachés et adhérents à la surface. Cette étape constitue la phase initiale de la colonisation de l'acier, appelée microfouling, correspondant à l'établissement d'un biofilm microbien (présence de microcolonies bactériennes) (**Feugeas & al., 1997**).

Les microorganismes dans un milieu aqueux adhèrent aux surfaces et sécrètent une fine couche de S.E.P qui emprisonne leurs nutriments. Ils croissent, se reproduisent, et forment par la suite un biofilm (**George & al., 2003**).

- **Biofilm de 2 mois** (Fig.III.34.b): la surface de l'éprouvette est recouverte d'un film de FeS et la croûte est fissurée et paraît plus dense que celle du biofilm de 1 mois (800X). A un grossissement plus grand (2000X). Les cellules se voient protégées sous les morceaux de la croûte, elles sont plus nombreuses que dans le biofilm de 1 mois et forment des amas très denses. Des agglomérats de cellules écrasées sont ainsi observés.

- **Biofilm de 3 mois** (Fig.III.32): des flocons organiques constitués de S.E.P sont formés sur la surface de l'éprouvette, ainsi ; des agrégats de débris cellulaires, les fissurations du biofilm sont observées. Les flocons de matières organiques paraissent perforés (800X). A des grossissements plus grands (1200X, 4000X), les perforations de la masse de S.E.P sont bien décelées et paraissent comme des canaux pour les cellules bactériennes. A ce stade, les S.E.P sont bien structurées, ce qui indique de la maturité du biofilm accroché à l'acier. Les BSR sessiles produisent les S.E.P qui favorisent l'attachement des sédiments, amenant au développement des dépôts et de colonies (**Angel & al., 2000**).

- **Biofilm de 5 mois** (Fig.III.34.c): les flocons de S.E.P présentent une surface lisse comportant des amas de cocci et de débris cellulaires (500X), ceci est confirmé par l'observation d'entassements de bactéries lysées à côté des regroupements de cocci (1000X). A ce stade d'évolution, cette structuration du biofilm renseigne de sa maturité.

- **Biofilm de 6 mois** (Fig.III.34.e): les flocons de S.E.P sont bien structurés ; des boules compactes entassées de différentes tailles semblent présenter plusieurs générations (592X). Les bactéries sont difficilement retrouvées sous la masse de S.E.P. L'observation de la progression bactérienne demeure à ce stade limitée, par suite des difficultés de fixation occasionnée par l'accumulation de flocons organiques et de débris cellulaires. Des cristaux cubiques et hexagonaux fermés en paquet sont décelés dispersés dans la masse de la matière organique (1184X). Ces cristaux correspondent probablement aux sels formés suite au métabolisme bactérien et les éventuelles interactions avec les composants du milieu de culture.

- **Biofilm de 7 mois** (Fig.III.34.f): les flocons de S.E.P sont très volumineux par rapport à ceux des autres biofilms. Leur surface présente une rugosité régulière. Des amas de cocci sont repérés attachés aux boules de M.E.S (500X). Ces bactéries paraissent en voie de recolonisation des masses de S.E.P, probablement afin de se fournir de nutriments qui deviennent épuisés dans leur milieu de culture (2000X). Des formes cristallographiques rhomboédriques, cubiques, tétraogonales et en tablettes ultrafines sont



## Résultats et interprétations

observées (1000X). Ces formes correspondent probablement aux sels formés dans le milieu.

La figure III.35, donne l'aspect des biofilms du consortium de BSR avec le temps.

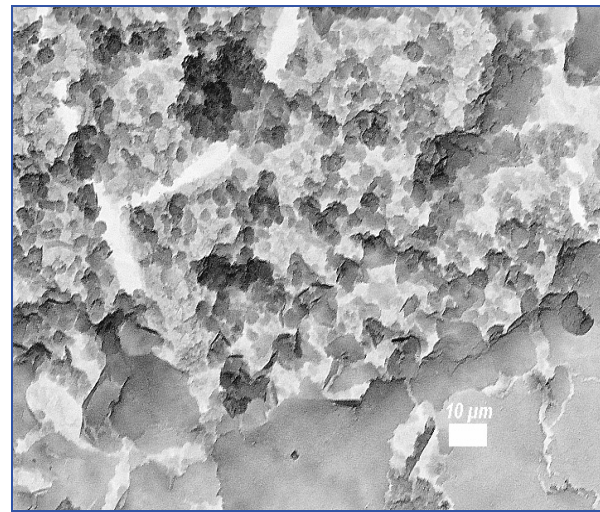
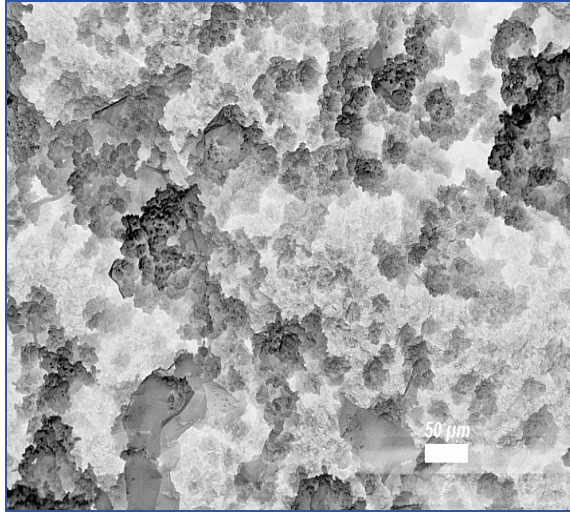


Fig.III.35.a. Biofilm du consortium de BSR après 1 mois d'immersion (500X ; 2000X respectivement).

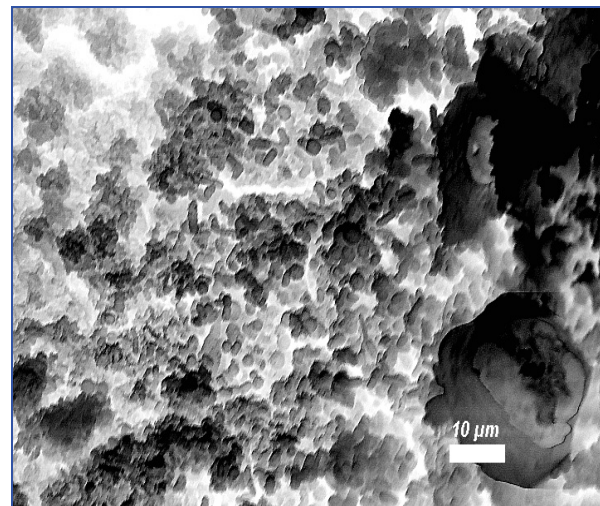
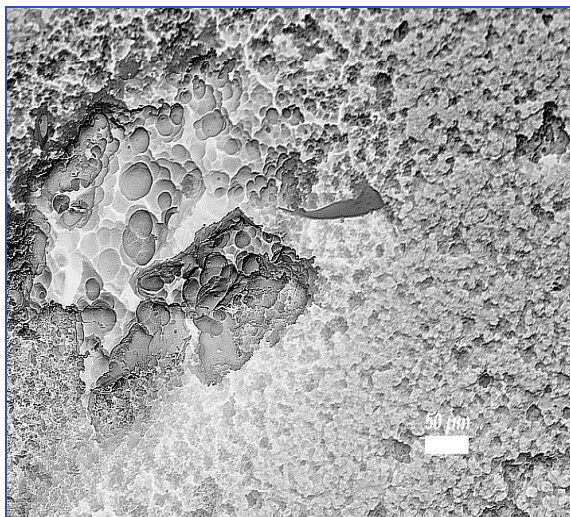


Fig.III.35.b. Biofilm du consortium de BSR après 2 mois d'immersion (500X ; 2000X respectivement).

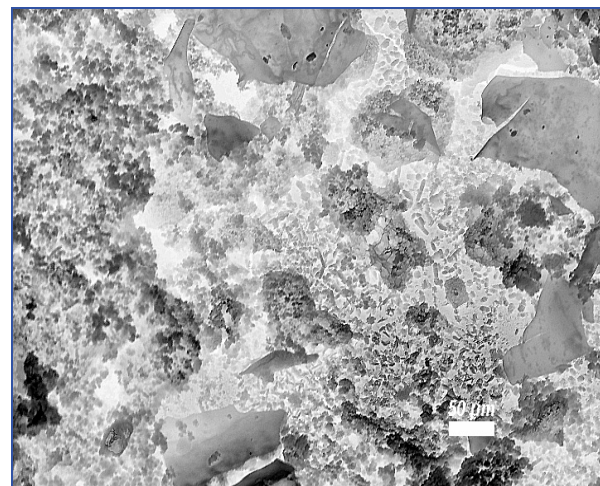
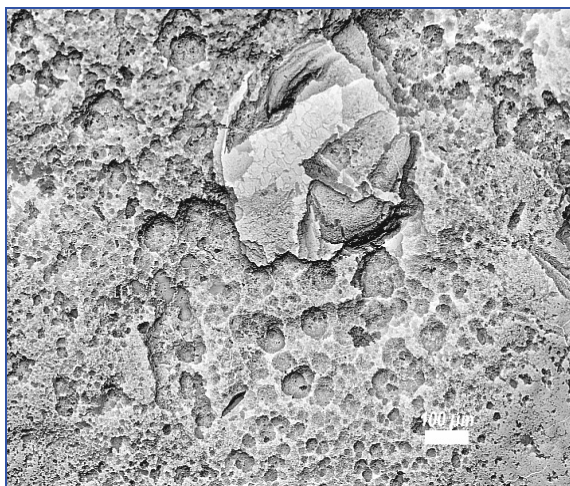


Fig.III.35.c. Biofilm du consortium de BSR après 5 mois d'immersion (500X ; 1000X respectivement).



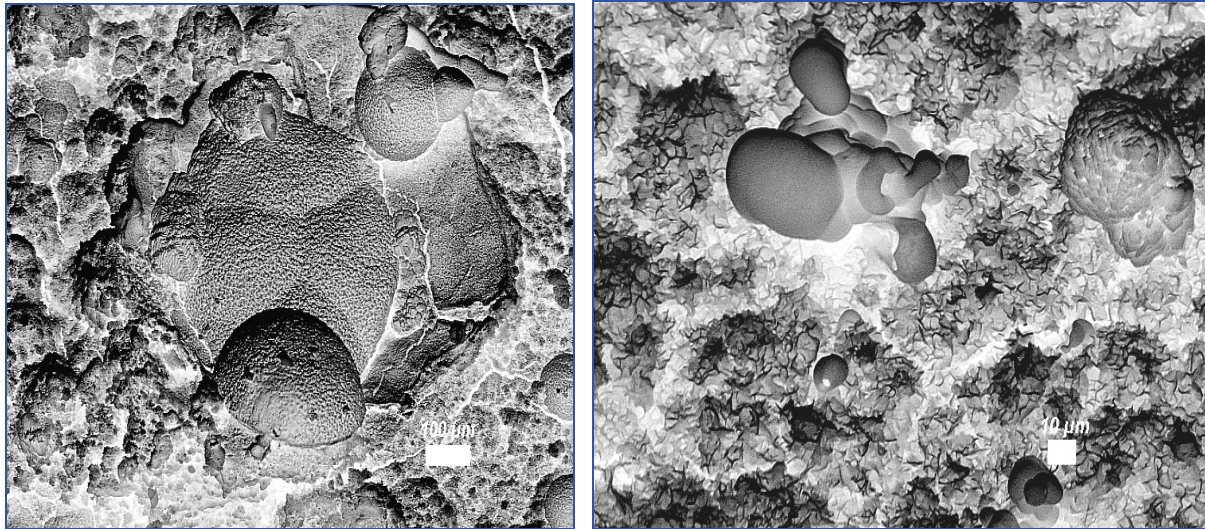


Fig.III.35.d. Biofilm du consortium de BSR après 6 mois d'immersion (500X ; 1000X respectivement).

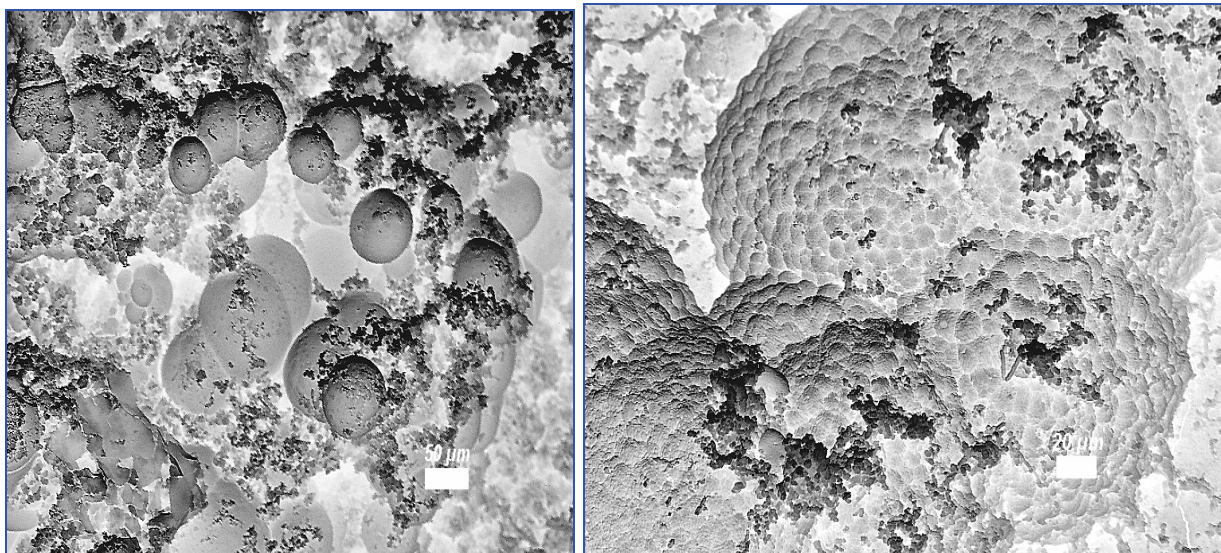


Fig.III.35.e. Biofilm du consortium de BSR après 7 mois d'immersion (500X ; 1000X respectivement).

Fig.III.35. Micrographies électroniques des biofilms du consortium de BSR formés sur les surfaces des éprouvettes d'acier en fonction du temps.

L'examen des biofilms du consortium de BSR au MEB montre après différentes durées d'immersion :

- **Biofilm de 1 mois** (Fig.III.35.a): des cellules très fines en agglomérats sont observées (500X). Les cellules enfermées dans la croûte sont décelées (2000X). C'est la microcolonisation de la surface métallique (microfouling).

- **Biofilm de 2 mois** (Fig.III.35.b): un film bien structuré de FeS et de petits floccs de S.E.P sont observés (500X), des regroupements cellulaires et des cellules écrasées en amas ainsi qu'un début de perforation de la matrice du biofilm sont décelés au fort grossissement. Les BSR observées mesurent moins de 5 µm (2000X).

- **Biofilm de 3 mois** (Fig.III.33): la matrice du biofilm est bien entassée et présente des fissurations (500X). De rares amas en colonisation sont décelés sur la matrice (2000X) et

## Résultats et interprétations

à fort grossissement (4000X), des cellules en voie de lyse rejoignent la masse de S.E.P, indiquant ainsi de la maturité du biofilm à ce stade d'évolution.

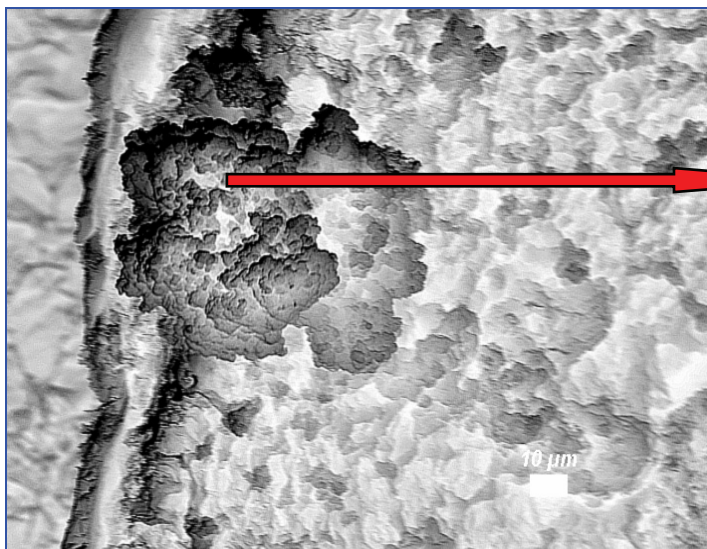
- **Biofilm de 5 mois** (Fig.III.35.c): la masse de S.E.P est compacte et présente des irrégularités (500X), les cellules semblent être protégées sous la croûte du biofilm et elles sont difficilement repérées (1000X), le biofilm à ce stade est mature.

- **Biofilm de 6 mois** (Fig.III.35.d): de grandes boules de matières organiques sont observées intégrées dans la matrice du biofilm (500X), des formes aciculaires correspondant probablement aux produits de corrosion (sels) sont repérées, les BSR ne sont plus visibles même au fort grossissement (1000X), ce biofilm est donc mature.

- **Biofilm de 7 mois** (Fig.III.35.e): les amas de BSR réapparaissent dispersées sur les floccs de S.E.P (500X). Ces derniers ont une surface régulièrement rugueuse et les cellules semblent en voie d'adhésion sur ces floccs. A un grossissement plus grand (1000X), des bacilles isolés ainsi que des microcolonies de cocci sont repérés sur les boules de matières organiques. Ceci peut être expliqué par une recolonisation du biofilm par les BSR planctoniques qui se retrouvent dans un milieu pauvre en éléments nutritifs.

### III.3.3. Etude des produits de corrosion (biofilms) par microanalyse EDS

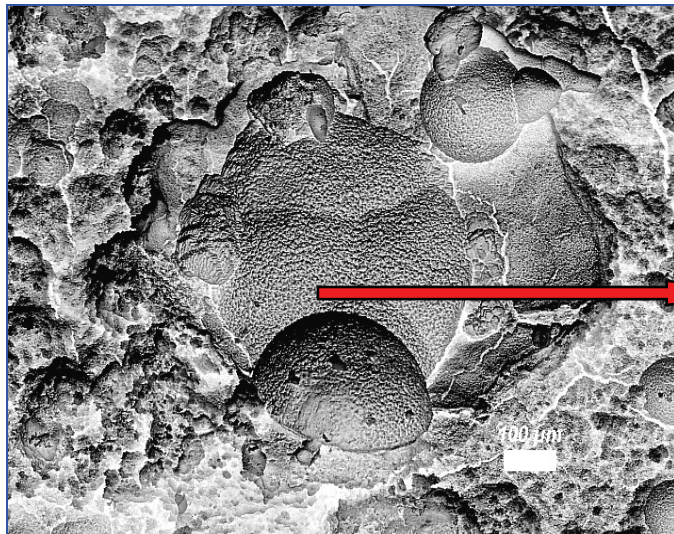
Les analyses EDS à différents endroits des biofilms sont données sur la figure III.36. Les résultats montrent que sur un point du biofilm où il n'y a que des amas bactériens (Fig. III.36.a), les éléments chimiques prédominants sont le soufre, l'oxygène, le carbone et le fer. Ces éléments sont probablement les constituants des cellules bactériennes (matières organiques formés essentiellement de O et C), et les produits de corrosion (probablement de FeS). D'autres éléments sont révélés : Na, Ca et Cl, ils proviennent vraisemblablement du milieu de culture.



(Fig.III.36.a)

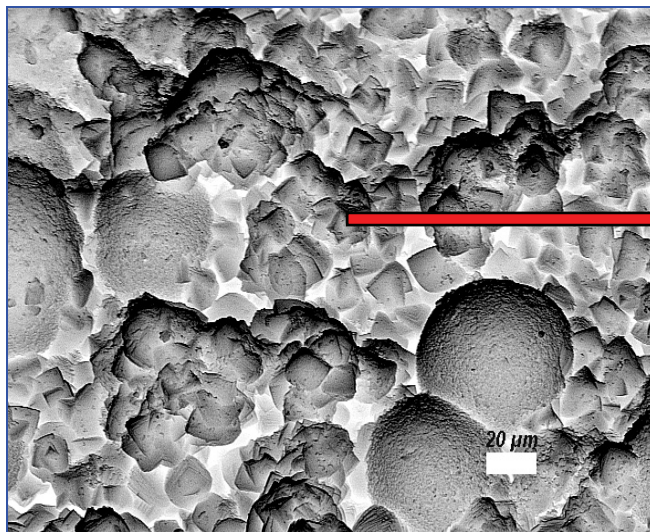
Element	Wt %	At %
C K	14.59	28.28
O K	30.69	44.64
NaK	03.62	03.67
S K	05.34	03.88
ClK	01.36	00.89
CaK	00.94	00.55
FeK	43.45	18.10





Element	Wt %	At %
C K	14.03	25.32
O K	41.86	56.71
NaK	01.26	01.19
SiK	00.40	00.31
FeK	42.45	16.47

(Fig.III.36.b)



Element	Wt %	At %
C K	17.83	35.51
N K	01.91	03.26
O K	17.52	26.20
NaK	05.69	05.92
SiK	00.00	00.00
S K	12.47	09.31
ClK	02.87	01.94
FeK	41.71	17.87

(Fig.III.36.c)

**Fig.III.36.** Micrographies avec microanalyse EDS (Intensité en fonction de l'énergie en KeV) à différents endroits des biofilms de BSR1 formés sur les éprouvettes d'acier.

Une analyse ciblée sur une masse probable de S.E.P (Fig.III.36.b) donne plus d'oxygène, de carbone et du fer, le soufre n'est pas présent. Les S.E.P se présentent souvent sous forme de capsules, ces exopolymères ne sont pas associés aux cellules bactériennes mais peuvent être retrouvées dans la phase du liquide environnant le biofilm. La composition des S.E.P dépend des espèces bactériennes et des conditions de culture. Ces S.E.P ont la capacité de se complexer avec les ions métalliques (**Beech, 2004**).

L'analyse des formes cristallographiques décelées sur le biofilm (Fig.III.36.c), révèle du C, O, Ca, Cl, Fe, Na et S. L'analyse par diffraction peut confirmer leur composition.

#### III.3.4. Etude des produits de corrosion (biofilms) par diffraction des rayons X

Les diffractogrammes obtenus pour les biofilms de BSR1 après différentes durées d'immersion (2, 5, 6, et 7 mois) sont donnés par la figure III.37.

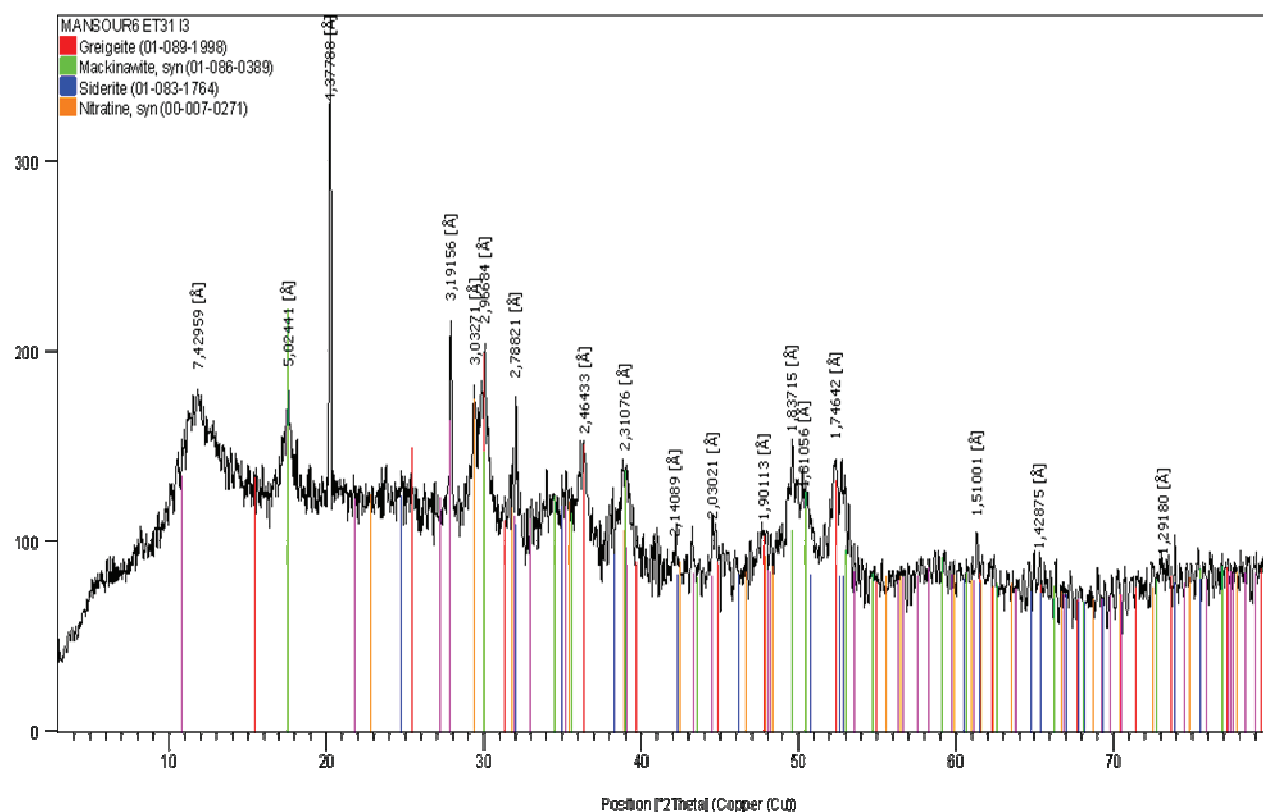


Fig.III.37.a. Diffractogramme d'un biofilm de BSR 1 de deux (02) mois.

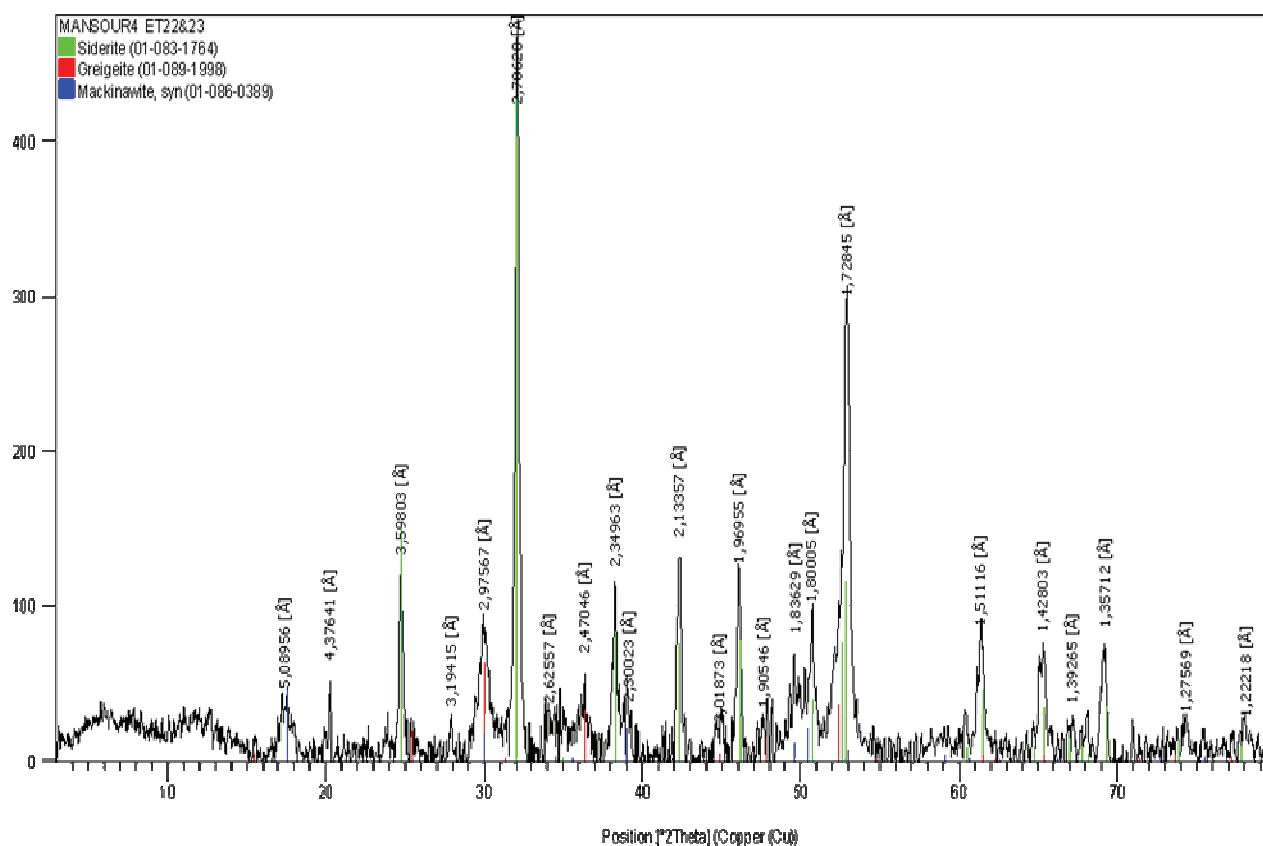


Fig.III.37.b. Diffractogramme d'un biofilm de BSR 1 de cinq (05) mois.

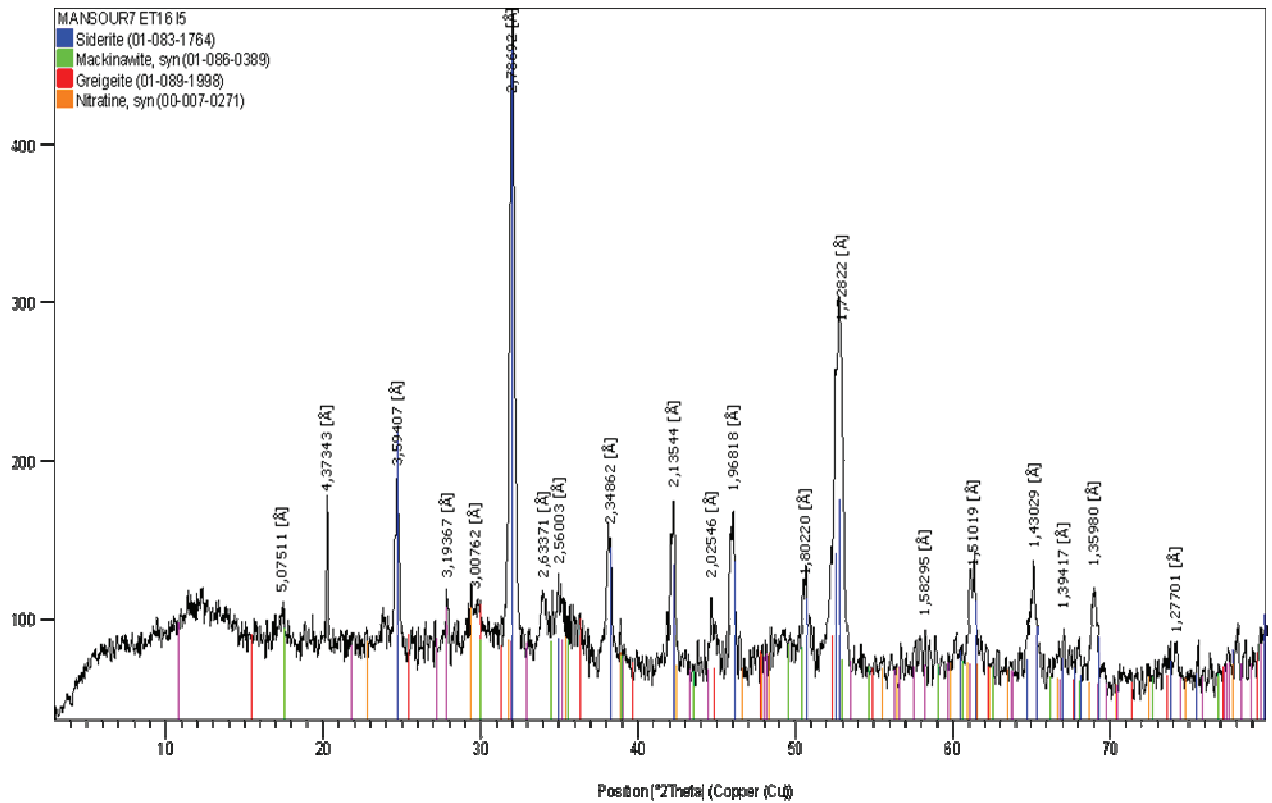


Fig.III.37.c. Diffractogramme d'un biofilm de BSR 1 de six (06) mois.

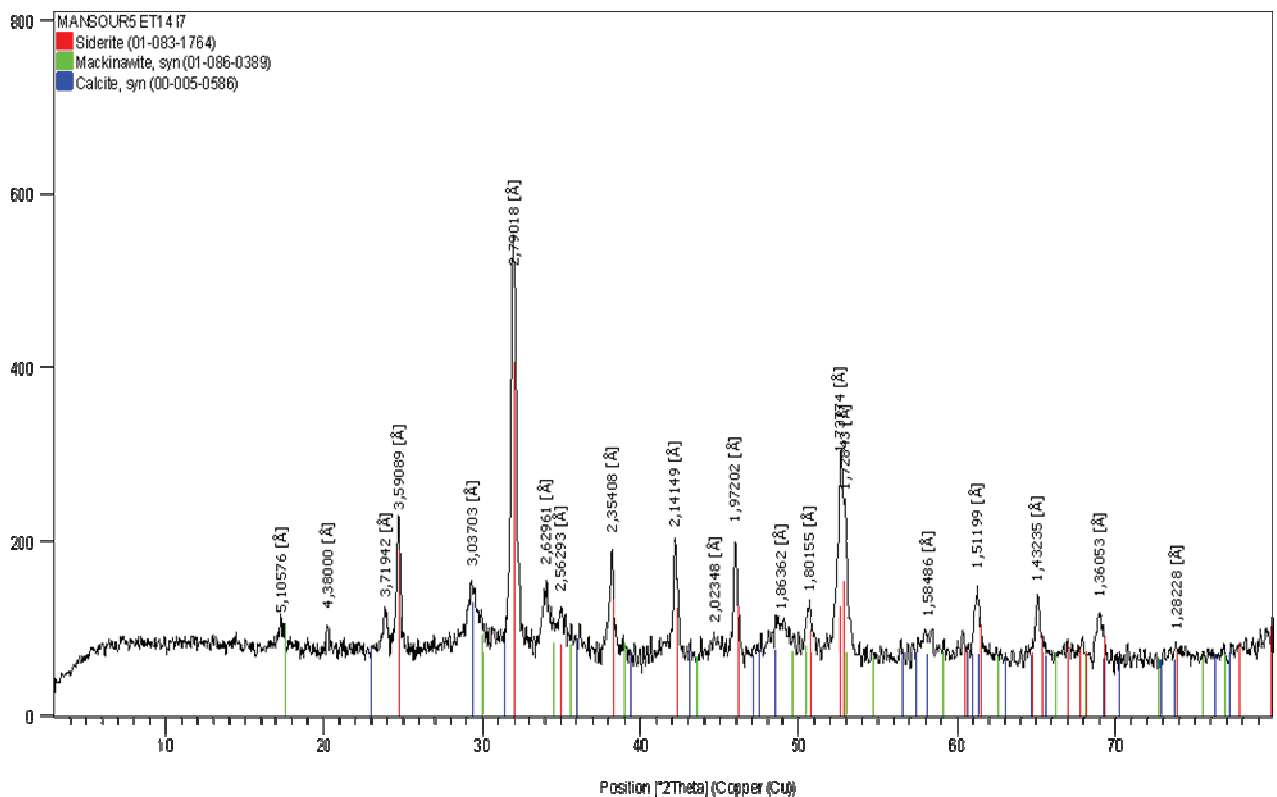


Fig.III.37.d. Diffractogramme d'un biofilm de BSR 1 de sept (07) mois.

Fig.III.37. Diffractogrammes des biofilms de BSR 1 de deux (a), cinq (b), six (c) et sept (07) mois d'immersion dans le milieu API, sur une éprouvette d'acier API 5L X52.



## Résultats et interprétations

---

Tous les diffractogrammes mettent en évidence la présence de la forme cristallographique de FeS connue sous le nom de mackinawite ( $\text{FeS}_{0.9}$ ). Cette phase est caractérisée par ses formes cubiques, tétraogonales et hexagonales fermés arrangés en paquet, ce qui consolide les observations au MEB. Ceci est en accord avec les résultats de Sardisco et Pitts. Les sulfures de fer formés sur la surface des éprouvettes d'acier dans un intervalle de pH de 6,5-8,8, représentent le produit de corrosion le plus prononcé (**Sarioglu & al., 1997**), d'ailleurs, les produits de corrosion sont constitués essentiellement de Fe et de S (**Mc Neil & al., 1990; Bethencourt & al., 2006**).

Le diffractogramme du biofilm de 2 mois (Fig.III.37.a) présente en plus de la mackinawite, trois autres phases, à savoir : la greigeite ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ), la siderite ( $\text{Fe CO}_3$ ) et la nitratine ( $\text{Na NO}_3$ ). Les pics sont décalés et très larges, ceci est expliqué par de mauvaises conditions de cristallisation ou par une mauvaise cristallisation des différents dépôts de biocorrosion (phases néoformées). Un grand bruit de fond est observé, ce qui est expliqué par la présence de produits d'altération présentant une cristallisation secondaire, il s'agit des matières organiques (BSR et leurs S.E.P formées essentiellement de polysaccharides, protéines et acides nucléiques (**Zinkevich & al., 1996**)). Les pics de la mackinawite sont les plus importants. Le FeS est donc le produit de biocorrosion le plus répondu à ce stade d'évolution de biofilm.

Les trois autres phases décelées représentent aussi des produits de corrosion. La greigeite est la forme cristallographique développée de la mackinawite, d'ailleurs les produits de corrosion progressent des formes riches en fer jusqu'aux formes riches en sulfures. Les S.E.P de part leur nature de polymères cationiques (polysaccharides), jouent un rôle d'une résine échangeuse de cations et interviennent dans la capture d'ions métalliques présents en solution. Ces propriétés fixatrices leur donnent la capacité d'influencer la distribution et la présence des métaux à l'interface métal corrodé-biofilm (**Feugeas & al., 1997**).

Le diffractogramme du biofilm de 5 mois (Fig.III.37.b) met en évidence la mackinawite, la siderite ( $\text{Fe CO}_3$ ) et la greigeite. Le diffractogramme du biofilm de 6 mois (Fig.III.37.c) révèle la présence de la Mackinawite, la greigeite, la siderite et la nitratine. Le diffractogramme du biofilm de 7 mois (Fig.III.37.d) met en évidence la mackinawite, ainsi que de la siderite et de la calcite ( $\text{Ca CO}_3$ ).

Dans les trois derniers diffractogrammes (5, 6 et 7 mois), la siderite est plus prononcée que la mackinawite, avec des pics moins larges et très représentatifs, ce qui indique une bonne cristallisation de cette phase à ces stades d'évolution du biofilm et qui peut amener à dire que sur ces biofilms, il y'a plus de matière organique que de sulfures. Les observations de ces biofilms au MEB, montrent que les BSR sont protégées sous une couche de S.E.P, et le biofilm est considéré comme mature à cette étape. A noter que les sels révélés ( $\text{Ca CO}_3$ ,  $\text{Na NO}_3$ ) sont probablement issus de la minéralisation des S.E.P.

La production et la composition chimique des exopolymères de BSR varient dépendamment de la nature des BSR isolées. La présence de la surface de l'acier au carbone a une influence sur le contenu des S.E.P. Les conditions environnementales régularisent donc la réponse physiologique des BSR à l'échelle moléculaire, et les produits de corrosion évoluent de formes riches en fer aux formes riches en sulfate (**Zinkevich & al., 1996 ; Marchal, 1999**).

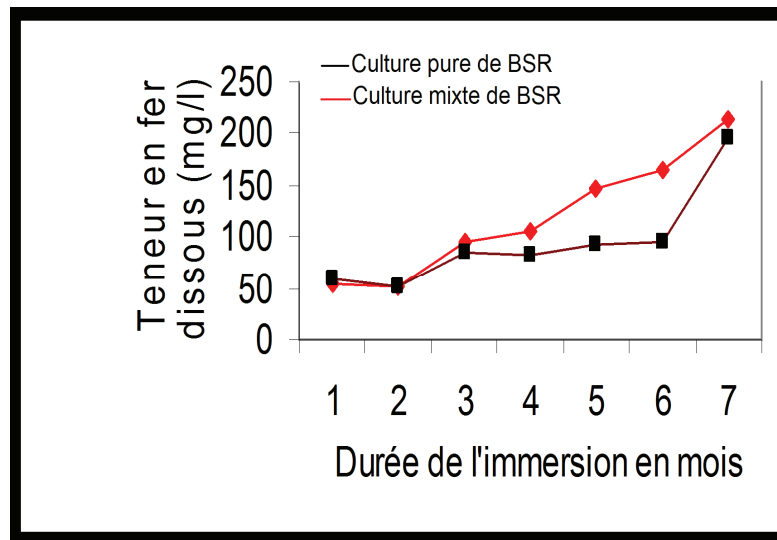
La calcite n'est présente que sur le biofilm de 7 mois, pour lequel les observations au MEB montrent les formes caractéristiques de ce sel (rhomboèdres aigus, prismes allongés et tablettes très aplaties). Ce biofilm est le plus mature parmi tous les biofilms analysés. Les principaux facteurs affectant la MIC des aciers au carbone en milieu synthétique,ensemencé par un mélange de BSR, ont été déterminés par la

méthodologie des plans d'expériences. Le principal facteur est la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  agissant comme barrière protectrice ou comme tampon (**Feugeas & al., 1997**).

### III.3.5. Evaluation de la biocorrosion

#### III.3.5.1. Evolution de la concentration en $\text{Fe}^{2+}$ en fonction du temps

La figure suivante représente l'évolution de la teneur en ions  $\text{Fe}^{2+}$  avec le temps (Fig.III.38).



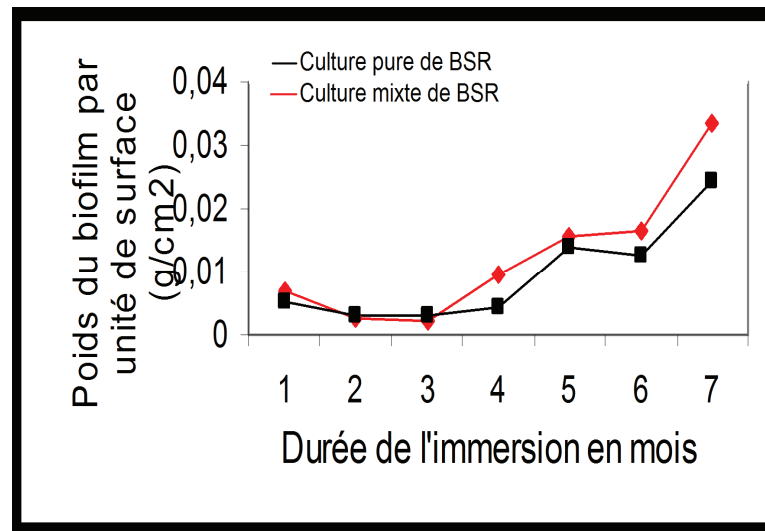
**Fig.III.38.** Evolution de la teneur en fer dissous des différentes cultures de BSR au cours du temps.

Les résultats montrent que la teneur en ions  $\text{Fe}^{2+}$  augmente graduellement en fonction du temps et ceci quelque soit le type de culture de BSR (pure ou mixte). Les BSR induisent un effet remarquable sur la dissolution anodique de l'acier. Les changements métaboliques peuvent être induits par les altérations du pH de la solution, la dissolution du fer à l'intérieur des sites et par l'adsorption spécifiques des anions ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  et  $\text{HPO}_4^-$ ) (**Rainha & al., 1997**). Le fer est impliqué dans la biosynthèse des cytochromes dans la chaîne respiratoire des BSR, et la concentration en fer ferreux dissous est un facteur déterminant du taux de corrosion. Plus la concentration en fer dissous augmente, plus la corrosion croît (**Feugeas & al., 1997**). En effet, il a été montré que dans une culture de *D.gabonensis*, la concentration molaire des ions  $\text{Fe}^{2+}$  est contrôlée par une dissociation de  $\text{FeS}$  et par la concentration en  $\text{H}^+$  (**Marchal & al., 2001**).

A noter que la teneur en  $\text{Fe}^{2+}$  est plus importante pour les cultures mixtes, que pour les cultures pures. Un éventuel effet de synergie entre les souches constitutives du consortium de BSR a eu lieu.

#### III.3.5.2. Evolution du poids des biofilms de BSR en fonction du temps

La figure III.39 donne l'évolution du poids des biofilms de BSR avec le temps.



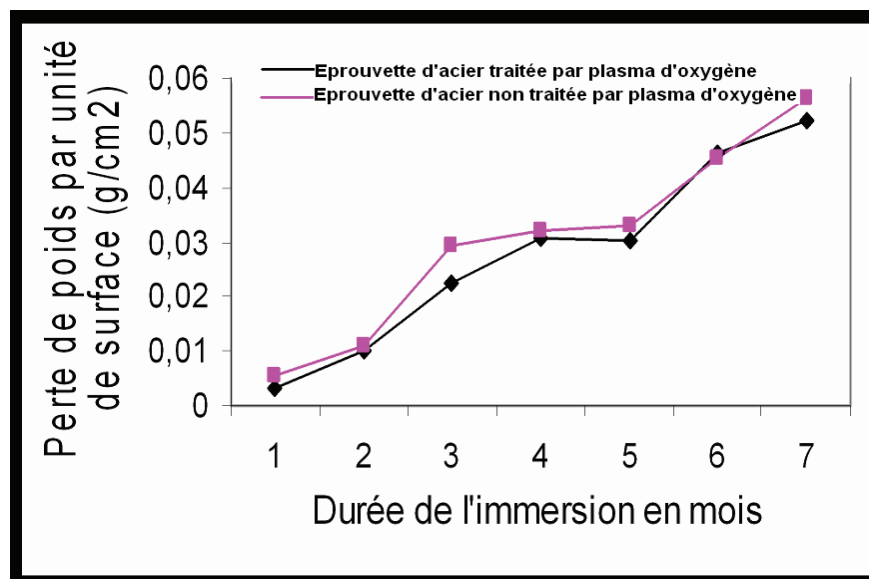
**Fig.III.39.** Evolution du poids des biofilms de BSR 1 et du consortium de BSR par unité de surface d'acier au cours du temps.

Les résultats montrent que le biofilms augmentent de poids du 1<sup>er</sup> au 7<sup>ème</sup> mois (de 6,87 mg/cm<sup>2</sup> à 33,9 mg/cm<sup>2</sup> pour les biofilms hétérogènes (cultures mixtes) et de 5,04 mg/cm<sup>2</sup> à 24,26 mg/cm<sup>2</sup> pour les biofilms homogènes (cultures pures), cette augmentation est indépendante du type d'éprouvette d'acier. A noter qu'il y'a une augmentation relative du poids des biofilms hétérogènes, par rapport aux biofilms homogènes.

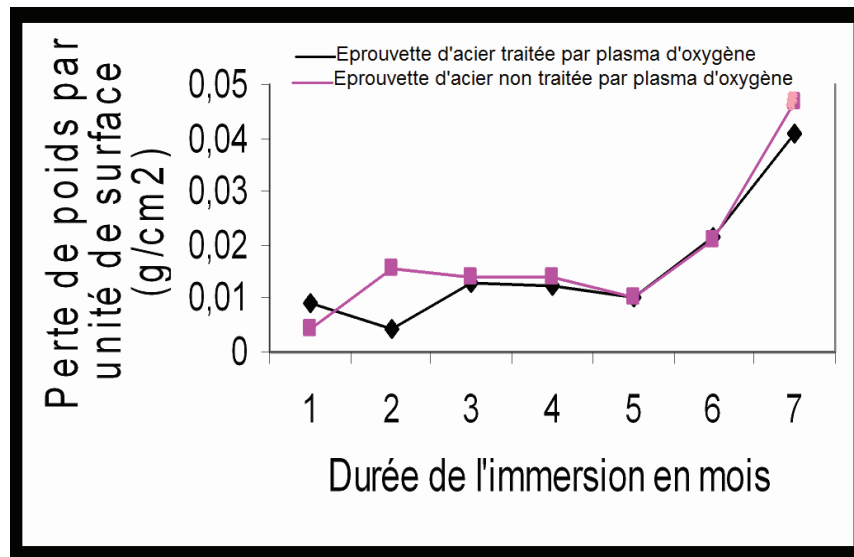
Un biofilm ne peut pas être considéré, dans tous les systèmes, comme une couche rigide et son épaisseur varie avec les conditions hydrodynamiques et augmente avec la précipitation de matières organiques et des sécrétions bactériennes. Les biofilms ne sont jamais uniformes en épaisseur ou en couverture (**George & al., 2003**).

### III.3.5.3. Evaluation de la perte de poids des éprouvettes d'acier en fonction du temps

La figure III.40 illustre l'évolution de la perte de poids, des éprouvettes d'acier traitées et non traitées par plasma d'oxygène, dans les différentes cultures en fonction du temps.



(Fig.III.40.a)



(Fig.III.40.b)

**Fig.III.40.** Evolution de la perte de poids des éprouvettes d'acier traitées et non traitées dans les cultures mixtes (a) et dans les cultures pures (b) au cours du temps.

Les résultats montrent que la perte de poids augmente graduellement en fonction du temps, que ce soit pour les éprouvettes traitées ou non traitées par plasma d'oxygène, et quelque soit le type de culture bactérienne. Il a été démontré que les BSR induisent une perte de poids de l'acier API 5L X52 et augmentent le taux de corrosion (**Sarioglu & al., 1997 ; Bethencourt & al., 2006**).

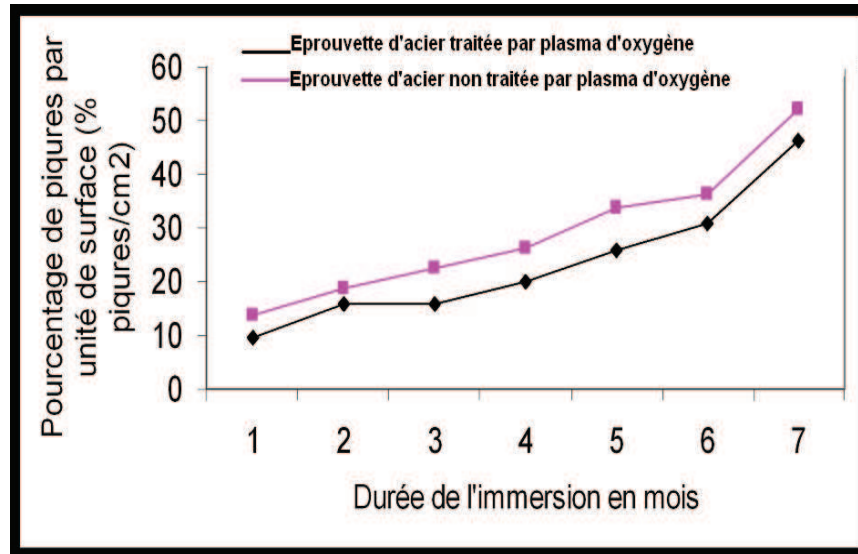
La perte de poids augmente de  $3,252 \text{ mg/cm}^2$  (1<sup>er</sup> mois) à  $52,020 \text{ mg/cm}^2$  (7<sup>ème</sup> mois) pour les éprouvettes traitées, et de  $5,644 \text{ mg/cm}^2$  (1<sup>er</sup> mois) à  $56,165 \text{ mg/cm}^2$  (7<sup>ème</sup> mois) pour les éprouvettes non traitées, dans les cultures mixtes (Fig.III.40.a). Dans les cultures pures (Fig.III.40.b), la perte de poids augmente de  $8,895 \text{ mg/cm}^2$  (1<sup>er</sup> mois) à  $41,109 \text{ mg/cm}^2$  (7<sup>ème</sup> mois) pour les éprouvettes traitées, et de  $4,355 \text{ mg/cm}^2$  (1<sup>er</sup> mois) à  $46,644 \text{ mg/cm}^2$  (7<sup>ème</sup> mois) pour les éprouvettes non traitées. Ces résultats permettent de dire que les cultures mixtes sont plus agressives que les cultures pures, et que les éprouvettes traitées par plasma d'oxygène, résistent mieux à la biocorrosion que les éprouvettes non traitées dans les mêmes conditions.

#### III.3.5.4. Evaluation de la densité des piqûres des éprouvettes d'acier en fonction du temps

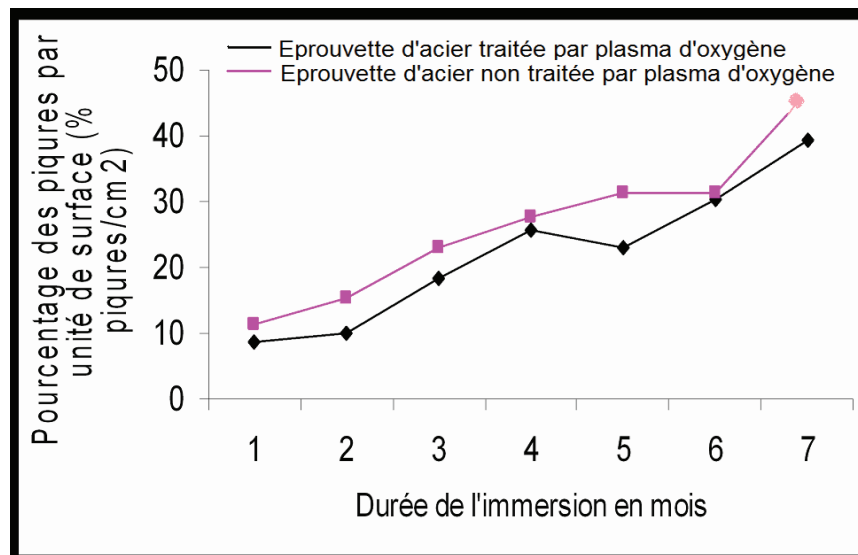
La figure III.41 illustre l'évolution de la densité des piqûres des éprouvettes d'acier, traitées et non traitées par plasma d'oxygène, dans les différentes cultures en fonction du temps.

Les micrographies des différentes éprouvettes d'acier, prises au microscope métallographique, ainsi que les rapports d'analyse de phases, sont consignés en annexe n°3.





(Fig.III.41.a)



(Fig.III.41.b)

**Fig.III.41.** Evolution de la densité des piqures des éprouvettes d'acier traitées et non traitées dans les cultures mixtes (a) et dans les cultures pures (b) au cours du temps.

Les résultats obtenus montrent que le pourcentage des piqures sur les éprouvettes d'acier, augmente graduellement en fonction du temps que ce soit pour les éprouvettes traitées ou non traitées, et quelque soit le type de culture bactérienne. Les microorganismes dans un milieu aqueux adhèrent aux surfaces, forment des biofilms et mettent un environnement chimique à l'interface métal-biofilm différent de celui du milieu environnant, créant ainsi des cellules de concentration qui facilitent et stabilisent la corrosion localisée. Toute propagation de corrosion localisée exige un équilibre entre l'occlusion du site de corrosion, qui maintient un environnement local, et un certain degré d'échange ionique avec le milieu environnant (**George & al., 2003**).

La densité des piqures dans les cultures mixtes (Fig.III.41.a), augmente de 9,6 % (1<sup>er</sup> mois) à 46,2 % (7<sup>ème</sup> mois) pour les éprouvettes traitées, et de 13,9 % (1<sup>er</sup> mois) à 52 % (7<sup>ème</sup> mois) pour les éprouvettes non traitées. Dans les cultures pures (Fig.III.41.b), le pourcentage des piqures augmente de 8,8 % à 39,5 % pour les éprouvettes traitées et

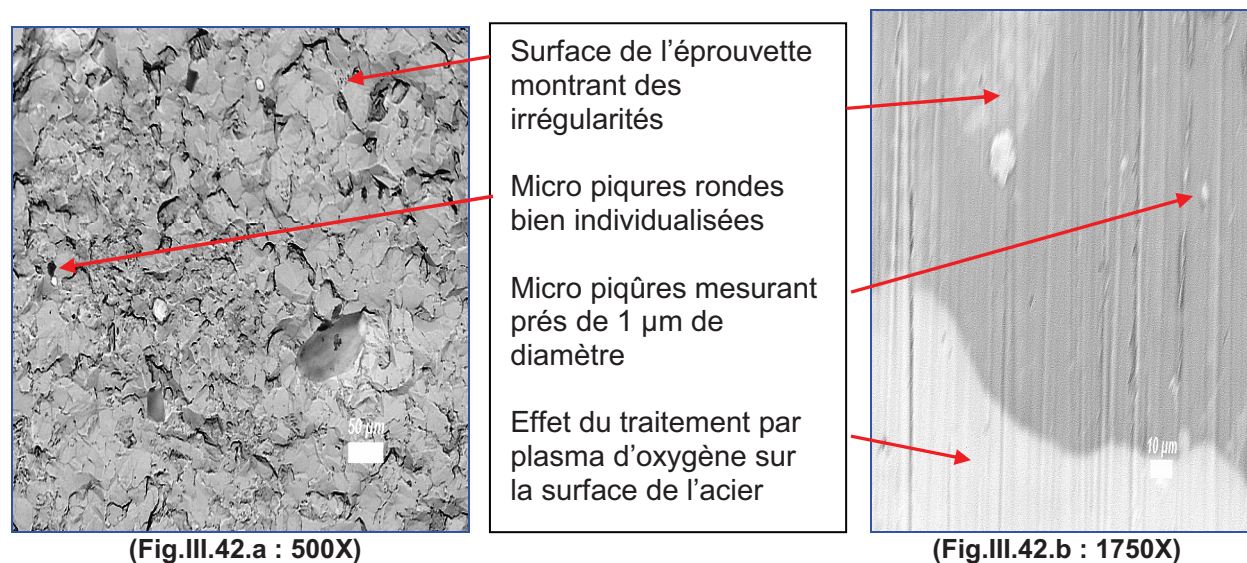
de 11,3 % à 46,6 % pour les éprouvettes non traitées. Ces constatations concordent avec les résultats de la perte de poids et amènent à dire que les cultures mixtes sont plus corrosives que les cultures pures vis-à-vis de l'acier au carbone (traité ou non traité). L'effet des souches pures et synergie entre les souches (interaction possible des souches présentes simultanément dans le biofilm) a été étudié sur des aciers doux, et la C.I.M. des pluricultures est très supérieure à celle des monocultures (**Feugeas & al., 1997**).

Quoique les résultats obtenus montrent que les biofilms mixtes, augmentent de poids plus que les biofilms pures, il a été démontré que c'est le potentiel résultant à la surface de l'acier qui affecte l'initiation des piqûres, et non pas le biofilm lui-même (**Crolet, 1992**). Ainsi, les résultats des dénombrements de BSR (sessiles et planctoniques) obtenus, ne permettent pas d'établir une relation entre le nombre de BSR et leur effet corrosif. Il a été prouvé qu'il n'y a pas de corrélation entre corrosion et biomasse ou entre corrosion et nombre de bactéries constituant le biofilm (**Feugeas & al., 1997**). Donc, l'activité des BSR c'est le paramètre clef de la biocorrosion et non pas le nombre ou la masse des bactéries.

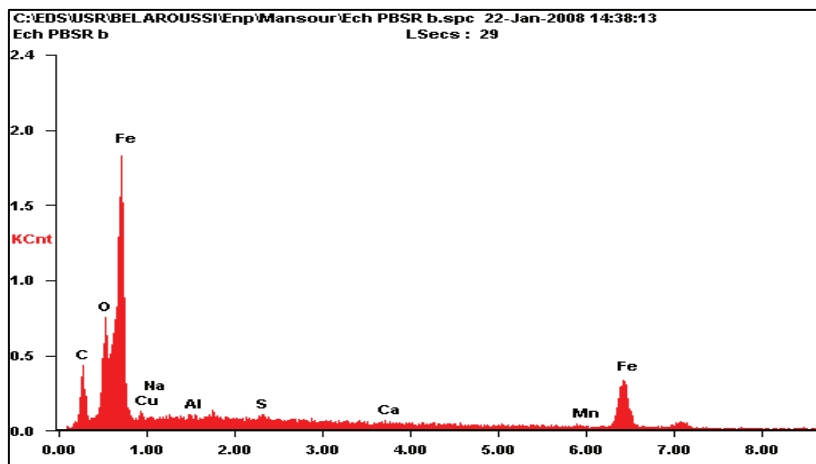
Ainsi, les résultats prouvent que les éprouvettes non traitées par plasma d'oxygène, sont plus susceptibles à la corrosion par piqûres induites par les BSR que les éprouvettes traitées. L'implantation d'ions limite donc la corrosion par piqûres par introduction d'ions favorisant la formation d'un film passif protecteur ou par amorphisation des surfaces ainsi par l'élimination des joints des grains métalliques (joints de grains de l'acier au carbone dans la présente étude) qui sont plus sensibles à la corrosion (**CETIM, 1994**). Le mécanisme intervenant dans la protection des éprouvettes d'acier traitées par plasma d'oxygène, est à détailler. Des essais électrochimiques en milieu bactérien doivent être faits pour mettre en évidence les mécanismes réactionnels existant au niveau de l'interface métal-biofilm et le milieu de culture.

### III.3.5.5. Observations microscopiques et analyse EDS des piqûres

Les figures III.42 et III.43 donnent l'aspect des piqûres de BSR et leur analyse EDS.



**Fig.III.42.** Micrographies des piqûres de biocorrosion sur les éprouvettes d'acier avant (a) et après polissage (éprouvette traitée par plasma) (b).



Element	Wt %	At %
C K	09.46	28.11
O K	08.38	18.69
Cu L	01.34	00.75
Na K	00.29	00.45
Al K	00.25	00.33
S K	00.53	00.59
Ca K	00.39	00.34
Mn K	01.64	01.07
Fe K	77.71	49.65

**Fig.III.43.** Microanalyse EDS (Intensité en fonction de l'énergie en KeV) des piqûres de biocorrosion après décapage du biofilm de BSR de la surface de l'éprouvette d'acier.

Les micrographies montrent que les piqûres formées sur les éprouvettes d'acier, suite à l'action des BSR, ont une forme ronde et elles mesurent quelques micromètres de diamètre (entre 1 et 10  $\mu\text{m}$ ) (Fig.III.42). La corrosion par les BSR est une corrosion par piqûres initiée par une pollution locale de la surface du métal par les métabolites bactériens. L'analyse EDS du contenu des piqûres (Fig.III.43) montre la présence des éléments suivants : Fe, C, O, Cu, Al, S, Ca, Mn et Na. Les éléments prédominants sont Fe, O et C, les autres éléments sont présents en faibles pourcentages. Les BSR induisent une dissolution du fer à l'intérieur des sites (piqûres) ainsi que l'adsorption spécifiques des anions ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) (Rainha & al., 1997).

# ***Conclusion générale***

### CONCLUSION GENERALE

Au cours de ce travail, nous avons étudié le comportement de l'acier au carbone API 5L X52 vis-à-vis de la corrosion en milieux aqueux, avec et sans traitement de surface par implantation dans un plasma d'oxygène. Les résultats obtenus aux termes de cette étude expérimentale, montrent que le traitement de surface appliqué a amélioré la résistance à la corrosion de l'acier et les conclusions suivantes peuvent être avancées :

La première partie est réservée à l'étude de l'effet du traitement de surface par plasma d'oxygène sur l'acier. Les résultats obtenus montrent que la décharge électrique obtenue à une pression de  $8,3 \cdot 10^{-2}$  torr donne un meilleur aspect de traitement après 52 heures d'exposition, la couleur obtenue sur la surface de l'acier est bleu noirâtre à noir. La microstructure de l'acier change d'un aspect clair, lisse et homogène avant traitement, à un aspect hétérogène présentant des inclusions qui se perforent pour donner une croûte caractéristique après traitement. L'analyse EDS met en évidence la présence du fer et du carbone pour le matériau de base, et des pics du fer, d'oxygène, du carbone, ainsi que des traces d'aluminium et de sodium pour l'acier traité. L'analyse par diffraction des rayons X révèle une seule phase fer/manganèse ( $Fe_{19}Mn$ ) pour l'acier avant traitement. Après implantation, une deuxième phase consistant en l'hématite ( $Fe_2O_3$ ) est détectée. Ainsi, la dureté Vickers ( $HV_{100}$  et  $HV_{50}$ ) de l'acier étudié a significativement augmenté après traitement.

Les essais d'immersion en solution corrosive de  $FeCl_3$  montrent que les éprouvettes d'acier traitées, présentent des pertes de poids et des pourcentages de piqûres plus faibles que ceux obtenus avec les éprouvettes non traitées. Les essais électrochimiques montrent une augmentation significative de la résistance de polarisation ( $R_p$ ) avec l'électrode revêtue. Les tracés des droites de Tafel montrent que la vitesse de corrosion chute avec l'électrode traitée, et les essais d'impédance électrochimique montrent une augmentation de la  $R_p$  de l'électrode revêtue.

La deuxième partie consacrée aux méthodes biologiques de caractérisation phénotypique a permis de conclure que le consortium de BSR est hétérogène, il comprend quatre différentes formes de BSR codifiées : BSR1, BSR2, BSR3 et BSR4, correspondant ainsi aux différents genres. L'identification préliminaire a permis de conclure que la souche BSR1 peut se rapprocher du genre *Desulfococcus*. La BSR1 est une souche anaérobie mésophile non sporulante, neutrophile et à caractère faiblement halophile, elle appartient au domaine Bacteria et présente les bandes caractéristiques des BSR. Elle est caractérisée par ses colonies grisâtres, ses cellules sphériques mobiles à Gram négatif, son habilité de produire la désulfovirdine et d'utiliser les sulfates et les thiosulfates comme accepteurs finaux d'électrons pour la synthèse des sulfures. La BSR2 peut se rapprocher du genre *Desulfuromonas* caractérisé par ses colonies oranges, ses bacilles droits à Gram négatif, mobiles et non sporulants. La BSR3 peut se rapprocher du genre *Desulfobulbus*, caractérisé par ses colonies blanches, ses cellules ovoïdes à extrémités pointues à Gram négatif, mobiles et non sporulantes et la BSR4 peut se rapprocher du genre *Desulfovibrio*, caractérisé par ses colonies noires, ses cellules mobiles, non sporulantes et à Gram négatif. Seuls les tests biochimiques et génétiques d'identification, peuvent confirmer l'appartenance des BSR caractérisées aux genres cités.



## *Conclusion générale*

---

Dans la troisième partie de ce travail, la corrosion par piqûres de l'acier avec et sans traitement de surface est étudiée, et ceci dans des cultures en batch pures (BSR1) et mixtes (consortium de BSR) de BSR après différentes durées d'immersion. En parallèle, des suivis des paramètres métaboliques des différentes cultures, ainsi que des études topologiques et chimiques des biofilms de BSR au cours du temps sont réalisés. Les résultats obtenus ont montré :

- ◇ Une tendance à la régulation du pH environnant par les BSR, des fluctuations de la salinité et de la conductivité avec le temps, ainsi qu'une tendance à la régulation de l'acidification du milieu par les BSR, en maintenant une teneur stable en  $H_2S$ , et ceci quelque soit le type de cultures, pures ou mixtes.
- ◇ Une indépendance de l'aspect évolutionnaire des biofilms du substratum (éprouvette d'acier traitée ou non traitée) pour les deux types de cultures.
- ◇ Une évolution dans la formation des biofilms (homogènes et hétérogènes) avec le temps, allant du microfouling durant le premier mois de culture, à la maturité au troisième mois puis à la recolonisation de la matrice des biofilms au septième mois.
- ◇ Une composition des biofilms riche en carbone, soufre, fer et oxygène, les phases correspondantes sont la mackinawite, la greigeite, la siderite, la nitratine et la calcite.
- ◇ Une augmentation graduelle du poids des biofilms et de la teneur en ions  $Fe^{2+}$  en fonction du temps, cette augmentation est plus grande avec les cultures mixtes.
- ◇ Une augmentation graduelle de la perte de poids et de la densité des piqûres en fonction du temps, que ce soit pour les éprouvettes traitées ou non traitées et quelque soit le type de cultures. Une agressivité plus grande des cultures mixtes par rapport aux cultures pures, et une résistance plus grande à la corrosion des éprouvettes traitées par plasma d'oxygène par rapport aux éprouvettes non traitées sont observées.

En conclusion, le traitement de surface par plasma d'oxygène a amélioré la résistance à la corrosion de l'acier API 5L X52, aussi bien en milieu abiotique qu'en milieu bactérien. Par ailleurs, le traitement mis au point dans cette étude offre l'avantage d'être d'une mise en œuvre très simple et donc économiquement avantageux. Ainsi, vu sa propreté, ce procédé satisfait les nouvelles exigences environnementales, prises en considération dans la stratégie de choix d'un procédé de lutte et prévention de la corrosion.

En perspective, cette étude pourrait être poursuivie en traitant les axes suivants :

- ◇ Identification des souches de BSR utilisées afin de mieux étudier leurs éventuelles synergies.
- ◇ Application du traitement de surface avec d'autres éléments (exemple : N) et comparer l'efficacité des dépôts obtenus avec celui résultant de l'implantation d'oxygène.
- ◇ Étude des mécanismes réactionnels de protection conférée à l'acier au carbone par le dépôt d'hématite par des essais électrochimiques, en solution bactérienne corrosive.

# ***Références bibliographiques***

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



**Abdollahi, I., Wimpenny, J.W.T.** Effet of oxygen on the growth of *Desulfovibrio desulfuricans*. J. gen. Microbial, 136(1990)1025-1030.

**Albrecht, R.M., Bauer, J., Crone, A., Lizhen, T., Wendy, C.** Biocompatibility Improvement of Ni Ti with a functionally Graded Surface. Society for Experimental Mechanics. Annual Conference Proceedings, Milwaukee, WI, 2002

**Allen, J., Bard, T., Larry, R., Faulkner, P.** Electrochimie: Principes, méthodes et application. ed. Masson, Paris, 1983

**Andrew, O., Hector, F.C., Norris, H.W.** Phylogeny of sulphate reducing bacteria. FEMS Microbiology Ecology, 31(2000)1-9.

**Angel, P., Urbanic, K.** Sulphate reducing bacteria activity as a parameter to predict localized corrosion of stainless alloys. Corrosion Science, 42(2000)897-912.

**API RP 38** Recommended Practice for Biological Analysis of Subsurface Injection Waters, 4<sup>th</sup> Edition, Washington, DC: American Petroleum Institute, 1990

**ASM HANDBOOK** Formerly Ninth Edition, Metals Handbook. Metallography and Microstructures. Vol 9. ed ASM INTERNATIONAL, Ohio, 1985

**ASTM G 78-89** Standard Guide for Crevice Corrosion Testing of Iron–Base Stainless Alloys in Seawater and Other Chloride-Containing Aqueous Environments. Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Vol 03.02, 1989

**ASTM G 48-92** Standard Test Methods for Pitting and Crevice Corrosion Resistance of Stainless Steels and Related Alloys by Use of Ferric Chloride Solution. Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Vol 03.02, 1992

**ASTM G31-72 (Reapproved 1999)** Standard Recommended Practice for Laboratory Immersion Corrosion Testing of Metals, Annual Book of ASTM Standards. American Society for testing and materials, Philadelphia, Vol 03.02, 1999

**ASTM G 46-94 (Reapproved 1999)** Standard Guide for Examination and Evaluation of Pitting Corrosion. Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Vol 03.02, 1999

**ASTM D3370–95a (Reapproved 2003)** Standard Practice for Sampling Water from Closed Conduits. Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Vol 03.02, 2003

## Références bibliographiques

---

**ASTM G 1-03**, Standard Recommended Practice for Preparing, Cleaning and evaluating Corrosion Test Specimens, Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Vol.03.02, 2003

**Audisio, S., Caillet, M., Galerie, A., Mazille, H.** Revêtements et traitement de surface « Fonctionnalités, durabilité, procédés », Ecole thématique du CNRS. Presses polytechniques et universitaires Romandes, Lausanne, 1999 519-538

**Baker, N.P., Butt, D.P., Lillard, R.S., Nastasi, M., Walter.** Advances in PSII Deposited Diamond – Like Carbon Coatings for Use as a Corrosion Barrier. Surface Modification Technologies XII.ASM International Park, Ohio, 1998

**Baoyin, T., Bo, J., Hongxi, L., Langping, W., Xiaofeng, W.** Fatigue life and mechanical behaviors of bearing steel by nitrogen plasma immersion ion implantation. Surface and Coating Technology, 201(2007)5273-5277.

**Bastin, E. S.** The problem of the natural reduction of sulphates, Bull. Am. Assoc. Petrol. Geol, 10(1926)1270-1299.

**Beech, I. B.** La corrosion bactérienne. Biofutur, 186(1999)36-41.

**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.

**Beech, I.B., Sunner, J.** Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals, Current Opinion in Biotechnology, 15(2004)181-186.

**Beijerinck, M.W.** Uber Spirillum desulfuricans als Ursache von Sulfate-reduktion. Zentralbl.Bacteriol. Parasitenkd.Infektionskr.Hyg.Abt.IOrig, 1(1895)1-9; 49-59; 104-114.

**Bell, G.R., Le Gall, J.** The catalase of sulfate reducing obligate anaerobe *Desulfovibrio*. Bacteriol. Proc., ASM Meeting, Minneapolis, USA, 1971 263

**Benarioua, Y., Chicot, D., Lesage, J.** Caractérisation physique et mécanique de l'acier 4140 nitruré et implanté. Journal de Physique. IV France, 124(2005)195-199.

**Bethencourt, M., Botana, F.J., Cano, M.J.,Corzo, A., Garcia de Lomas, J., Fardeau, M.L., Miranda, E., Ollivier, B., Sanchez-Amaya, J.M.** Biocorrosion of carbon steel alloys by an hydrogenotrophic sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio capillatus* isolated from a Mexican oil field separator. Corrosion Science, 48(2006)2417-2431.

**Béranger, G., Mazille, H.** Corrosion et Anticorrosion ; pratique industrielle, Hermès, Traité MIM, ISBN. ed Lavoisier, Paris, 2002 34-53

**Béranger, G., Mazille, H.** Biodétérioration des matériaux métalliques ou biocorrosion In corrosion des métaux et alliages. Mécanismes et phénomènes. ed Lavoisier, Paris, 2002 385-405

## Références bibliographiques

---

**Béranger, G., Mazille, H.** Les facteurs de la corrosion In Prévention et lutte contre la corrosion, Une approche scientifique et technique. Collection des sciences appliquées de l'INSA de Lyon. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, 2004 19- 44

**Bergey, R.** Bergey's manual of systemetic bacteriology. ed Williams & Wilkins, Baltimore, U.S.A, Volume I, 1984 663-667

**Beerens, H., Romand, C.** Sulfate-reducing anaerobic bacteria in human feces. The American Journal of Clinical Nutrition, 30(1977)1770-1776.

**Booth, M.** Plasma carburising – an alternative case hardening treatment in “Coating and surface treatment for corrosion and wear resistance”. Published for the Institution of Corrosion Science and Technology. ed Ellis Hardwood Limited, England, 1984 151- 163

**Boudaud, N., Carayon, A., Amiel, C., Mariey, L., Trvert, J.** Mise en place d'une bibliothèque de spectres infra rouges de bactéries sulfato-réductrices et thiosulfato-réductrices. Matériaux & Techniques, 93(2005)147-154.

**Buchaman, R.E., Gibbons, N.E.** Bergey's manual of determinative bacteriology. ed. Eighth, U.S.A. 1994 1268

**Burggraf, S., Jannasch, H.W., Nicolaus, B. and Stetter, K.O.** *Archaeoglobus profundus* sp.nov., represents a new species within the sulfate reducing archaeobacteria. Syst. Appl. Microbiol, 13(1990)24-28.

**Cabridenc, R., Gatellier, C., Leclerc, H., Kaiser, P.** Dégradation microbienne des matériaux. Collection, colloque et séminaire, publication de l'association des ingénieurs en anticorrosion. ed Technip, Paris, 1974 203

**CETIM (Centre Technique des Industries Mécaniques :** Groupement pour l'Avancement de la Mécanique Industrielle. Traitement et revêtements de surface pour applications tribologiques. Recueil de conférences (mécanique et procédés), France, 1994 241; 273-299

**Chabrol, C., Lévègue, R.** Application de l'implantation ionique dans le domaine de l'industrie mécanique. Mémoire et études Scientifiques de la revue de Métallurgie, Janvier, Paris, 1988

**Chantereau, J.** La corrosion bactérienne. ed Technique et documentation, Paris, 1980 151-170.

**Combrade, P., Lopez, A., Rabbe, L.M., Rieu, J.** Fretting deterioration of orthopaedic Implant Materials – Search of solutions – Clinical Materials, 15(1994)221-226.

**Comité des techniciens, Commission Exploitation, Sous Commission Corrosion, Groupe “Coupons”.** Recommandations pour la conduite des essais de corrosion. Revue de l'Institut Francais du Pétrole. Publication de la Chambre syndicale de la recherche et de la production du pétrole et du gaz naturel. ed Technip. Paris, 1969



## *Références bibliographiques*

---

**Comité des techniciens, Commission Exploitation, Sous commission production.** Manuel de traitement des eaux d'injection. Publication de la Chambre syndicale de la recherche et de la production du pétrole et du gaz naturel. ed Technip. Paris, 1973

**Corre, Y.** L'implantation ionique améliore les liaisons céramiques métal obtenues par brasage. *Traitement thermique*, 263(1993)35-38.

**Costerton, D.E., Lewandowski, Z., Caldwell, D.E., Korber, D., Lappin-Scott, H.M.**, *Annu. Rev. Microbiol*, 45(1995)711.

**Crolet, J.L., Séraphin, L., Tricot, R.** Aciers inoxydables résistant à la corrosion marine. *Mét. Corr. Ind*, 52(1977)396-405.

**Crolet, J.L.** From biology and corrosion to biocorrosion. *Oceanologica Acta*, 15 N°1(1992)87-94.

**Crolet, J.L., Daumas, S., Magot, M.** pH regulation by sulfate reducing bacteria. *Corrosion (NACE, Houston)*, 303(1993)1-15.

**Crolet, J.L., Magot, M., Brazy, J.L.** Test Kits for thiosulfate Reducing Bacteria. *Corrosion*, 97. Paper N°211(1997).

**Crone, W. C., Dodd, R.A., Tan, L.** Corrosion and wear corrosion behavior of Ni Ti modified by plasma source ion implantation. *Biomaterials*, 24(2003)3931-3939.

**Crum, J.R., Little, B.J.** Growing interest in MIC. *Nuclear Eng. Int.*, 47(1991).

**Cunat, P.J.** Aciers inoxydables. Propriétés. Résistance à la corrosion. *Techniques de l'Ingénieur, traités des matériaux métalliques*, France, M4 541, 2004 1-17

**Davidova, I., Hicks, M. S., Fedorak, P. M., Suflita, J. M.** The influence of nitrate on microbial processes in oil industry production waters, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol*, 27(2001)80-86.

**Demortier, A., Jehoulet, C., Lelieur, J.P., Levillain, E.** 4<sup>ème</sup> Forum sur les Impédances Electrochimiques. Montrouge, 1990 205

**Devereux, R., He S.H., Doyle, C.L., Orkland, S., Stahl, D.A., Le Gall, J., Whitman, W.B.** Diversity and origin of *Desulfovibrio* species: phylogenetic definition of a family. *J. Bacteriol*, 172(1990)3609-3619.

**Dilling, W., Cypionka, H.** Aerobic respiration in sulphate reducing bacteria. *FEMS Microbiol. Lett*, 71(1990)123-128.

**Dolla, A.** La vie sans oxygène. CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique, France, 2005 20

**Eschler, P.Y., Reclaru, L., Blatter, A.** Relargage du nickel et corrosion par piqûres des aciers inoxydables. Influence de la direction de laminage. Journée d'étude 2001. Société Suisse de Chronométrie, Suisse, 2001 11-16

## Références bibliographiques

---

**Feron, D., Thierry, D.** Corrosion bactérienne des métaux. Ecole thématique sur la biodétérioration des matériaux, EDP Science, Cedex, 91(1998)95-96.

**Feugeas, F., Magnin, J.P., Cornet, A., Rameau, J.J.** Corrosion influencée par les micro-organismes : influence du biofilm sur la corrosion des aciers, techniques et résultats récents. J.Phys III France, 7(1997)631-663.

**Flemming, H.C.** Biofilm. Ecole thématique sur la biodétérioration des matériaux, France, 1995 71-80

**Fournier. M., Durand. M.C., Dermoun. Z., Dolla. A.** Anaérobies et stress oxydant : étude chez *Desulfovibrio vulgaris Hildenborough* (DvH) par approche génétique et protéomique. Congrès international de biochimie Marrakech, Maroc, 2004

**François, D.** Essais mécaniques des métaux ; essais de dureté. Techniques de l'Ingénieur, traité Matériaux métalliques. 7, M 123, 1984 1-11

**Gabrielli, C.** 5<sup>ème</sup> Forum sur les Impédances Electrochimiques. Montrouge, 1991

**Gaines, R.H.** Bacterial activity as a corrosion influence in the soil. Ind.Eng.Chem, 2 (1910)128-130.

**Garret, J.H.** The action of water on lead. ed H.K.Lewis, London, 1891

**George, R.P., Marshall, D., Newman, R.C.** Mechanism of a MIC probe. Corrosion science, 45(2003)1999-2015.

**Goutcharoff, N.** Chef d'identification des bactéries hétérotrophes (aérobies ou anaérobies facultatives (sous embranchement Eubacteria). ed Dunod, Paris, 1971 16

**Guy, G., Ross, P.D.** Implantation ionique. INRS- Énergie, matériaux et télécommunication, Laboratoire des Faisceaux d'ions, Université du Québec, Canada, 2004

**Guézennec, J., Féra, PH.** Utilisation de techniques bactériologiques et biochimiques pour l'étude du biofilm bactérien. Institut français du pétrole, France, 1987

**Hamilton W.A.** (1998). Geomicrobiol. J, 15(1983)19-28.

**Hamilton, W. A.** Sulfate-reducing bacteria and the offshore oil industry. Trends in Biotechnology, Vol. 1, No. 2 (1983)36-40.

**Hatchikian, E.C., Le Gall, J., Bell, G.R.** Significance of superoxyde dismutase and catalase activities in the strict anaerobes, sulfate reducing bacteria. In Michelson A.M., McCord J.M. and Fridovich I. (ed.), Superoxide and superoxide dismutase. Academic Press, London, 1977

**Hardy, J.A., Hamilton, W.A.** The oxygen tolerance of sulphate reducing bacteria isolated from north sea waters. Current Microbiology, 6(1981)259-262.

## Références bibliographiques

---

**Haras, D.** Biofilms et altération des matériaux: de l'analyse du phénomène au stratégies de prévention. *Matériaux et technique*, 93(2005)27 – 41.

**Hartley, N.E.W., Swindlehurst, W. E., Dernaley, G. et Turner, J. F.** Changements du frottement dans un acier traité par implantation d'ions. *Journal of Materials Science*, Vol. 8 (1973)900.

**Hartley, N.E.W.** Tribologie des surfaces traitées par implantation d'ions. *Tribology International*, Vol. 8(1975)65-72.

**Haslay, C., Leclerc. H.** Microbiologie des eaux d'alimentation : Mémento technique de l'eau. ed Technique et documentation, Paris, 1993 417-418; 420-421

**Hata, Y., Kadota, H., Miyoshi, H., Kimata, M.** Microbial production of silfides in polluted coastal and estuarine regions. In Pearson E.A. (ed.) *Advances in Water Pollution Research*, 3<sup>rd</sup> Edn. Pergamon Press.Oxford, 1964 287-295

**Henry, E.A. et al.** Characterisation of a new thermophilic sulfate reducing bacterium *Thermodesulfovibrio yellowstonii*, gen. nov. and sp. Nov.: its phylogenetic relationship to *Thermodesulfobacterium commune* and their origins deep within the bacterial domain. *Arch. Microbiol*, 16(1994)62-69.

**Hirvonen, J.K.** Implantation d'ions en tribologie en science de la corrosion. *Journal Vacuum Science and Technology*, Vol.15, N°5 (1978)1 662-1668.

**Ion Beam Processing (IBP) Technologies.** Final report Prepared for the North American Technology and Industrial Base Organization (NATIBO) Prepared by BDM Federal, Inc, USA, 1996

**Ion Beam Services (IBS).** (Page consultée le 12.09.2006). Applications de l'implantation ionique pour le biomédical. Site de IBS, [en ligne] Adresse URL : [frank.torregrosa@ion-beam-services.fr](mailto:frank.torregrosa@ion-beam-services.fr), 2004

**Iverson, W.P.** Biological corrosion. In « *Advances in corrosion science and technology* » (M.G.Fontana, R.W.Staehle, eds.) Plenum Press, London, Great Britain, 1972 2

**Iwaki, M., Fujihana, T. et Okitaka, K.** Propriétés mécaniques et électrochimiques de divers aciers à outils traités par implantation d'ions azote ou NO. *Materials Science& Engineering*, Vol. 69(1985)211-217.

**Keresztes, ZS., Telegdi, J., Beczner, J., Kalman, E.** The influence of biocide on microbiologically influenced corrosion of mild steel and brass. *Electrochimica Acta*. Vol. 43, Nos. 1-2 (1997)77-85.

**Kobrin, G.** A Practice Manual on Microbiologically Influced Corrosion. NACE, Houston, TX, 1993

## *Références bibliographiques*

---

**Labat, C.** Les micro-organismes et le cycle du soufre. Université de la méditerranée/ Aix- Marseille II, 2004

**Landolt, D.** Corrosion et chimie de surface des métaux, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, 1993

**Larpent, J. P.** Manuel pratique de microbiologie. ed. Herman, Paris, 1985 44-50

**Larpent, J.P., Gourgaud, M.L.** Mémento technique de microbiologie : cellule bactérienne, métabolisme, systématique, bactéries utiles, milieux de culture et réactifs. ed Tec et Doc Lavoisier, Paris, 1975 23

**Leclerc, H.** « Echangeurs de chaleur et corrosions biologiques » in « Dégradation microbienne des matériaux », collection colloques et séminaires, publication de l'association des ingénieurs en anticorrosion. ed Technip, Paris, 1974

**Leclerc, J.P., Meyer, A., Deiana, J.** Cours de microbiologie générale. ed Doin Editeurs, Paris, 1984

**Leclerc, J.P., Mossel, D.A.A.** Microbiologie de tube digestif, l'eau et les aliments. ed Doin Editeurs, Paris, 1989 117-120; 350-354

**Leclerc, H., Gaillard, J.I., Simonet, M.** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Ed Doin, Paris, 1995

**Le Gall, J.** Purification partielle et étude de la NAD : rubredoxine oxydoréductase de *D.gigas*. Ann. Inst. Pasteur, 114(1968)109-115.

**Le Gall, J., Xavier, A.** Anaerobes Response to Oxygen: The Sulfate Reducing Bacteria. Anaerobe, 2(1996)1-9.

**Lei, M.K., Zhu, X.M.** Plasma based low energy ion implantation of austenitic stainless steel for improvement in wear and corrosion resistance. Surface and Coating Technology, 193(2005)22-28.

**Lin, Y.S., Chang, C.H., Huang, T.J.** Enhanced corrosion protection of cold rolled steel by low temperature plasma cleaning and plasma polymerization. Surface & Coating Technology, 200(2006)4929-4938.

**Lovley, D.R., Roden, E.E., Phillips, E.J.P., Woodward, J.C.** Enzymatic iron and uranium reduction by sulphate reducing bacteria. Mar. Geol, 1993 41-53; 113

**Madilyn, F.** Bacterial biofilms and biofouling. Current Opinion in Biotechnology, 5(1994)302-306.

**Magot, M., Conan, J., Caumette, P., Hurtevent, C., Crolet, J.L.** "Identification of sulphate reducing bacteria from production water of various oil fields" in the Understanding and Prevention of Corrosion (J.M. Costa and A.M. Mercer eds., The Institute of Materials, London), 1993 576-580

## *Références bibliographiques*

---

**Magot, M., Ctardy-Jacquenod., Crolet, J.L.** In: Microbially induced corrosion, European Federation of Corrosion, Pub. 22. The Institute of Materials, London, 1997 3-9

**Magot, M.** La corrosion de l'acier par les bactéries sulfurogènes. Bull. Soc. Fr.microbiol.14. (4)(1999)272-278.

**Magot, M., Ollivier, B., Patel, B. K. C.** Microbiology of petroleum reservoirs, Antoni Van Leeuwenhoek, 77(2000)103-116.

**Marchal, N.** Initiation à la microbiologie. ed Dunod, Paris, 1992 101

**Marchal, R.** Rôle des bactéries sulfurogènes dans la corrosion du fer. Oil & Gas Science and Technology-Rev.IFP, Vol.54, N°(1999).

**Marchal, R., Chaussepied, B., Warzywoda, M.** Effect of ferrous ion availability on growth of a corroding sulfate-reducing bacterium. International Biodeterioration & Biodegradation, Vol. 47(2001)125-131.

**Mc Neil, M.B., Little, B.J.** Mackinawite formation during microbial corrosion. Corrosion, 46(1990)599-600.

**Mellor, J.** Characterisation of thiosulfate reducing bacteria microbiology research group, University of Portsmouth. U.K, 2000 12

**NACE Standard TG 237-2005** Detection, Testing and Evaluation of Microbiologically Influenced Corrosion (MIC) on External Surfaces of Buried Pipelines, (Houston, TX: NACE international) 2005

**NACE Standard TM 0194** Field Monitoring of Bacterial Growth in Oilfield Systems (Houston, TX: NACE international) 1994

**Nelly, M.** Initiation à la microbiologie. Nouvelle édition, ed Dunod, Paris, 1992 78, 86

**Neveux, M., Bernard, R., Gatellier, C., Coutris, R., Dautheville, A., Descroix, P., Franquin, J., Girard, R., Jungblut, C., Legrand, R., Morlet, J., Noisette, G., Poirier, G., Renaudon, A.** La corrosion des conduites d'eau et de gaz, causes et remèdes. Travaux de la commission française d'étude de la corrosion des conduites. ed Eyrolles, Paris, 1968 185-201; 215-220

**Noel, D.** Etude de cas de corrosion bactérienne dans les industries nucléaires. Colloque de Saint – Avid- de- Vialard, 30 septembre-6 octobre, 1995

**Normand, B., Pébère, N., Richard, C., Wery, M.** Biodétérioration des matériaux. In Prévention et lutte contre la corrosion, Une approche scientifique et technique. Collection des sciences appliquées de l'INSA de Lyon. Presses polytechniques et universitaires Romandes, Lausanne, 2004 703-717

**Novozhilova, M.I., Berezina, F.S.** Character of the distribution of sulfate reducing and sulfur bacteria in the sediments of lake Balkhash. Mikrobiologiya, 37(1968)534-539.



## *Références bibliographiques*

---

**Ollivier, B.** Deux nouvelles bactéries isolées de puits de pétrole. In Microbiologie des environnements extrêmes. Université de Provence- CESB/ESIL, Marseille, Fiche 210, 2004

**Ollivier, B., Cord-Ruwisch, R., Hatchikian, E.C., Garcia, J.L.** Characterization of *Desulfovibrio fructosovorans* sp.nov. Archives of Microbiology, 149(1988)447-450.

**Onate, J. I., Dennis, J.K., Hamilton, S.** Implantation d'azote dans les aciers à outils. Traitement thermique, 227(1989)41-47.

**Orlowski, P.** Comment vaincre la corrosion métallique. ed Eyrolles, Paris, 1973 2-27; 68-95

**Peck, H.D., Jr.** Phosphorylation coupled with electron transfer in extracts of the sulfate reducing bacterium. *Desulfovibrio gigas*. Biochem. Biophys. Res. Comm, 22(1966)112-118.

**Pelment, J.** Bactéries de l'environnement, adaptation physiologique. ed. presse. Universitaire de Grenoble, France, 1993 633-668

**Peyrot, J.** Biocorrosion dans l'industrie pétrolière. Identification de quelques cas. Matériaux et Techniques, (1990)34-36.

**Pfenning, N., Widdel, F., Tryper, M.G.** Isolation and identification of bacteria. A handbook on habitats, Vol 2, Prokaryote, ed. by spinger verloy Berlin, Heidelberg, 1981 926-940

**Prescott, M., Hasley, J.P., Klein, D.A.** Biologie. 2<sup>ème</sup> ed. Boeck Université, Paris, 2003 493-1015

**Pichat, A., Rieu, J., Chabrol, C., Lévêque, R., Rambert, A. et Bousquet, G.** Effet d'un traitement de surface par implantation ionique sur les matériaux pour prothèses osseuses. Innovation Technologiques Biologiques et Médicales, France, Vol. 9, N° 5(1988)513-524.

**Postgate, J.R.** A diagnostic reaction of *Desulfovibrio desulphuricans*. Nature, 183(1959)481-482.

**Postgate, J. R.** Economic activities of sulphate reducing bacteria. Prog. Industr. Microbiol, 2(1960)47-69.

**Postgate, J. R.** The sulfate reducing bacteria, 2<sup>nd</sup> Edn. P. 208 Cambridge University Press, Cambridge, 1984

**Potekhina, J.S., Sherisheva, N.G., Povethina.L.P., Pospelov, A.P., Rakitina, T.A., Warnecke, F., Gottschalk, G.** Role of microorganisms in corrosion inhibition of metals in aquatic habitats. Appl Microbiol Biotechnol, 52(1999)639-646.

**Rainha, V.L., Fonseca, I.T.E.** Kinetic studies on the SRB influenced corrosion of steel: a first approach. Corrosion Science, Vol. 39, N° 4 (1997)807-813.

## Références bibliographiques

---

**Ravot, G., Magot, M., Fardeau, M.L., Patel, B.K.C., Thomas, P., Garcia, J.L., Ollivier, B.** *Fusibacter paucivorans* gen.nov., sp.nov., an anaerobic, thiosulfate-reducing bacterium from an oil-producing well. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49(1999)1141-1147.

**Rodier, J.** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer (chimie, physico-chimie, microbiologie, biologie, interpretation des résultats). ed Dunod, Paris, 2005

**Ross, H.N., Collins, M.D., Tindall, B.J., Grant, W. D.** A rapid procedure for the detection of Archaeobacterial lipids in halophilic bacteria. *Journal of general Microbiology*, 123(1981)75-80.

**Sarioglu, F., Javaherdashti, R., Aksoz, N.** Corrosion of drilling pipe steel in an environment containing sulphate-reducing bacteria. *Int. J. Pres. Ves. & Piping*, 73(1997)127-131.

**Sarrazin, P., Galerie, A., Fouletier, J.** Les mécanismes de la corrosion sèche « Une approche cinétique ». Monographie de Matérialogie 5. ed EDP Sciences, Cedex, 2000 237

**Schmidt, R.** Comportement des matériaux dans les milieux biologiques « Applications en médecine et biotechnologie ». *Traité des matériaux*, Presses polytechniques et universitaires Romandes, Lausanne, 1999 131-135

**Sebald, M., Petit, J.C.** Méthodes de laboratoire : bactéries anaérobies et leur identification, 2<sup>ème</sup> édition. ed Institut Pasteur, Cedex, France, 1997 16; 24.

**Shioshansi, P.** Surface modification of industrial components by Ion Implantation. *Nuclear Instr. Meth. In Physical Research*, B 37-38(1989)667-671.

**Siebert, E., Caneiro, A., Fabry, P., Levy, J.** 3<sup>ème</sup> Forum sur les Impédances Electrochimiques, Montrouge, 1988

**Sikilli, A.A.** Contribution à l'étude des mécanismes d'interférences chimiques dans un plasma HF d'analyse. Thèse de Doctorat en Chimie et Physiologie de la matière, Institut National des Sciences Appliquées et l'Université Claude Bernard- Lyon I, (1991).

**Singleton, P** *Bactériologie*. 4<sup>ème</sup> édition. ed Dunod-Paris, 1996 85-87

**Stackebrandt, E., Sproer, C., Rainey, F.A., Burghardt, J., Pauker, O., Hippe, H.** Phylogenetic analysis of the genus *Desulfotomaculum*: evidence for the misclassification of *Desulfotomaculum guttoideum* and description of *Desulfotomaculum orientis* as *Desulfosporosinus orientis* gen. nov., comb.nov..*Int. J. Syst. Bacteriol*, 47(1997)1134-1139.

**Stetter, K.O.** *Archaeoglobus fulgidus* gen.nov., sp.nov. a new taxon of extremely thermophilic archaeobacteria. *Syst. Appl. Microbial*, 10(1988)172-173.

## *Références bibliographiques*

---

**Swofford, D.L.** PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Version 4.01b., Sinauer, Sunderland, MA, 1999

**Tafel, J., Physik, Z.** Chem, 50(1905)6661.

**Tan, L., Dodd, R.A., Crone, W.C.** Corrosion and wear –corrosion behaviour of NiTi modified by plasma source ion implantation. Biomaterials, 24(2003)3931-3939.

**Tebo, B.M., Obratsova, A.Y.** Sulfate reducing bacterium grows with Cr(VI), U(VI), Mn(IV) And Fe(III) as electron acceptors. FEMS Microbiol. Lett, 162(1998)193-198.

**Tomasini, L.** Les traitements de surface sous vide. La revue de métallurgie, 2001 411-419

**Torregrosa, F.** Application de l'implantation ionique pour le biomédical. IBS (Ion Beam Services), U.K, 2004

**Tortora, G.J., Funk, B.R., Case, C.L.** Introduction à la microbiologie. ed du renouveau pédagogique INC, France, 2003 57-68; 155-158; 174-176; 182; 831- 836

**Tousset, J.** L'implantation ionique. Traitement Thermique, 231(1989)11-16.

**Uhlig, H.** Corrosion Handbook, wiley, New York, 1948

**Uhlig, H.** Corrosion et Protection. ed Dunod, Paris, 1970 1-17

**Videla, H.A.** Prevention and control of biocorrosion. International Biodeterioration & Biodegradation, 49(2002)259-270.

**Videl, H.A.** In : A Pratical manual of microbiologically influenced corrosion, ed.G. kobrin. NACE International, Houston, Texas, 1993 125-134

**Von Wolzogen Kuhr, C.A.H.** Water and Gas, 7(1923)297.

**Von Wolzogen Kuhr, C.A.H & Van Der Vlugt I.S.** The graphitization of cast irons as an electrochemical process in anaerobic soils. Water, 18(1934)134-147.

**Wagner, M.A., Roger, J., Flax, J.L., Brusseau, G.A., Stahl, D.A.** Phylogeny of dissimilatory sulfide reductases supports an early origin of sulfate respiration. J. Bacterial, 180(1998)2975-2982.

**Widdel, F.** Microbiology and ecology of sulphate and sulphur reducing bacteria. In: Zehnder A (ed) Biology of anaerobic microorganismes. Wiley, New York, 1988 469-585

**Widdel, F.** The genus Thermodesulfobacterium. In: The Prokaryotes (Balows, A., Truper, H.G., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K.H., Eds.). S pringer-Verlag, New York, 1992 3390-3392

**Woese, C.R.** The must be prokaryote somewhere: Microbiology's search for it self. Microbiological reviews, March 1994. American of microbiology, U.S.A, 1994 1-9

## *Références bibliographiques*

---

**Woese, C.R., Achenbach, L., Rouviere, P., Mandelco, L.** Archaeal phylogeny: re-examination of the phylogenetic position of *Archaeoglobus fulgidus* in light of certain composition induced artefacts. *Syst. Appl. Microbiol*, 14(1991)364-371.

**Zeikus, J.G., Dawson, M.A., Thompson, T.E., Ingvorsen, K., Hatchikian, E.C.** Microbial ecology of volcanic sulphidogenesis: isolation and characterisation of *Thermodesulfobacterium commune* gen. nov. and sp. Nov.. *J. Gen. Microbiol*, 129 (1983)1159-1169.

**Zinkevich, V., Bogdarina, I., Kang, H., Hill, M.A.W., Tapper, R., Beech, I.B.** Characterisation of Exopolymers Produced by Different Isolates of Marine Sulphate reducing Bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*, (1996) 163-172.

# ***Annexes***



## ANNEXE N°1. Classification des BSR (Garrity et al., 2001 ; Garcia et al., 2000)

Domaine *Archaea*

Phylum *Euryarchaeota*

Classe *Archaeoglobi*

Ordre *Archeoglobales*

Famille *Archaeoglobaceae*

Genre *Archaeoglobus*

espèce *Archaeoglobus fulgidus*

*Archaeoglobus lithotrophicus*

*Archaeoglobus profundus*

Domaine *Bacteria*

Phylum *Thermodesulfobacteria*

Classe *Thermodesulfobacteria*

Ordre *Thermodesulfobacteriales*

Famille *Thermodesulfobacteriaceae* (*Thermodesulfatibacteriaceae*)

Genre *Thermodesulfobacterium* (*Thermodesulfatibacterium*)

espèce *Thermodesulfobacterium commune*

*Thermodesulfobacterium hveragerdicum*

*Thermodesulfobacterium hydrogenophilum*

*Thermodesulfobacterium islandicus*

*Thermodesulfobacterium mobile*

Phylum *Nitrospirae*

Classe *Nitrospira*

Ordre *Nitrospirales*

Famille *Nitrospiraceae*

× Genre *Thermodesulfovibrio* (*Thermodesulfurivibrio*)

espèce *Thermodesulfovibrio yellowstonii*

Phylum *Proteobacteria*

Classe *Deltaproteobacteria*

Ordre *Desulfovibrionales*

Famille *Desulfovibrionaceae* (*Desulfurivibrionaceae*)

Genre *Desulfovibrio* (*Desulfurivibrio*)

espèce *Desulfovibrio acrylicus*

*Desulfovibrio aespoeensis*

*Desulfovibrio aestuarii*  
*Desulfovibrio africanus*  
*Desulfovibrio alaskensis*  
*Desulfovibrio alcoholivorans*  
*Desulfovibrio aminophilus*  
*Desulfovibrio bastinii*  
*Desulfovibrio burkinensis*  
*Desulfovibrio caledonensis*  
*Desulfovibrio carbinolicus*  
*Desulfovibrio cuneatus*  
*Desulfovibrio dechloracetivorans*  
*Desulfovibrio desulfuricans*  
*Desulfovibrio fairfieldensis*  
*Desulfovibrio fructosivorans*  
*Desulfovibrio furfuralis*  
*Desulfovibrio gabonensis*  
*Desulfovibrio giganteus*  
*Desulfovibrio gigas*  
*Desulfovibrio gracilis*  
*Desulfovibrio halophilus*  
*Desulfovibrio indonesiensis*  
*Desulfovibrio inopinatus*  
*Desulfovibrio intestinalis*  
*Desulfovibrio litoralis*  
*Desulfovibrio longreachensis*  
*Desulfovibrio longus*  
*Desulfovibrio magneticus*  
*Desulfovibrio mexicanus*  
*Desulfovibrio multispirans*  
*Desulfovibrio oxycliniae*  
*Desulfovibrio piger*  
*Desulfovibrio profundus*  
*Desulfovibrio salexigens*  
*Desulfovibrio senezii*  
*Desulfovibrio simplex*  
*Desulfovibrio sulfodismutans (sulfuridismutans)*  
*Desulfovibrio termitidis*  
*Desulfovibrio vietnamensis*  
*Desulfovibrio vulgaris* sub. sp. *oxamicus*  
*Desulfovibrio vulgaris* sub. sp. *vulgaris*  
*Desulfovibrio zosterae*

Famille *Desulfomicrobiaceae* (*Desulfatimicrobiaceae*)

Genre *Desulfomicrobium* (*Desulfatimicrobium*)

espèce *Desulfomicrobium apsheronum*  
*Desulfomicrobium baculatum*  
*Desulfomicrobium escambiense*  
*Desulfomicrobium hypogeiium*  
*Desulfomicrobium norvegicum*  
*Desulfomicrobium orale*

Famille ***Desulfohalobiaceae*** (***Desulfatihalobiaceae***)

× Genre ***Desulfohalobium*** (***Desulfatihalobium***)

espèce *Desulfohalobium retbaense* (*retbense*)

√ Genre ***Desulfonatronovibrio*** (***Desulfatinatronovibrio***)

espèce *Desulfonatronovibrio hydrogenovorans* (*hydrogenivorans*)

Famille ***Desulfonatronumaceae***

× Genre ***Desulfonatronum lacustre***

espèce *Desulfonatronum lacustre*

Ordre ***Desulfobacterales***

Famille ***Desulfobacteraceae*** (***Desulfatibacteraceae***)

Genre ***Desulfobacter*** (***Desulfatibacter***)

espèce *Desulfobacter curvatus*

*Desulfobacter halotolerans*

*Desulfobacter hydrogenophilus* (*hydrogeniphilus*)

*Desulfobacter latus*

*Desulfobacter postgatei*

*Desulfobacter vibrioformis* (*vibrioniformis*)

Genre ***Desulfobacterium*** (***Desulfatibacterium***)

espèce *Desulfobacterium anilini*

*Desulfobacterium autotrophicum*

*Desulfobacterium catecholicum*

*Desulfobacterium cetonicum*

*Desulfobacterium indolicum*

*Desulfobacterium macestii*

*Desulfobacterium niacini*

*Desulfobacterium oleovorans*

*Desulfobacterium vacuolatum*

× Genre ***Desulfobacula*** (***Desulfatibacula***)

espèce *Desulfobacula phenolica*

Genre ***Desulfobulbus*** (***Desulfatibulbus***)

espèce *Desulfobulbus elongatus*

*Desulfobulbus marinus*

*Desulfobulbus propionicus*

*Desulfobulbus rhabdoformis*

Genre ***Desulfocapsa*** (***Desulfaticapsa***)

espèce *Desulfocapsa sulfexigens*

*Desulfocapsa thiozymogenes*

Genre ***Desulfofustis*** (***Desulfatifustis***)

espèce *Desulfofustis glycolicus*

Genre ***Desulforhopalus*** (***Desulfatirhopalus***)

espèce *Desulforhopalus singaporensis*

*Desulforhopalus vacuolatus*

Famille ***Desulfoarcuaceae***

Genre ***Desulfoarculus*** (***Desulfatarculus***)

espèce *Desulfoarculus baarsii*

Genre ***Desulfobacca*** (***Desulfatabacca***)

espèce *Desulfobacca acetoxidans*

Genre ***Desulfomonile*** (***Desulfatimonile***)

espèce *Desulfomonile limimaris*

*Desulfomonile tiedjei*

Ordre ***Syntrophobacterales***

Famille ***Syntrophobacteraceae***

Genre ***Desulfacinum*** (***Desulfatacinum***)

espèce *Desulfacinum hydrothermale*

*Desulfacinum infernum*

Genre ***Desulforhabdus*** (***Desulfatirhabdus***)

espèce *Desulforhabdus amnigena*

Genre ***Desulfovirga***

espèce *Desulfovirga adipica*

Genre ***Thermodesulforhabdus*** (***Thermodesulfatirhabdus***)

espèce *Thermodesulforhabdus norvegica*



espèce *Desulfomicrobium apsheronum*  
*Desulfomicrobium baculatum*  
*Desulfomicrobium escambiense*  
*Desulfomicrobium hypogeium*  
*Desulfomicrobium norvegicum*  
*Desulfomicrobium orale*

Famille ***Desulfohalobiaceae*** (*Desulfatihalobiaceae*)

✧ Genre ***Desulfohalobium*** (*Desulfatihalobium*)  
espèce *Desulfohalobium retbaense* (*retbense*)

✧ Genre ***Desulfonatronovibrio*** (*Desulfatinatronovibrio*)  
espèce *Desulfonatronovibrio hydrogenovorans* (*hydrogenivorans*)

Famille ***Desulfonatronumaceae***

✧ Genre ***Desulfonatronum*** *lacustre*  
espèce *Desulfonatronum lacustre*

Ordre ***Desulfobacterales***

Famille ***Desulfobacteraceae*** (*Desulfatibacteraceae*)

Genre ***Desulfobacter*** (*Desulfatibacter*)  
espèce *Desulfobacter curvatus*  
*Desulfobacter halotolerans*  
*Desulfobacter hydrogenophilus* (*hydrogeniphilus*)  
*Desulfobacter latus*  
*Desulfobacter postgatei*  
*Desulfobacter vibrioformis* (*vibrioniformis*)

Genre ***Desulfobacterium*** (*Desulfatibacterium*)  
espèce *Desulfobacterium anilini*  
*Desulfobacterium autotrophicum*  
*Desulfobacterium catecholicum*  
*Desulfobacterium cetonicum*  
*Desulfobacterium indolicum*  
*Desulfobacterium macestii*  
*Desulfobacterium niacini*  
*Desulfobacterium oleovorans*  
*Desulfobacterium vacuolatum*

✧ Genre ***Desulfobacula*** (*Desulfatibacula*)  
espèce *Desulfobacula phenolica*



Phylum *Firmicutes*

Classe *Clostridia*

Ordre *Clostridiales*

Famille *Peptococcaceae*

Genre *Desulfosporosinus* (*Desulfurisporosinus*)

espèce *Desulfosporosinus meridiei*

*Desulfosporosinus orientis*

Genre *Desulfotomaculum* (*Desulfuritomaculum*)

espèce *Desulfotomaculum acetoxidans*

*Desulfotomaculum aeronauticum*

*Desulfotomaculum alkaliphilum*

*Desulfotomaculum auripigmentum*

*Desulfotomaculum australicum*

*Desulfotomaculum antarcticum*

*Desulfotomaculum geothermicum*

*Desulfotomaculum gibsoniae*

• *Desulfotomaculum guttoideum*

*Desulfotomaculum halophilum*

*Desulfotomaculum kuznetsovii*

*Desulfotomaculum luciae* (*luciense*)

*Desulfotomaculum nigrificans* subsp. *nigrificans*

*Desulfotomaculum nigrificans* subsp. *salinus*

*Desulfotomaculum putei*

*Desulfotomaculum ruminis*

*Desulfotomaculum sapomandens*

*Desulfotomaculum thermoacetoxidans* (*thermacetoxidans*)

*Desulfotomaculum thermobenzoicum* ssp *thermobenzoicum*

*Desulfotomaculum thermobenzoicum* ssp *thermosyntrophicum*

*Desulfotomaculum thermocisternum*

*Desulfotomaculum thermosapovorans* (*thermosaponivorans*)

Genre *Thermacetogenium*

espèce *Thermacetogenium phaeum*

Genera incertae sedis

Genre *Desulfomusa*

espèce *Desulfomusa hansenii*

*Desulfobacula toluolica*

Genre ***Desulfobotulus*** (*Desulfatibotulus*)  
espèce *Desulfobotulus sapovorans* (*saponivorans*)

Genre ***Desulfocella*** (*Desulfuricella* / *Desulfaticella*)  
espèce *Desulfocella halophila*

Genre ***Desulfococcus*** (*Desulfaticoccus*)  
espèce *Desulfococcus biacutus*  
*Desulfococcus multivorans*

Genre ***Desulfofaba***  
espèce *Desulfofaba gelida*

Genre ***Desulfofrigus***  
espèce *Desulfofrigus fragile*  
*Desulfofrigus oceanense*

Genre ***Desulfomusa*** (*Desulfatimusa*)  
espèce *Desulfomusa hansenii*

Genre ***Desulfonema*** (*Desulfatinema*)  
espèce *Desulfonema ishimotonii*  
*Desulfonema limicola*  
*Desulfonema magnum*

Genre ***Desulforegula***  
espèce *Desulforegula conservatrix*

Genre ***Desulfosarcina*** (*Desulfatisarcina*)  
espèce *Desulfosarcina variabilis*

Genre ***Desulfospira*** (*Desulfatispira*)  
espèce *Desulfospira joergensenii*

Genre ***Desulfotalea***  
espèce *Desulfotalea arctica*  
*Desulfotalea psychrophila*

Genre ***Desulfotignum***  
espèce *Desulfotignum balticum*

Famille ***Desulfobulbaceae*** (*Desulfatibulbaceae*)

Genre *Desulfofrigus*

espèce *Desulfofrigus fragile*

*Desulfofrigus oceanense*

Genre *Desulfomusa (Desulfatimusa)*

espèce *Desulfomusa hansenii*

Genre *Desulfonema (Desulfatinema)*

espèce *Desulfonema ishimotonii*

*Desulfonema limicola*

*Desulfonema magnum*

## ANNEXE N°2. Description des méthodes d'analyse utilisées

### 2.1. Microscopie métallographique

Le microscope métallographique, du fait de ses grossissements élevés et de sa faible profondeur de champ nécessite des surfaces planes. Le grossissement adopté pour ce type d'examen est généralement compris entre 100X et 200X.

- Principe

Un microscope métallographique est un microscope optique qui permet de grossir l'image d'un objet de petites dimensions et de séparer les détails de cette image afin qu'il soit observable à l'œil nu. Il est constitué d'un objectif et d'un oculaire, formés chacun par plusieurs lentilles afin de réduire les aberrations géométriques et chromatiques que présentent toujours les lentilles uniques. L'objectif est assimilable à une lentille convergente de courte distance focale. L'objet à examiner est placé assez près de l'objectif. L'oculaire est également convergent mais de focale plus grande.

C'est un microscope inversé en ce sens que la préparation est éclairée par-dessus (la pièce est déposée au dessus de l'objectif). Ceci est rendu nécessaire par l'opacité des préparations qui sont rarement en couche mince, c'est là la principale différence avec la microscopie classique.

La préparation réfléchit les rayons lumineux qui proviennent de l'objectif ; pour cela la préparation doit présenter une surface polie, une surface miroir, ainsi les rayons réfléchis traversent une seconde fois l'objectif en sens inverse pour parvenir à l'oculaire. L'objectif joue ici un double rôle ; celui de condenseur et d'objectif.

La préparation réfléchit les rayons lumineux qui proviennent de l'objectif ; pour cela la préparation doit présenter une surface polie, une surface miroir, ainsi les rayons réfléchis traversent une seconde fois l'objectif en sens inverse pour parvenir à l'oculaire. On voit donc que l'objectif joue ici un double rôle ; celui de condenseur et d'objectif. Pour une observation il faut prélever un échantillon plan et le polir soigneusement. Le microscope métallographique, du fait de ses grossissements élevés (jusqu'à 1000 fois) et de sa faible profondeur de champ nécessite des surfaces planes.

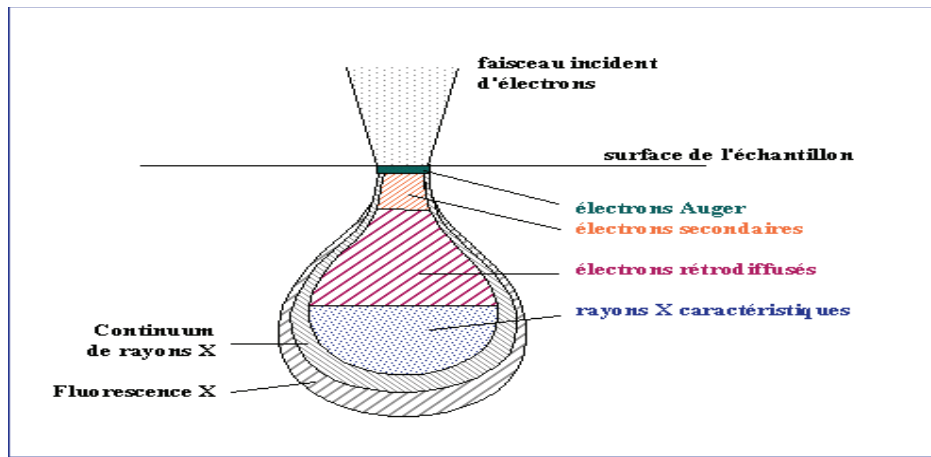
Citons quelques applications :

- étudier la structure et la composition d'un alliage ;
- observer la pénétration de la corrosion ;
- observer les altérations causées aux métaux par les solutions acides ;
- déceler les fausses patines sur les objets d'art.

### 2.2. Microscopie électronique à balayage (MEB) et microanalyse EDS

- Principe

Le fonctionnement d'un MEB est basé sur l'émission d'un faisceau très fin d'électrons, monocinétique, produit par une cathode et la détection des signaux provenant de l'interaction des électrons avec la surface de l'échantillon. La surface est irradiée par les électrons qui y pénètrent profondément et affectent un volume appelé « poire d'interaction » (voir figure suivante).

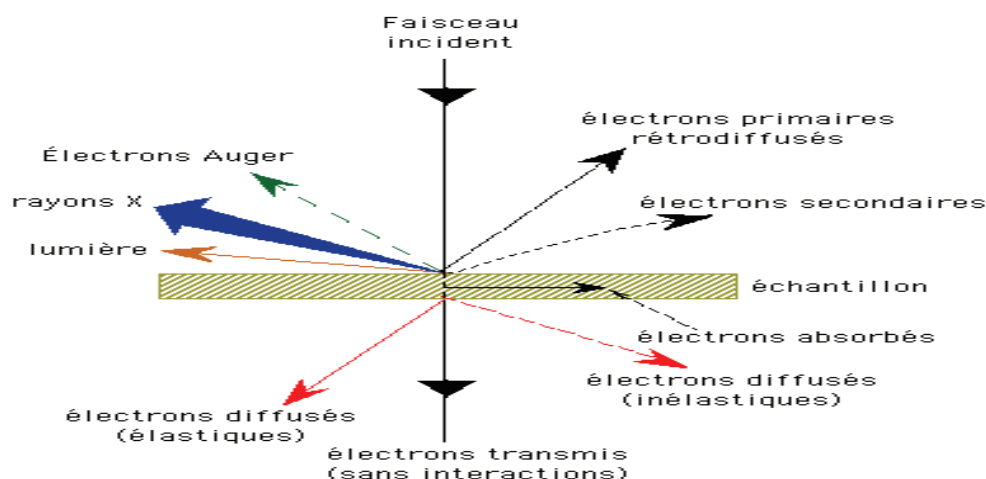


**Fig.** Schématisation des interactions à l'intérieur d'une poire de diffusion (d'interaction).

Le volume de la poire de diffusion dépend du numéro atomique moyen de l'échantillon et de l'énergie des électrons incidents. Dans ce volume d'interaction, les électrons du faisceau vont perdre leur énergie par collisions multiples avec les atomes du matériau générant ainsi de nombreux phénomènes secondaires (voir figure suivante):

- réémission d'électrons et de photons.
- Absorption d'électrons.
- Courants induits.
- Potentiels électriques.
- Elévation de température locale.
- Vibration du réseau.

Ces radiations sont détectées par un capteur qui contrôle la brillance d'un oscilloscope cathodique dont le balayage est synchronisé avec celui du faisceau d'électrons. Les trois catégories d'électrons réémis par l'échantillon sont : les électrons secondaires, les électrons rétro diffusés et les rayons X.



**Fig.** Illustration schématique de l'ensemble des radiations émises lors de l'interaction faisceau d'électrons – échantillon.

Un MEB comporte les éléments suivants (voir figure suivante):

- Un canon à électrons : sert à produire les électrons primaires par effet thermoélectrique à partir d'un filament en tungstène (cathode) porté à haute température



et entouré d'un cylindre « le wehne » où les électrons sont extraits et focalisés constituant ainsi une source virtuelle d'électrons. L'anode se trouvant au dessous du « wehne » est percée pour laisser passer le faisceau électronique.

- Une colonne électronique : constituée essentiellement de trois lentilles électromagnétiques destinées à focaliser le faisceau primaire en un spot ponctuel. Les meilleures performances sont obtenues lorsqu'un courant intense est focalisé dans une tache aussi petite que possible. Les paramètres importants sont la brillance du faisceau et les propriétés optiques de la dernière lentille focalisante (objectif).

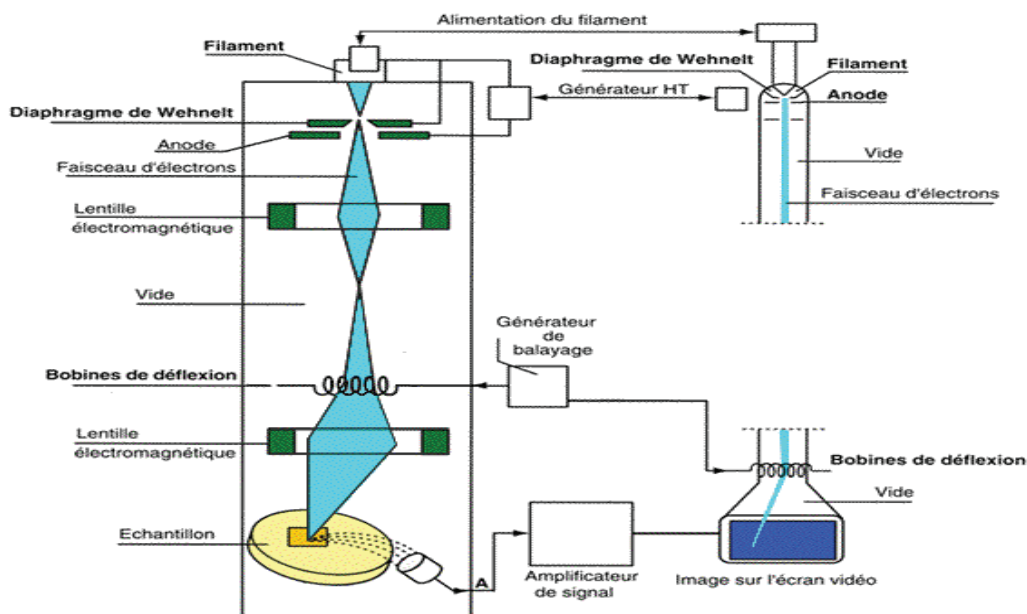
Dans la colonne se trouvent aussi les bobines de réflexion qui permettent le balayage de l'échantillon par le faisceau.

- Le détecteur d'électrons secondaires : utilise un système performant d'amplification du courant ; le photomultiplicateur. Les électrons secondaires sont attirés par un collecteur et ensuite accélérés vers le scintillateur qui absorbe les électrons et émet les photons qui arrivent au photomultiplicateur pour être convertis en électrons.

- Le détecteur d'électrons rétro diffusés : constitué de diodes silicium. Il comporte deux secteurs sensibles de même surface, ce qui permet deux modes de fonctionnement ; mode composition par lequel les phases constituant l'échantillon sont mises en évidence, et mode topographique où les signaux provenant de la composition s'annulent et il reste ceux venant de la topographie qui s'ajoutent.

- Le détecteur de rayons X (EDS) : c'est un détecteur en énergie constitué d'une diode silicium dopé de lithium. Chaque photon en arrivant dans la diode provoque en sortie une impulsion de tension proportionnelle à l'énergie de ce photon. Le spectre X obtenu est un histogramme du nombre des impulsions en fonction de leur hauteur (càd l'énergie des photons X).

- La formation de l'image : obtenue séquentiellement point par point en déplaçant le faisceau d'électrons primaires sur la surface de l'échantillon. L'image est alors reconstruite en utilisant le signal généré par les différents détecteurs pour moduler la brillance d'un tube cathodique. Le rapport entre le format de l'écran et celui de la zone balayée sur l'échantillon détermine le grandissement.



**Fig.** Représentation schématique d'un microscope électronique à balayage.

Pour la microanalyse électronique le principe repose sur le bombardement de la surface par un faisceau d'électrons d'énergie de l'ordre de 10 à 40 keV, l'impact provoque l'émission des rayons X caractéristiques des éléments constituant l'échantillon. L'émission se produit dans une « poire » de dimensions de l'ordre du micromètre, avec deux conséquences :

- la résolution spatiale de l'analyse est de l'ordre du  $\mu\text{m}$  ;
- la profondeur analysée est également de l'ordre du micron.

La détection est obtenue par spectrométrie en énergie (Energy Dispersive Spectrometry : EDS) ou par spectrométrie en longueur d'onde (Wavelength Dispersive Spectrometry). Dans notre étude, c'est l'EDS qui a été utilisée. Le détecteur EDS est un monocristal de silicium, dopé au lithium et polarisé. Un photon X produit dans le cristal un nombre de paires d'électrons-trous proportionnel à l'énergie du photon. Un analyseur multicanaux permet de classer le nombre d'événements en fonction de leur énergie, et donc de reconstituer le spectre d'émission de l'échantillon.

### 2.3. Fluorescence des rayons X

La fluorescence X est une technique d'analyse élémentaire quantitative non destructive de la matière. Elle est utilisée pour l'analyse de la composition chimique des matériaux minéraux (céramiques, verres, glaçures, pierres)

Les rayons X sont une radiation électromagnétique découverte par Wilhelm Röntgen à la fin du XIXe siècle. Les photons X sont produits après éjection d'un électron « orbital » interne d'un atome excité. Un faisceau de rayons X traversant la matière est soumis à trois processus : l'absorption, la dispersion et la fluorescence.

La fluorescence X est une émission secondaire de rayons X, caractéristique des éléments atomiques qui composent l'échantillon.

- Principe

La technique d'analyse par fluorescence des rayons X comprend deux parties :

- une source d'excitation : provoque l'émission d'un spectre de rayons X caractéristique de la composition de l'objet ;
- un détecteur et un analyseur de rayonnement : identifient les raies composant le spectre.

L'excitation d'une raie caractérisée par des photons d'énergie donnée ne peut être provoquée qu'en bombardant l'échantillon avec des photons d'énergies supérieures. L'émission d'un spectre de rayons X s'effectue de trois manières différentes :

- par un flux d'électrons : les électrons accélérés par la haute tension provoquent une émission primaire de l'échantillon.
- par une source radioactive : les rayonnements de la source (rayonnement  $\gamma$ ) provoquent l'émission du rayonnement secondaire dit de fluorescence X. Le choix des sources s'effectue en fonction de l'énergie des photons  $\gamma$  émis et de la demi-période du radioélément. Trois sources sont utilisées pour couvrir la totalité du spectre :

$\text{Am}^{241}$  (60 keV),  $t_{1/2} = 458$  ans

$\text{Pu}^{238}$  (12 et 17 keV),  $t_{1/2} = 86,4$  ans

$\text{Fe}^{55}$  (5,9 keV),  $t_{1/2} = 4,7$  ans

- par un tube de rayons X : deux formes d'excitation sont à envisager :
  - excitation par les raies caractéristiques de l'élément de l'anticathode : l'anticathode de chrome (raies  $K\alpha$ ) est utilisée pour les éléments légers compris entre le titane et le sodium; celle de molybdène ou de tungstène (raies  $L\alpha$ ) sert à

exciter des éléments de numéro atomique plus élevé.  
- excitation par le fond continu : le fond continu (rayonnement de freinage des électrons dans la cible) correspond à l'émission par l'anticathode de photons d'énergies variables. Le photon de plus forte énergie correspond à la tension maximale appliquée au tube. Il est lié à cette tension par la relation suivante :

$\lambda_{\min} = 12,4/V_{\max}$  ( $V_{\max}$  en kV). L'intensité maximale du fond continu se situe en général au 3/2 de cette longueur d'onde minimale. Il faut tenir compte de ce critère pour exciter convenablement un objet au moyen du fond continu.

L'analyseur du rayonnement de fluorescence X est un système à dispersion angulaire, composé d'un goniomètre muni, au centre, d'un cristal analyseur et, sur sa circonférence, d'un détecteur mobile. Le rayonnement de fluorescence X collimatée en un faisceau de rayons parallèles tombe sur le cristal analyseur. Celui-ci diffracte ces rayonnements selon des angles liés à la longueur d'onde de chaque raie par la loi de Bragg :  $2d \sin \theta = n\lambda$ . L'électronique de mesure permet de séparer les raies de premier ordre des raies de second ordre.

Deux types de montage du cristal analyseur sont à envisager selon la forme du cristal, le plan ou la courbe.

Deux détecteurs sont couramment employés :

- à flux gazeux : le gaz du compteur est ionisé lors du passage d'un photon X. Il permet de détecter les éléments compris entre le sodium et le zinc.
- à scintillation : il s'agit d'un cristal d'iodure de sodium. Ce compteur permet d'analyser les éléments de numéro atomique supérieur à celui du fer.

La baie de mesure amplifie, discrimine et intègre les impulsions.

### 2.4. Diffraction des rayons X

La diffractométrie de rayons X est une méthode d'analyse physico-chimique. Elle marche sur la matière cristallisée (minéraux, métaux, céramiques, produits organiques cristallisés), mais aussi sur la matière amorphe (liquides, polymères, verres). Par contre, elle permet de reconnaître des produits ayant la même composition chimique brute, mais une forme de cristallisation différente. La diffraction permet de déterminer l'arrangement des atomes qui composent le matériau et leur émission est caractéristique de la composition chimique de celui-ci.

La diffraction a pour origine un phénomène de diffusion par un très grand nombre d'atomes. Chaque grain d'un métal polycristallin, lui-même monocristallin est constitué d'un empilement régulier d'atomes qui s'ordonne en réseaux de plans cristallins, dans lequel les rayons diffusés ont des relations de phase entre eux qui peuvent être destructives ou constructives suivant l'angle du faisceau incident. Les directrices constructives correspondent au faisceau diffracté sont définies par la loi de Bragg.

- Principe

Les rayons X, comme toutes les ondes électromagnétiques, provoquent un déplacement du nuage électronique par rapport au noyau dans les atomes ; ces oscillations induites provoquent une réémission d'ondes électromagnétiques de même fréquence ; ce phénomène est appelé diffusion Rayleigh.

La longueur d'onde des rayons X étant de l'ordre de grandeur des distances inter atomiques (quelques angströms), les interférences des rayons diffusés vont être alternativement constructives ou destructives. Selon la direction de l'espace, il va y avoir

un flux important de photons X, ou au contraire très faible ; ces variations selon les directions forment le phénomène de diffraction X.

Ce phénomène a été découvert par Max von Laue (Prix Nobel en 1914), et longuement étudié par sir William Henry Bragg et son fils sir William Lawrence Bragg (prix Nobel commun en 1915).

Les directions dans lesquelles les interférences sont constructives, appelées « pics de diffraction », peuvent être déterminées très simplement par la formule suivante, dite loi de Bragg (voir figure suivante) :

$$2d \sin \theta = n \cdot \lambda$$

Avec :

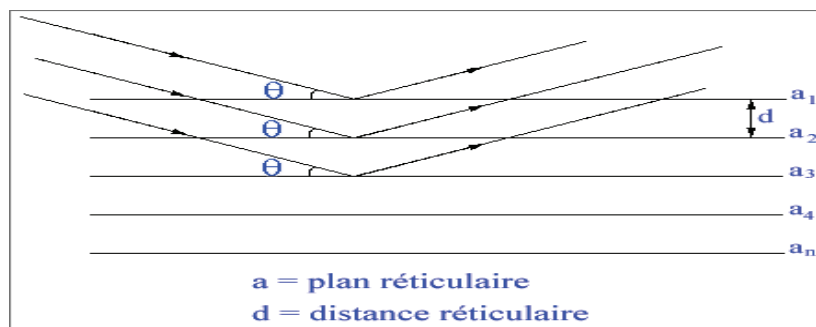
$d$  = distance interréticulaire, c'est-à-dire distance entre deux plans cristallographiques ;

$\theta$  = demi-angle de déviation (moitié de l'angle entre le faisceau incident et la direction du détecteur) ;

$n$  = ordre de réflexion ou de diffraction (nombre entier) ;

$\lambda$  = longueur d'onde des rayons X (du faisceau incident).

Comme les plans cristallographiques peuvent être repérés par les indices de Miller  $\{hkl\}$ , les pics de diffraction peuvent être indexés selon ces indices.



**Fig.** Schématisation du principe de la loi de Bragg.

### 1.5. Microscopie par fluorescence ou fluoromicroscopie

Un microscope est un instrument optique qui permet l'observation d'objets trop petits pour être vus à l'œil nu. Un microscope optique est constitué d'un objectif et d'un oculaire, formés chacun par plusieurs lentilles afin de réduire les aberrations géométriques et chromatiques. L'objectif et l'oculaire peuvent être assimilés à deux lentilles simples ayant les vergences des systèmes qu'elles représentent. L'objectif est assimilable à une lentille convergente de courte distance focale. L'objet à examiner est placé assez près de l'objectif. L'oculaire est également convergent mais de focale plus grande.

En microscopie optique classique, la limite de résolution est fixée par la plus petite longueur d'onde observable, soit 400 nm. Cette limite frappe également le microscope par fluorescence, qui est une application importante souvent associée à l'informatique pour traiter les images.

- Principe

La microscopie par fluorescence est basée sur la constatation que certains corps violemment éclairés par des radiations de courtes longueurs d'onde, les absorbent en réémettant des radiations de longueurs d'onde plus longues dites de fluorescence, c'est

l'effet de Stokes. Pour bien mettre en évidence ces fluorescences, il faut délimiter clairement avec un premier filtre coloré la bande excitatrice, qui en général est de l'ultraviolet ou de bleu violet, et ensuite disposer après l'objet un second filtre « passe bas » coupant ce qui reste de la lumière excitatrice pour ne laisser passer que la fluorescence. L'objet à exciter est éclairé en fond noir afin d'éviter que la lumière directe ne pénètre dans l'objectif.

La microfluorescopie est dite « primaire » lorsque ce sont les objets eux-mêmes qui sont fluorescents, elle est dite « induite » ou « secondaire » lorsqu'un colorant est fixé électivement sur une structure et qu'il est fluorescent.

La fluorescence appartient, avec la phosphorescence au phénomène de luminescence. Ce dernier se produit lorsqu'un objet éclairé, diffuse de la lumière sur une longueur d'onde supérieure à celle de la lumière incidente. Un corps qui a cette propriété est un fluorochrome. Lorsque la lumière diffusée cesse dès la fin de l'excitation on parle de fluorescence ; si au contraire la diffusion se poursuit après l'arrêt de l'excitation alors on parle de phosphorescence.

Ce phénomène est interprété par le phénomène d'excitation des atomes. Si un atome isolé est excité par un rayonnement UV ( invisible ) de grande énergie, l'atome passe du niveau d'énergie  $E_0$  à un niveau d'énergie excité présentant les doublets électroniques  $E_1$  et  $E_1'$ .

Ce processus est également valable pour les molécules, mais en plus complexe du fait des énergies de rotation et de vibration, qui multiplient les niveaux d'énergie.

Les applications relatives à la microfluorescence sont diverses :

- observation des objets normalement transparents en lumière visible et devenus fluorescents par fixation de fluorochromes adaptés.
- Observation des objets en trois dimensions, grâce à l'absorption sélective d'un fluorochrome.
- Détermination de la constitution d'un objet à partir des variations d'intensité de l'émission fluorescente. Par exemple en biologie on pourra :
  - Connaître certaines structures tissulaires qui fixent sélectivement un marqueur.
  - Connaître les déplacements des molécules marquées (la fluorescence se déplace en même temps que la molécule)
  - Connaître les interactions entre deux molécules, deux protéines, etc.

Remarques

- Un fluorochrome est une molécule qui est fluorescente lorsqu'elle est éclairée par une lumière d'énergie suffisante. Elle est généralement constituée à partir de noyaux aromatiques polycycliques. Les fluorochromes sont utilisés comme marqueurs ; exemple : la fluoescéine.
- La fluoescéine : matière colorante jaune découverte par Baeyer en 1871 qui absorbe la lumière bleue  $\lambda_a < 480$  nm et émet une lumière verte  $\lambda_e \approx 520$  nm.

### 1.6. Analyse par Spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF)

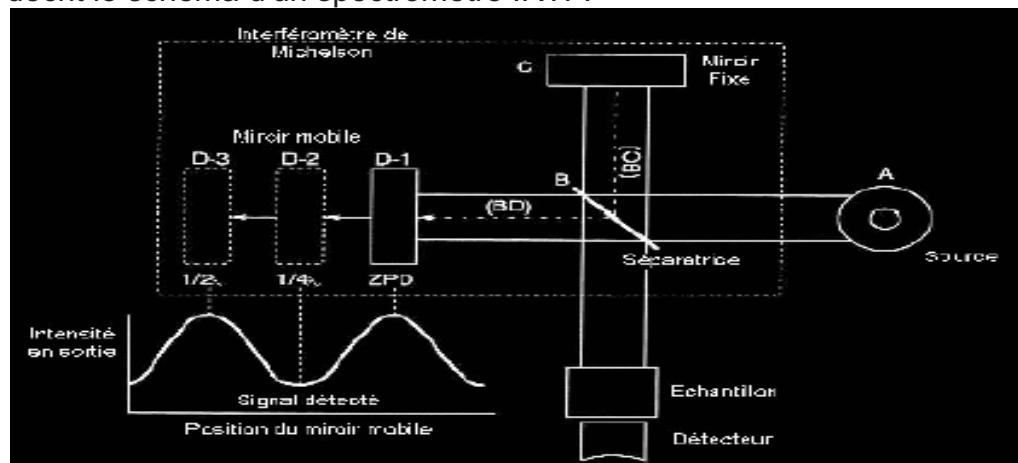
La Spectroscopie IRTF est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau. Cette analyse fournit des renseignements sur la nature de la structure des molécules (arrangements des atomes, distance entre atomes. etc).



- Principe

Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule analysée, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise. Le domaine infrarouge entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  et  $400\text{ cm}^{-1}$  ( $2,5 - 25\ \mu\text{m}$ ) correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules. Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie. Pour une géométrie donnée on peut déterminer les modes de vibration actifs en infrarouge grâce à la Théorie des Groupes. La position de ces bandes d'absorption va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse. Par conséquent, à un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier le matériau.

Le spectromètre IRTF envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les longueurs d'onde auxquelles le matériau absorbe et les intensités de l'absorption. La figure suivante décrit le schéma d'un spectromètre IRTF.



**Fig.** Schéma d'un spectrophotomètre à Transformée de Fourier.

Le faisceau infrarouge provenant de la source A est dirigé vers l'interféromètre de Michelson qui va moduler chaque longueur d'onde du faisceau à une fréquence différente. Dans l'interféromètre le faisceau lumineux arrive sur la Séparatrice. La moitié du faisceau est alors dirigée sur le miroir fixe, le reste passe à travers la séparatrice et est dirigé sur le miroir mobile. Quand les deux faisceaux se recombinaient, des interférences destructives ou constructives apparaissent en fonction de la position du miroir mobile. Le faisceau modulé est alors réfléchi des deux miroirs vers l'échantillon, où des absorptions interviennent. Le faisceau arrive ensuite sur le détecteur pour être transformé en signal électrique.

Le signal du détecteur apparaît comme un interférogramme, c'est à dire une signature de l'intensité en fonction de la position du miroir. L'interférogramme est la somme de toutes les fréquences du faisceau. Cet interférogramme est ensuite converti en un spectre infrarouge par une opération mathématique appelée « Transformée de Fourier ».

Les informations tirées des spectres Infra Rouge sont de deux sortes :

- Informations qualitatives : les longueurs d'onde auxquelles l'échantillon absorbe, sont caractéristiques des groupes chimiques présents dans le matériau analysé. Des tables permettent d'attribuer les absorptions aux différents groupes chimiques présents.

- Informations quantitatives : l'intensité de l'absorption à la longueur d'onde caractéristique est reliée à la concentration du groupe chimique responsable de l'absorption.

En mesurant l'aire du signal caractéristique on peut, si on connaît l'épaisseur de la couche, comparer la proportion d'un groupement chimique donné dans plusieurs échantillons ou si on a une composition constante, avoir une idée de l'épaisseur des films les uns par rapport aux autres. Pour avoir une mesure absolue, il convient d'étalonner auparavant les couches par une autre technique pour pouvoir établir une relation expérimentale entre intensité du signal et proportion ou épaisseur.

### ANNEXE N° 3. Micrographies des éprouvettes d'acier des différents essais prises au microscope métallographique

Abréviations utilisées :

BSR : culture mixte de consortium de BSR.

BSR1 : culture pure de BSR1.

EN : éprouvette non traitée par plasma d'oxygène.

ET : éprouvette traitée par plasma d'oxygène.

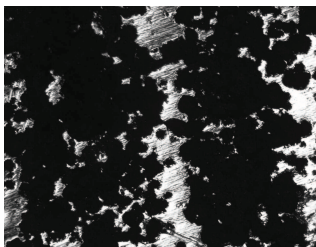
F : micrographie.

I : immersion.

IB : immersion blanc.

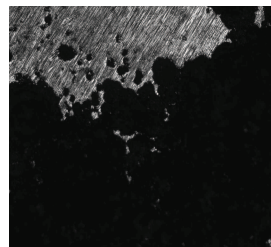
T : température.

#### 3.1. Micrographies des éprouvettes d'acier soumises à l'essai de résistance



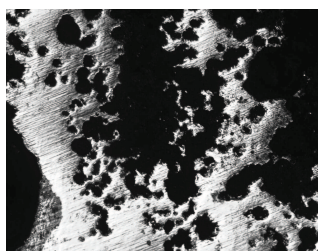
50 2 5\_area.txt

T22 EN 50 2 5 77.6%



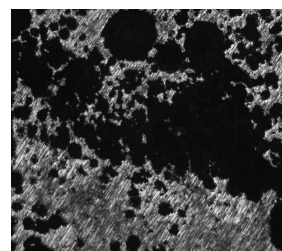
50 2 P 1\_area.txt

T50 EN 50 2 p1 79.4%



50 2 2\_area.txt

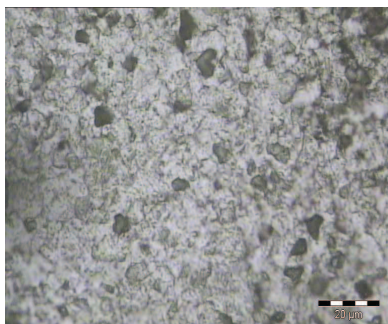
T22 ET 50 2 2 52.8%



50 2 P 2\_area.txt

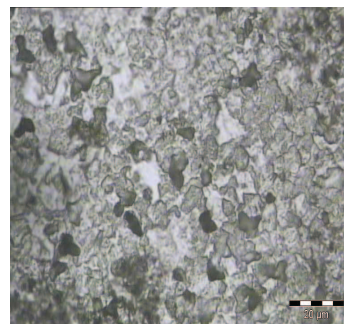
T50 ET 50 2 p2 57.4%

#### 3.2. Micrographies des éprouvettes d'acier de l'immersion « blanc »



ET29IBF23\_area.txt

ET29IBF23 1 %



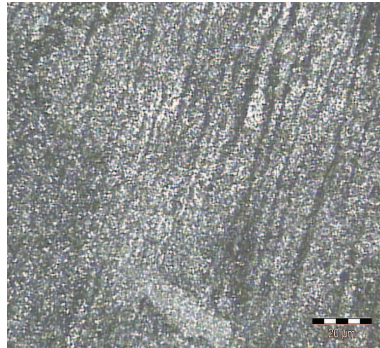
EN36IBF23\_area.txt

EN36IBF23 1.9 %



3.3. Micrographies des éprouvettes d'acier soumises à la biocorrosion

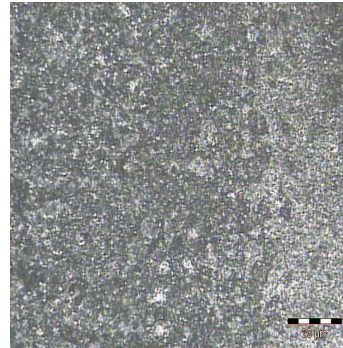
**DUREE D'UN MOIS : BSR C**



ET53124F22 9.6 %



ET53124F22\_area.txt



EN58118F13 13.9 %



EN58118F13\_area.txt

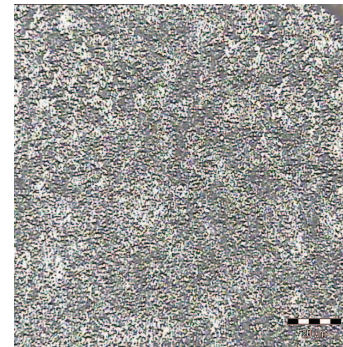
**DUREE D'UN MOIS : BSR 1**



ET48115F21 8.8 %



ET48115F21\_area.txt

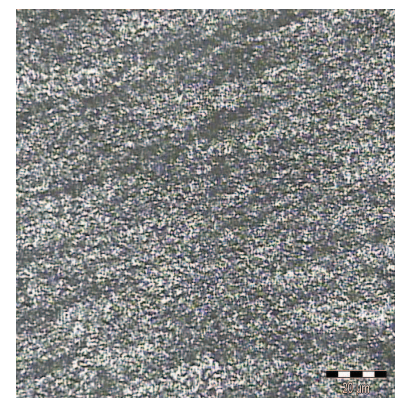


EN57117F25 11.3 %



EN57117F25\_area.txt

**DUREE DE 2 MOIS : BSRC**



EN31114F26 18.7 %



EN31114F26 T.JHD



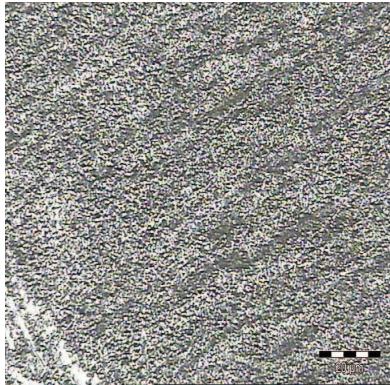
ET28114F11 15.8 %



ET28114F11\_area.txt



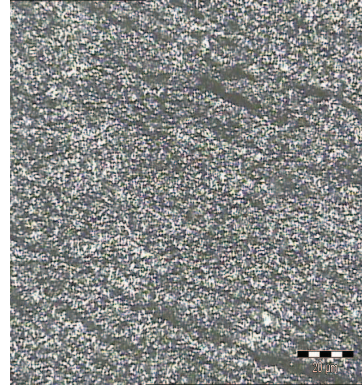
**DUREE DE 2 MOIS : BSR1**



EN39I13F12 15.4 %



EN39I13F12\_area.txt

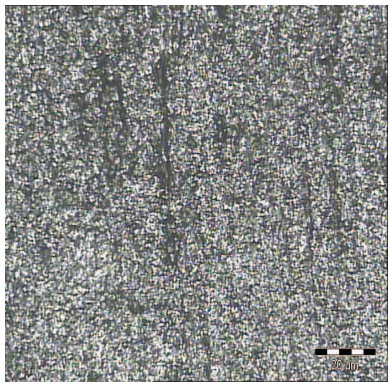


ET32I13F11 10.1 %



ET32I13F11\_area.txt

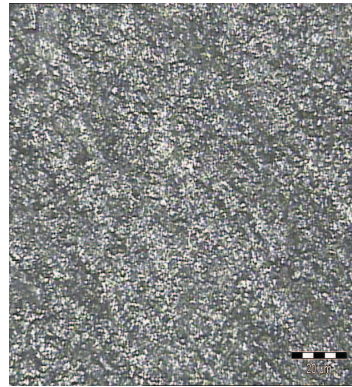
**DUREE DE 3 MOIS : BSR1**



EN35I11F22 23 %



EN35I11F22\_area.txt

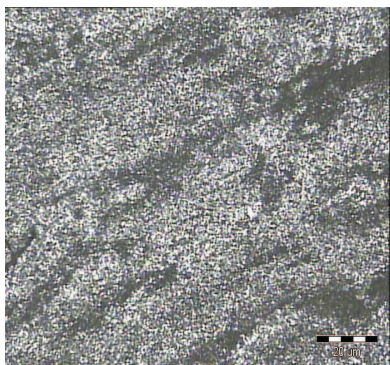


ET27I11F11 18.3 %



I11ET27F11\_area.txt

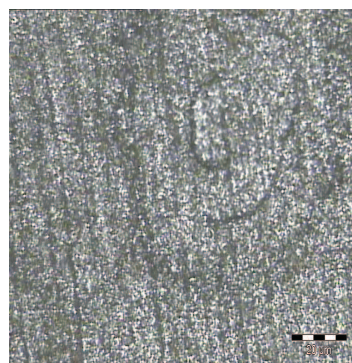
**DUREE DE 3 MOIS : BSR C**



ET29I12F12 13.8 %



ET29I12F12\_area.txt



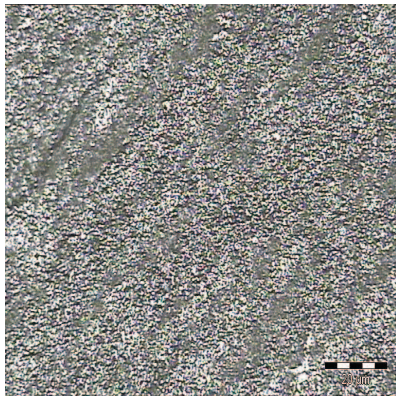
EN29I12F21 22.6 %



ET29I12F21\_area.txt



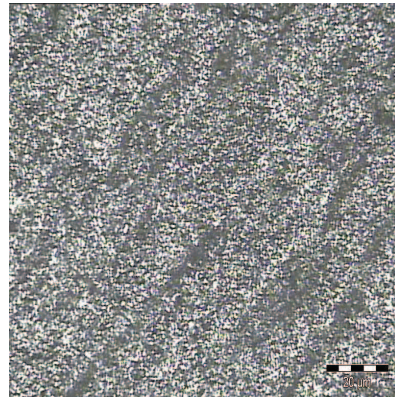
**DUREE DE 4 MOIS : BSR 1**



EN2819F13 27.6 %



EN2819F13\_area.txt

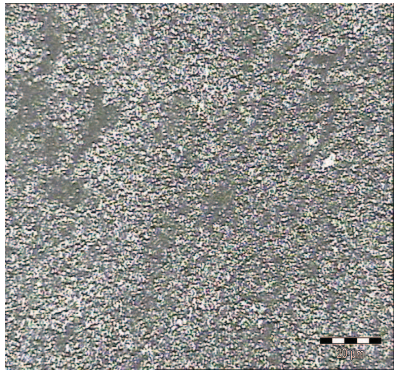


ET2119F12 25.7 %



ET2119F12\_area 2.txt

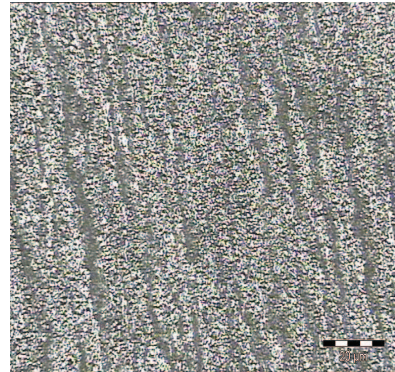
**DUREE DE 4 MOIS : BSR C**



EN29110F22 26.2 %



EN29110F22\_area.txt

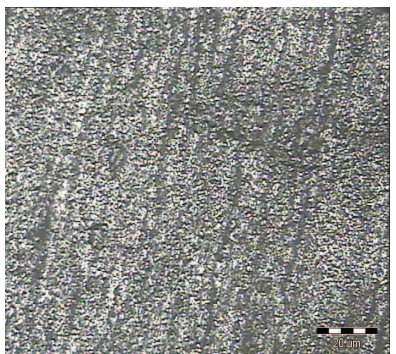


ET24110F11 19.9 %



ET24110F11\_area.txt

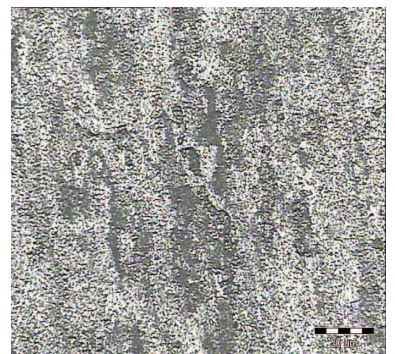
**DUREE DE 5 MOIS : BSRC**



EN1114F12 26 %



EN1114F12\_area.txt



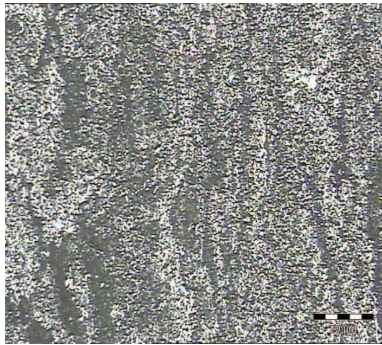
EN214F21 33.7 %



EN214F21\_area.txt



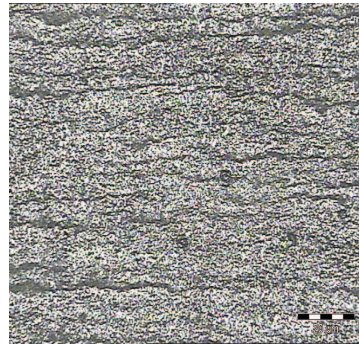
**DUREE DE 5 MOIS : BSR 1**



EN113F21 31.5 %



EN113F21\_area.txt

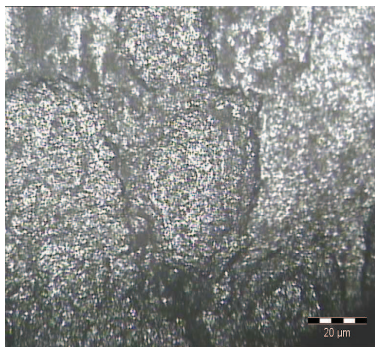


ET4I3F13 23 %



ET4I3F13\_area.txt

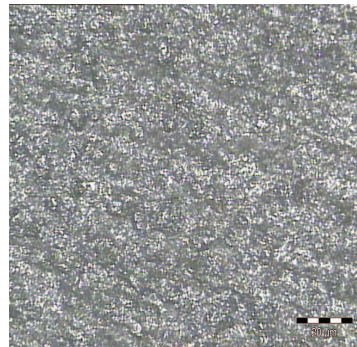
**DUREE DE 6 MOIS : BSR 1**



EN22I5F22 31.2 %



I5EN22F22\_area.txt

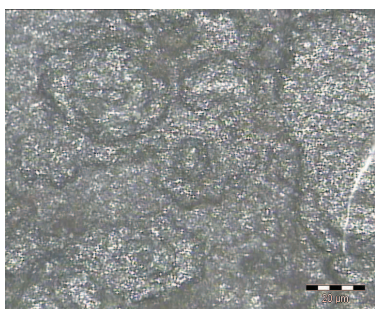


ET20I5F12 30.3 %



I5ET20F12\_area.txt

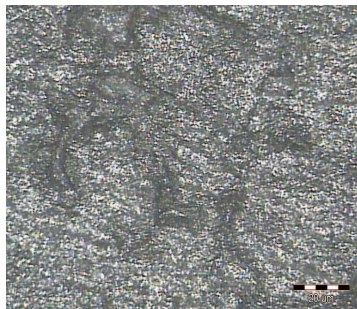
**DUREE DE 6 MOIS : BSR C**



EN14I6F12 36.2 %



I6EN14F12\_area.txt

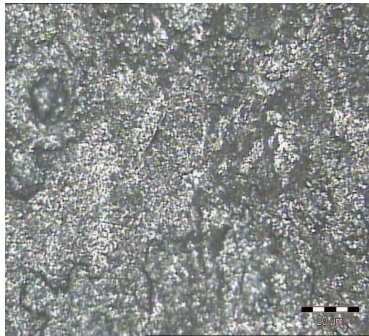


ET13I6F14 30.7 %



I6ET13F14\_area.txt

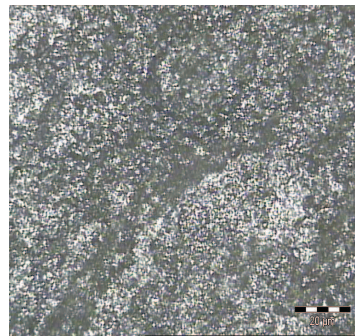
**DUREE DE 7 MOIS : BSRC**



EN2118F13 52 %



I8EN21F13\_area.txt

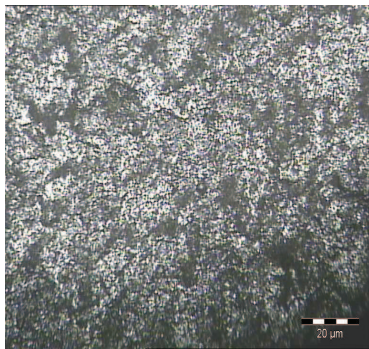


ET1918F21 46.2 %



I8ET19F21\_area.txt

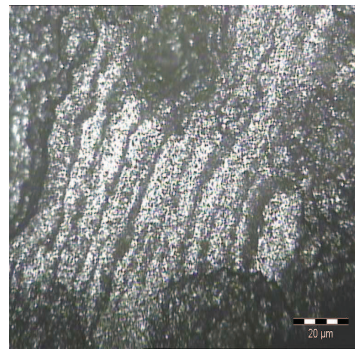
**DUREE DE 7 MOIS: BSR1**



EN1817F12 46.6 %



EN1817F12\_area.txt



ET1817F13 39.5 %



ET1817F13\_area.txt

# ***Glossaires***

# GLOSSAIRE DE METALLURGIE

**Acier** : alliage métallique constitué de fer (métal de base) et de carbone (< 2%) avec éventuellement des éléments d'addition (métalliques ou non)

**Acier allié** : acier dont la teneur en éléments d'alliage est supérieure aux limites fixées pour les aciers non alliés (norme NF.EN 10.020)

**Acier inoxydable** : acier contenant au moins 10.5% de Cr avec éventuellement d'autres éléments d'addition (norme NF.EN 10.088-1)

**Addition** (élément d'addition) : élément chimique ajouté au métal de base pour fabriquer un alliage métallique ayant des propriétés différentes de celles du métal de base

**Alliage** : corps obtenu en incorporant à un métal de base (> 50%) un ou plusieurs éléments d'addition (métalliques ou non) et conservant les propriétés des métaux

**Austénite** : forme cubique à faces centrées du fer pur ou des alliages de fer

**Cémentite** : composé défini, de formule atomique  $Fe_3C$ , rencontré dans les alliages ferreux

**Constituant** (micrographique) : phase unique ou mélange de phases apparaissant comme un composant individualisé dans une structure d'alliage observée au microscope

**Dureté** : résistance d'un matériau à la pénétration d'un autre corps supposé indéformable

**Écrouissage** : phénomène de durcissement observé sur les matériaux métalliques, dû à l'accroissement du nombre des dislocations lors de la déformation plastique à froid et à l'interaction entre celles-ci

**Élastique** (déformation) : déformation réversible (elle disparaît lorsque les efforts disparaissent)

**Eutectoïde** (transformation) : transformation isotherme réversible d'une phase solide homogène en un agrégat de plusieurs phases solides en équilibre, formées simultanément

**Fatigue** : endommagement d'un matériau sous l'action d'efforts mécaniques cycliques

**Fatigue-corrosion** : mécanisme de fatigue en présence d'un milieu corrosif

**Ferrite a** : forme cubique centrée du fer pur ou des alliages ferreux existant à basse température

**Ferrite d** : forme cubique centrée du fer pur ou des alliages ferreux existant à haute température

**Fissure** : entaille très fine dont le rayon de courbure à fond d'entaille tend vers zéro; elle peut être débouchante ou interne

**Frittage** : opération à chaud avec ou sans charge, permettant de densifier par diffusion un comprimé de poudre

**Grain** : monocristal dans le métal polycristallin

**Inclusion** : particule en général non métallique, souvent indésirable, issue de l'élaboration (oxydes, sulfures, silicates...)

**Joint de grain** : imperfection cristalline correspondant aux interfaces entre les grains contigus d'orientations différentes

**Métallurgie** : science des matériaux métalliques de leur extraction à leur utilisation



**Microstructure** : ensemble des phases et éléments cristallins constituant un métal pur ou un alliage observable par microscopie

**Nitruration** : traitement thermo-chimique dans une atmosphère adéquate permettant l'enrichissement superficiel de la pièce en azote

**Nitruration ionique** : nitruration par bombardement ionique, ou nitruration par plasma

**Perlite** : constituant micrographique issu de la transformation eutectoïde des aciers et constitué d'un agrégat de ferrite et de cémentite de morphologie souvent lamellaire, parfois nodulaire

**Perlite globulaire** : perlite où la cémentite est sous forme de nodules, obtenue par exemple après un traitement thermique isotherme prolongé autour de 700°C

**Phase** : partie homogène d'un système (l'eau et la glace sont deux phases d'un même corps pur). dans un système métallurgique, constituant homogène (tout ou partie du système) solide, liquide ou gazeux ayant sa propre identité (même composition, même structure), et physiquement séparable. Une phase peut être discontinue dans le système.

**Plasma** : gaz porté à haute température et ionisé par décharge électrique (ensemble riche en ions et en électrons libres)

**Plastique** (déformation) : déformation irréversible (elle reste permanente lorsque les efforts disparaissent)

**Résistance à la traction** : contrainte conventionnelle maximale  $F_m / S_0$ , applicable avant l'apparition de la striction (maximum de la courbe de traction contrainte-déformation)

**Réversible** (transformation): transformation impliquant rigoureusement les mêmes phases au chauffage et au refroidissement

**Solution solide** : phase homogène constituée des atomes du métal de base et des éléments d'addition répartis de façon aléatoire dans le réseau cristallin

**Structure** (cristalline) : arrangement des atomes du solide selon l'un des 14 réseaux de Bravais

**Structure** (micrographique) : arrangement, dimension et forme des différents constituants métallographiques d'un alliage, observable au microscope

**Traitement de surface** : terme générique désignant tout traitement de modification de la surface en vue d'améliorer ses propriétés d'emploi

**Vieillessement** : phénomène provoquant la modification des propriétés d'un alliage, imputable à la migration de certains éléments ou à la formation de composés se produisant à des températures proches de la température ambiante ou à la température ambiante

**Vickers** (dureté) : valeur de la dureté obtenue, à partir de l'essai Vickers normalisé, conduit avec un diamant de forme pyramidale à base carrée, en rapportant la charge appliquée à la surface de l'empreinte de la pyramide laissée dans le matériau après déchargement (norme NF.EN ISO 6507-1)

# GLOSSAIRE DE MICROBIOLOGIE

**Agar-agar** (appelé E406 dans la liste des additifs alimentaires) : produit gélifiant obtenu à partir d'algues rouges (entre autres floridées comme le *Gracilaria*). C'est un polymère de galactose (galactane) contenu dans la paroi cellulaire de certaines espèces d'algues rouges (rhodophycées). Cet extrait serait riche en fer. L'agar-agar purifié, débarrassé de tous ses éléments minéraux s'appelle l'agarose, utilisable selon son niveau de pureté dans diverses applications de biologie moléculaire.

**Anaérobiose** : absence de l'oxygène libre, de l'aire ou combiné. Un anaérobie est un organisme n'exigeant pas de l'oxygène pour son métabolisme.

**Archaeobactéries** : bactéries avec des caractéristiques moléculaires particulières qui rendent compte de leur fonctionnement dans des conditions extrêmes.

**Assimilation** : conversion via des processus cellulaires des simples molécules en des composés complexes de la cellule microbienne.

**Autotrophie** : capacité de certains organismes vivants à produire de la matière organique en procédant à la réduction de matière inorganique, par exemple le carbone (le dioxyde de carbone) ou encore l'azote (sous forme de  $\text{NO}_3$  ou de  $\text{N}_2$ ). Cela s'accompagne d'un prélèvement de sels minéraux dans le milieu (ions nitrate, phosphate). Les organismes autotrophes au carbone sont donc capables de se développer dans un milieu ne contenant que du carbone minéral.

**Bactéries** (bacteria): organismes vivants unicellulaires procaryotes (caractérisées par une absence de noyau et d'organites). La plupart possèdent une paroi cellulaire glucidique; le peptidoglycane. Les bactéries mesurent quelques micromètres de long et peuvent présenter différentes formes (coques, formes allongées, bâtonnets (bacilles), formes spiralées). L'étude des bactéries est la bactériologie, une branche de la microbiologie. Les bactéries sont ubiquitaires et sont présentes dans tous les types de biotopes rencontrés sur Terre.

**Biofilm** : croissance microbienne en interface sur laquelle des cellules individualisées sont rassemblées dans une matrice de matières extracellulaires polymériques.

**Biosynthèse** : formation de substances (organique, minérales, hormonales, etc) par un être vivant et/ou son symbiote, dans son milieu interne et/ou dans ses excréments (mucus, coquilles, écorces, etc).

**Colonie** (du latin *colonia*): groupe d'organismes individuels appartenant à la même espèce vivant rassemblés selon un mode de vie particulier (en biologie). Une colonie bactérienne est définie comme un groupe de microorganismes vivant à la surface ou à l'intérieur d'un milieu de culture solide, généralement cultivés à partir d'une cellule unique.

**Consortium** (du latin signifiant « partenariat » ou « association ») : collaboration temporaire entre plusieurs organismes à une communauté ou organisation dans le but d'obtenir ou non un profit mutuel.

**Cytochrome** : coenzymes intermédiaires de la chaîne respiratoire. Ils ont comme caractéristique commune d'être constitués d'une porphyrine complexée avec un atome de fer ou de cuivre. C'est ce dernier qui confère au coenzyme ses propriétés oxydoréductrices en changeant de valence. Le couple oxydant/réducteur est le suivant :  $\text{Fe}^{2+}$  donne  $\text{Fe}^{3+} + 1$  électron. Les noyaux porphyrine sont fixés par des liaisons covalentes à la partie protéique des cytochromes. Les différents cytochromes sont: a,  $a_3$ , b,  $b_5$ , c,  $c_1$ , f et  $p_{450}$ .

**Cytoplasme** : contenu d'une cellule vivante. Il s'agit de la totalité du matériel cellulaire du protoplasme délimité par la membrane plasmique et le noyau. C'est une émulsion

colloïdale à l'aspect granuleux constituée de cytosol ou de hyaloplasme et de plusieurs organites cellulaires (principalement des ribosomes, des vacuoles).

**Dissimilation** : réaction métabolique dans laquelle un réducteur est utilisé comme accepteur d'électrons sans être incorporé dans la cellule. C'est un changement métabolique convertissant les molécules complexes en de simples molécules.

**Écosystème** : ensemble formé par une association ou communauté d'êtres vivants (ou biocénose) et son environnement géologique, pédologique et atmosphérique (le biotope). Les éléments constituant un écosystème développent un réseau d'interdépendances permettant le maintien et le développement de la vie. L'écosystème est l'interaction entre les facteurs biotiques et abiotiques.

**Enzyme** : molécule (protéine ou ARN dans le cas des ribozymes) permettant d'accélérer jusqu'à des millions de fois les réactions chimiques du métabolisme se déroulant dans le milieu cellulaire ou extracellulaire. Elles agissent à faible concentration et elles se retrouvent intactes en fin de réaction : ce sont des catalyseurs biologiques ou biocatalyseurs.

**Épifluorescence** (microscope optique à fluorescence) : faire passer la lumière excitatrice par l'objectif et non pas par dessous le spécimen.

**Espèce** : unité, ou taxon de base de la systématique (dans les sciences du vivant). Sa définition diffère selon les disciplines. Une espèce biologique est l'ensemble de populations effectivement ou potentiellement interfécondes (interfertiles), génétiquement isolées du point de vue reproductif d'autres ensembles équivalents. Dans la classification scientifique, une espèce vivante (ou ayant vécu) est désignée par un binôme latin s'écrivant en italique, composé d'un nom générique (qui prend une majuscule initiale) suivi d'une ou deux épithètes spécifiques. Le nom de l'espèce est l'ensemble du binôme et non pas seulement l'épithète spécifique.

**Eubactérie** (Eubacteria ou vraies bactéries) : subdivision majeure des procaryotes, comprenant toutes les bactéries exceptées les archaeas. Elles se distinguent des eucaryotes par leur structure cellulaire (structure procaryote où le noyau est absent), et des archées par divers aspects chimiques (structure de la membrane cellulaire) et génétiques.

**Famille** : cinquième rang principal de la systématique classique des espèces vivantes venant après l'ordre et avant le genre.

**Fermentation** : réaction biochimique de conversion de l'énergie chimique contenue dans une source de carbone (glucose souvent) en une autre forme d'énergie directement utilisable par la cellule en l'absence de dioxygène (milieu anaérobie). C'est une simple réaction d'oxydoréduction où l'accepteur final d'électron est souvent le produit final. Elle se caractérise par une oxydation partielle du produit fermentescible, et donne lieu à une faible production d'énergie car la différence de potentiel redox entre le donneur et l'accepteur d'électron est petite.

**Flagelle** : structure extra cellulaire utilisée pour assurer la mobilité, l'attachement aux supports et la défense des organismes. Les pili, filaments et les cils se classent dans la même catégorie.

**Genre** : en systématique c'est le rang taxinomique qui regroupe un ensemble d'espèces ayant en commun plusieurs caractères similaires. Le genre est le sixième rang principal de la systématique classique des espèces vivantes.

**Halophile** : (du grec *alos*, sel et *philein*, aimer) organisme qui a un besoin absolu de fortes concentrations en sel pour vivre. Les organismes halophiles sont des extrémophiles appartenant aux domaines des Archaea ou des Bactéries. Les halophiles sont isolés de lacs et d'étangs salés, de marais salants, de sédiments marins. On distingue l'halophilie

simple ou halotolérance et l'halophilie stricte ou obligatoire quand le micro-organisme est incapable de cultiver en milieu qui n'est pas hypersalin.

**Hétérotrophie** : du grec *heteros* (autre) et *trophê* (nourriture) est la nécessité pour un organisme vivant de se nourrir de constituants organiques préexistants, d'origine animale ou végétale. Elle s'oppose à la notion d'autotrophie. Les hétérotrophes sont contraints de se procurer leur matière organique en la prélevant sur d'autres organismes, soit vivants (prédateurs, parasites, commensaux), soit morts (nécrophages), ou encore sur les restes d'autres êtres vivants (saprophytes).

**Incubation** : période de développement ou de multiplication d'entité biologique vivante telles que les virus, bactéries, œufs. C'est le passage d'une culture dans une étude bactériologique. Le terme couvaion sous-entend une transmission de chaleur ou d'énergie de l'incubateur vers l'entité incubée. Il existe des appareils d'incubation artificielle pour amener à terme les embryons sans l'aide de leurs géniteurs.

**Mésophile** : organisme qui croît dans des conditions de température modérée (entre 5 et 65 °C). Classiquement, on parle de bactéries mésophiles lorsqu'elles croissent à des températures comprises entre 25 et 40 °C. Les bactéries psychrophiles vivent dans des milieux froids, et les bactéries thermophiles vivent dans des milieux chauds.

**Métabolisme** : ensemble des réactions chimiques qui se produisent au niveau d'une cellule. Il incluse l'anabolisme (biosynthèse) et le catabolisme (biodégradation).

**Méthylation** : attache ou la substitution d'un groupement méthyl sur un substrat.

**Microorganisme** : organisme d'une taille microscopique ou ultramicroscopique.

**Microniche** : position occupée par un organisme, une population ou plus généralement une espèce dans un écosystème est dite niche écologique. Une microniche est la position occupée par les microorganismes.

**Milieu de culture** : support qui permet la culture de cellules, de bactéries, de levures, de moisissures afin de permettre leur étude. Les cellules trouvent dans ce milieu les composants indispensables pour leur multiplication en grand nombre, rapidement, mais aussi parfois des éléments qui permettront de privilégier un genre bactérien ou une famille.

**Neutrophile** : organisme qui croit dans des milieux dont le pH est neutre ou proche de la neutralité. Un acidophile est un organisme qui préfère les bas pH et un basophile est un organisme qui préfère les pH élevés.

**Paroi** : élément de la structure bactérienne présent chez toutes les bactéries (sauf les Mycoplasmes) : elle leur confère notamment leur forme. Sa composition n'est pas la même d'un groupe de bactéries à l'autre. La coloration de Gram met en évidence l'aptitude de la paroi à résister ou non à l'alcool.

**Peptidoglycane** (muréine, ou mucocomplexe, ou mucopeptide) : polymère de glycosaminopeptide où la N-acétyl-glucosamine (NAG) et l'acide N-acétyl-muramique (Acide N-acétyl-muramique) sont liés par des liaisons osidiques Beta 1-4.

**Périplasme** (espace périplasmique) : zone de la paroi bactérienne, différente selon le type de paroi. C'est le lieu de nombreux phénomènes biochimiques.

**Phagocytose** : capture et l'ingestion des particules solides inertes ou vivantes du milieu ambiant. Elle se fait par étapes : l'adhésion, l'ingestion et éventuellement la digestion de particules de diamètre microscopique, puis par le rejet des déchets.

**Photosynthèse** : processus bioénergétique qui permet aux organismes de synthétiser leur matière organique en exploitant l'énergie solaire. C'est la fabrication de matière carbonée organique à partir d'eau et de carbone minéral (CO<sub>2</sub>) en présence de lumière.

**Phylum** : deuxième rang principal de la systématique classique des espèces vivantes venant après le Règne (Regnum) et avant la classe.

**Procaryote** : (du latin *pro*, «avant» et du grec *caryon*, «noyau») être vivant dont la structure cellulaire ne comporte pas de noyau ni d'autres organites.

**Respiration cellulaire** : dégradation des molécules organiques grâce à des transferts d'électrons ce qui libère de l'énergie. C'est des réactions d'oxydo réduction ou redox où le ou les électrons passent d'un réactif à un autre. Les électrons arrachés à la molécule donneur d'électrons, sont transférés (réduction) aux cofacteurs  $\text{NADH} + \text{H}^+$  ou, plus rarement,  $\text{NADPH} + \text{H}^+$ , puis sont transférés à l'accepteur final d'électrons. Dans la respiration anaérobie, les électrons passent sur une chaîne de transporteurs dont l'accepteur final est une substance minérale autre que le dioxygène, contrairement à une respiration aérobie où l'accepteur final est du dioxygène.

**Souche** : population d'une espèce pouvant engendrer une population fille c'est à dire les ancêtres d'une population.

**Spore** : transformation cellulaire permettant aux bactéries de résister et de subsister dans des conditions de stress environnemental, chimique ou physiques extrêmes, tels que des niveaux élevés de rayonnement UV, les rayons gamma, les détergents, les désinfectants, une forte chaleur ou pression et à la dessiccation. Les organismes producteurs de spores ou d'endospores (spore intracellulaire), pourraient rester viables durant des millions d'années.

**Substratum** : surface solide souvent désignant une surface colonisée par les microorganismes.

**Synergie** : du grec *synergos* ; avec, et *œuvre* ; travailler ensemble) est un effet positif de complémentarité dans une organisation. La synergie est communément un phénomène par lequel plusieurs facteurs ou influences agissant ensemble créent un effet plus grand que la somme des effets attendus s'ils avaient opéré indépendamment, ou créent un effet que chacun d'entre eux n'aurait pas créé isolément.