



# BIODÉTÉRIORATION DES MATÉRIAUX

**C. LEMAITRE, N. PÉBÈRE et D. FESTY**

Préface de G. BÉRANGER et F. DABOSI



7, avenue du Hoggar  
Parc d'Activités de Courtabœuf, B.P. 112  
91944 Les Ulis cedex A, France

## Ouvrages déjà parus

- ◆ ***Corrosion et protection des métaux***  
G. Béranger et F. Dabosi  
(Les Houches, 1981) Éditions du CNRS, Toulouse, 1982
- ◆ ***Corrosion des matériaux à haute température***  
G. Béranger, J.C. Colson et F. Dabosi  
(Piau Engaly, 1985) Les Éditions de Physique, Les Ulis, 1987
- ◆ ***Traitements de surface et protection contre la corrosion***  
S. Audisio, M. Caillet, A. Galerie et H. Mazille  
(Aussois, 1987) Les Éditions de Physique, Les Ulis, 1989
- ◆ ***Caractérisation des Surfaces - Matériaux, méthodes et technologies***  
R. Caplain et D. David  
(St Valéry/Somme, 1988) Eyrolles, Paris, 1988
- ◆ ***Les Aciers Inoxydables***  
P. Lacombe, B. Baroux et G. Béranger  
(St Jorioz, 1989) Les Éditions de Physique, Les Ulis, 1990
- ◆ ***Corrosion sous contrainte - Phénoménologie et mécanismes***  
D. Desjardins et R. Oltra  
(Bombannes, 1990) Les Éditions de Physique, Les Ulis, 1992
- ◆ ***Corrosion localisée***  
F. Dabosi, G. Béranger et B. Baroux  
(Banyuls, 1992) Les Éditions de Physique, Les Ulis, 1994

### Illustration de couverture

Photo de Jean-Louis CROLET. Piqûres dans une conduite d'eau de production.  
F. Dabosi, G. Béranger et B. Baroux Édts, dans *Corrosion localisée*,  
Les Éditions de Physique, Les Ulis, 1994, p. 424.

ISBN : 2-86883-329-2

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés, réservés pour tous pays. La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective », et d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite » (alinéa 1<sup>er</sup> de l'article 40). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du code pénal.

© EDP Sciences 1998

## LISTE DES AUTEURS ET DES CORRECTEURS

AMALHAY M.  
ABOU AKAR A.  
BEECH I.B.  
BENAÏSSA B.  
BÉRANGER G.  
CABRILLAC C.  
COMPÈRE CH.  
CORDONNIER J.  
COTICHE C.  
CROLET J.-L.  
DESLOUIS C.  
DEVILLE J.-P.  
DUVIVIER L.G.  
DEJONCKHEERE P.  
FÉRON D.  
FESTY D.  
FLEMMING H.-C.  
GAYLARDEL C.  
GOUDIAKAS J.  
HILAIRE D.

IGNATIADIS I.  
LEGRIS C.  
LEMAITRE C.  
LEMOINE L.  
LÉVI Y.  
MAGOT M.  
MICHAUT C.  
NOËL D.  
PÉBÈRE N.  
RAGAUT I.  
RAMEAU J.-J.  
ROQUEBERT M.-F  
SCHWARTZ F  
SEBELIN A.  
TACHÉ G.  
TAPPER R.  
THIERRY D.  
TRÉMILLON J.-M.  
VANMAELE R.



Participants et conférenciers à l'école thématique « Biodétérioration des matériaux »  
Saint-Avit-de-Vialard (octobre 1995)

## AVANT-PROPOS

Cet ouvrage est le fruit du concours de nombreux auteurs qui ont participé aux manifestations, ayant pour thème la biodétérioration des matériaux. Ces deux rencontres, patronnées par le Centre français de l'anticorrosion (CEFRACOR), sont une école thématique du CNRS qui s'est déroulée à Saint-Avit-de-Vialard (Dordogne) en 1995 et un forum destiné aux jeunes chercheurs en 1996 à Landerneau (Finistère).

L'école « Biodétérioration des matériaux » a été conçue dans la lignée de celles ayant pour thème la corrosion. Il s'agissait de susciter le dialogue entre biologistes et spécialistes des matériaux issus de milieux universitaires et industriels, en recherchant une homogénéisation des concepts et de la terminologie. Un autre objectif était de favoriser les échanges et les interactions permettant de faire converger les idées, notamment en matière de méthodologie de la recherche, de modélisation, d'analyse des phénomènes, et de caractérisation ou estimation des effets.

Les textes de cet ouvrage s'inspirent des exposés présentés lors de ces deux manifestations. Ils ont par la suite été relus et amendés par leurs auteurs. Afin de compléter le panorama traité, des chapitres ont été ajoutés et d'autres profondément revus.

La structure de ce document est conçue en quatre grandes parties. Après avoir introduit les différentes disciplines ayant trait aux thèmes de l'école, une approche plus spécifiques des grands mécanismes de bases permet une meilleure compréhension des mécanismes en jeu. Les méthodes d'études sont ensuite décrites et détaillées. Finalement, l'exposé d'un certain nombre de cas d'espèces ainsi que de méthodes de prévention et de lutte permet d'aborder quelques implications industrielles

Nous tenons à remercier chaleureusement Messieurs Francis DABOSI et Gérard BÉRANGER d'avoir accepté de préfacer ce livre. Nous y voyons une reconnaissance de l'intérêt du sujet traité dans un cycle d'écoles thématiques qu'ils ont largement contribué à amorcer et qui, nous n'en doutons pas, se perpétuera. Qu'ils sachent que, grâce à leur action, les différentes équipes qui travaillent dans les domaines liés à la corrosion en France et en francophonie, apprécient de pouvoir disposer d'une bibliothèque de base dans laquelle on retrouve les grands principes, mais aussi les modes d'étude et d'intervention, sans oublier des aspects technologiques fort utiles lors d'applications industrielles.

## VI

Cet ouvrage n'a pu voir le jour que grâce au travail réalisé par le comité pédagogique ainsi que par les re-lecteurs qui sont mentionnés dans les pages qui suivent. Le travail de logistique, assuré par Mesdames Hassina FOUNAS, Marie Dolorès OLORY, et particulièrement Madame Valérie DUQUENNE qui a assuré le secrétariat de l'école et du livre a été grandement apprécié.

Dans la tradition des écoles thématiques du CNRS, l'aspect «tourisme, détente et culture» n'a pas été oublié, et ceci particulièrement grâce à la compétence et à la fougue de Monsieur Claude CABRILLAC qui a impressionné l'ensemble des participants par ses connaissances de l'histoire et de la préhistoire du Périgord.

Nous remercions aussi la famille LÉGER et l'ensemble du personnel du complexe hôtelier de Saint-Avit-de-Vialard qui, par leur grande disponibilité et leur compétence ont grandement facilité la vie quotidienne de tous les participants de l'école durant une semaine.

Nous ne saurons oublier bien sûr l'ensemble des institutions et sociétés qui ont soutenu cette entreprise à des titres divers et notamment le CNRS, le PIRMAT, le CEFRACOR déjà cité, l'IFREMER, ainsi que le Conseil général de Dordogne, la commune du Bugue et les sociétés ELF, SACILOR et SANOFI-Biorecherche.

C. LEMAITRE, N. PÉBÈRE et D. FESTY

## PRÉFACE

Seize ans déjà se sont écoulés depuis le lancement, à notre initiative, de la première École d'été française sur la « Corrosion et Protection des Métaux », sous l'égide du CNRS, en Septembre 1981 aux Houches avec le concours du CEFRACOR.

L'engouement suscité par cette première expérience a provoqué la réaction en chaîne espérée. Huit autres manifestations, développées dans le même esprit, ont vu le jour dont la dernière, sur la « Biodétérioration des Matériaux », organisée du 30 Septembre au 6 Octobre 1995 à Saint-Avit-de-Vialard, en Dordogne, toujours sous les auspices du CNRS et du CEFRACOR.

L'objectif de montrer le caractère riche et vivant de l'école française de Corrosion a aussi été atteint. Cela a permis de plus des échanges et collaborations fructueuses. Depuis l'école de Banyuls, en 1992, ces creusets de réflexion - qu'il s'agisse de préoccupations fondamentales ou appliquées - ont pris une dimension européenne, d'où une nouvelle source de collaboration et d'enrichissement.

Le présent ouvrage édité par Nadine PÉBÈRE, Christian LEMAITRE et Dominique FESTY, vient comme pour les écoles précédentes couronner, avec son précieux effet mémoire cette manifestation au succès avéré : plus de 73 chercheurs, enseignants, ingénieurs et techniciens, issus des milieux universitaires et industriels ont en effet participé à l'école 1995.

Ce nouveau volume enrichit la collection des ouvrages qui, au fur et à mesure du déroulement de ces écoles, sont autant de témoignages de la richesse des échanges et interactions suscités durant une dizaine de jours. Le synoptique suivant rappelle les étapes de notre volonté de concrétiser par ces éditions l'état des connaissances dans chacun des domaines de cette discipline complexe.

Convivialité, confrontation d'idées et de compétences variées, recherche d'une homogénéisation des concepts et du langage scientifique, actualisation des connaissances, vertu des rappels et mises au point pédagogiques sur les mécanismes de base, énoncé des méthodologies de recherche, analyse et modélisation des phénomènes, caractérisation et estimation des effets, moyens de protection, étude de cas et normalisation : autant d'éléments majeurs présents dans l'ouvrage proposé.

## VIII

À ces caractères essentiels et communs aux écoles « Corrosion » s'ajoute, pour celle de Saint-Avit-de-Vialard une spécificité qui, justifie le choix du thème « Biodétérioration des Matériaux ». Par essence pluridisciplinaire, le domaine couvert est au confluent de deux spécialités, au sein de la corrosion et de la microbiologie, aux approches trop longtemps séparées, tant au niveau des concepts qu'à ceux des méthodologies d'étude et d'estimation. Ce n'est pas l'un des moindres mérites des organisateurs et éditeurs d'avoir su faire cohabiter et interagir les représentants de ces deux mondes scientifiques jusqu'alors si peu mélangés, comme en témoignent les publications dans des revues scientifiques propres à chacune de ces deux disciplines. Que tous les acteurs de cette dernière école et donc les auteurs de cet ouvrage soient remerciés et félicités.

L'émulation, sans cesse réactivée grâce à la périodicité régulière des écoles, a créé une dynamique nationale assurant le relais entre générations et favorisant l'émergence de nouveaux thèmes, ou la reprise de thèmes déjà abordés, grâce aux apports les plus récents. C'est ainsi que d'ores et déjà, de nouvelles écoles se profilent à l'horizon : septembre 1998 verra, par exemple le « Club Rhône-Alpes » (S. AUDISIO, M. CAILLET, A. GALERIE et H. MAZILLE) prendre en charge une nouvelle session sur les traitements de surface dans un esprit pluridisciplinaire.

Qu'il soit permis aux pionniers de ces rapprochements de se sentir tout à la fois honorés et émus d'avoir fait « école »...

Gérard BÉRANGER et Francis DABOSI

## SOMMAIRE

Liste des auteurs et correcteurs .....	III
Avant-propos des éditeurs scientifiques .....	V
Préface de G. BÉRANGER et F. DABOSI .....	VII

### **PREMIÈRE PARTIE**

#### **Introduction à la multidisciplinarité**

<b>Chapitre 1 : Introduction à la corrosion aqueuse des métaux</b>	
J.-L. CROLET .....	3
<b>Chapitre 2 : Introduction à la microbiologie des bactéries</b>	
M. MAGOT .....	27
<b>Chapitre 3 : Corrosion des polymères</b>	
J.-M. TRÉMILLON .....	47
<b>Chapitre 4 : Introduction à la biologie des moisissures</b>	
M.-F. ROQUEBERT .....	59

### **DEUXIÈME PARTIE**

#### **Mécanismes de base**

<b>Chapitre 5 : Biofilms</b>	
H.-C. FLEMMING .....	71
<b>Chapitre 6 : Corrosion bactérienne des métaux</b>	
D. FÉRON et D. THIERRY .....	89
<b>Chapitre 7 : Biodétérioration des polymères</b>	
D. HILAIRE .....	103
<b>Chapitre 8 : Corrosion bactérienne des bétons</b>	
G. TACHÉ .....	115

**TROISIÈME PARTIE****Approches expérimentales**

<b>Chapitre 9 : Microbiological methods for the study of biocorrosion</b> I.B. BEECH, R. TAPPER et Ch. GAYLARDEL .....	129
<b>Chapitre 10 : Bactériocidie et bactériostase</b> M. MAGOT .....	145
<b>Chapitre 11 : Les techniques d'investigations électrochimiques de la corrosion et de son inhibition</b> C. DESLOUIS et C. MICHAUT.....	155
<b>Chapitre 12 : Méthodes d'analyse des surfaces</b> J.-P. DEVILLE .....	175

**QUATRIÈME PARTIE****Lutte contre la biodétérioration**

<b>Chapitre 13 : Protection cathodique et biofilm</b> C. COMPÈRE et L. LEMOINE .....	195
<b>Chapitre 14 : Études de cas sur réseaux d'eau potable</b> J. CORDONNIER et Y. LÉVI .....	211
<b>Chapitre 15 : Biodétérioration des matériaux dans les circuits de refroidissement</b> J. GOUDIAKAS, A. SEBELIN et F. SCHWARTZ .....	219
<b>Chapitre 16 : Analyse et conséquences de la prolifération bactérienne dans les puits géothermiques du Bassin de Paris</b> I. IGNATIADIS, M. AMALHAY, A. ABOU AKAR et C. COTICHE .....	231
<b>Chapitre 17 : La corrosion des structures métalliques dans les ports maritimes</b> B. BENAÏSSA .....	259
<b>Chapitre 18 : Biodétérioration dans l'industrie pétrolière</b> J.-L. CROLET .....	267
<b>Chapitre 19 : Étude de cas de prolifération bactérienne dans le circuit de réfrigération auxiliaire d'une centrale électrique</b> L. DUVIVIER, P. DEJONCKHEERE et P. VANMAELE .....	281
<b>Chapitre 20 : Étude de cas de corrosion bactérienne dans les industries nucléaires</b> D. NOËL .....	295
Adresses des auteurs .....	307

*Première partie*

# **Introduction à la multidisciplinarité**

J.-L. CROLET

M. MAGOT

J.-M. TRÉMILLON

M.-F. ROQUEBERT



# Chapitre 1

## Introduction à la corrosion aqueuse des métaux

Jean-Louis CROLET

**Résumé.** La corrosion aqueuse des métaux est un mode complexe de détérioration dont la compréhension nécessite une approche multidisciplinaire, mais qui s'appuie essentiellement sur l'électrochimie : pouvoir oxydant, représentation des phénomènes... Dans ce chapitre, sont abordés les aspects électrochimiques de la corrosion et le principe des méthodes expérimentales qui en découlent. Différentes formes de corrosion font ensuite l'objet de développements particuliers : la corrosion uniforme, la résistance à la corrosion et la passivité, la corrosion sous dépôts, la corrosion galvanique, la corrosion cavernueuse, la corrosion par piqûres et la corrosion sous tension. Dans ces processus, le rôle des bactéries se borne à une modification de la physico-chimie du milieu.

### I. Préambule

#### 1.1 La nécessaire multidisciplinarité

L'eau est le constituant principal de tout être vivant. Beaucoup d'entre eux ne peuvent même vivre que dans l'eau, qu'ils modifient localement à la fois par leurs prélèvements et par leurs rejets. Enfin, la vie se développe uniquement à "basse" température, c'est-à-dire pour la plupart de ces êtres en dessous de 100°C, et en tout état de cause en dessous de la limite théorique attendue vers 150°C.

Or, dans cette gamme de température, l'eau et les milieux aqueux constituent le milieu corrosif par excellence des métaux. Il est donc naturel qu'il y ait interaction entre la vie et la corrosion. Toutefois, ce n'est jamais l'être vivant lui-même qui corrode, mais les modifications qu'il apporte au milieu corrosif où il vit [ 1 ].

Il n'existe que quelques cas d'interactions liées à des espèces supérieures, par exemple en milieu marin entre balanes et aciers inoxydables [1], ou entre vers et alliages d'aluminium. La plupart des interactions avec les métaux concernent en effet des micro-organismes et spécifiquement des bactéries, d'où le terme de "corrosion bactérienne" (en anglais microbial corrosion ou microbially induced corrosion: MIC). La seule façon simple de comprendre la corrosion bactérienne est de dissocier la question en trois étapes:

- interaction entre la corrosion et le milieu corrosif: c'est le travail du corrosionniste,
- interaction entre les bactéries et leur biotope: c'est le travail du microbiologiste,
- relation entre ce biotope et le milieu corrosif local: c'est la corrosion bactérienne dans les "biofilms" présents sur les parois. La compréhension de cette troisième étape nécessite évidemment d'avoir accès aux deux disciplines précédentes.

Le but de ce premier chapitre est donc de présenter la première de ces interactions aussi simplement que possible, sans recourir à des connaissances préalables inutilement spécialisées. Les corrosionnistes et métallurgistes de métier seront peut-être frustrés. Toutefois, avant d'évoquer une éventuelle trop grande "simplicité" de ce premier chapitre, ils feront bien d'avoir lu les trois autres chapitres d'introduction respectivement à la corrosion des polymères et à la microbiologie des bactéries et des champignons.

En d'autres termes, il ne s'agit pas ici d'approfondir les quatre disciplines impliquées dans la biodétérioration des matériaux. La nécessaire multidisciplinarité implique en effet que chacun reste dans sa propre discipline, et ne rêve pas d'exercer celle des autres. En revanche, il est impératif qu'il puisse comprendre la discipline des autres. Cela implique un effort pédagogique de chacun.

En particulier, cette introduction à la corrosion s'est volontairement limitée aux aspects qui peuvent être nécessaires à la compréhension de la corrosion bactérienne. Il existe également bien d'autres phénomènes, dérivés à des degrés divers de ceux que l'on verra, mais n'apparaissant que dans des milieux où toute vie est impossible (milieux chauds, acides ou alcalis concentrés), ou encore où les biofilms sont rendus impossibles par abrasion, agitation, etc. Cette introduction se veut donc aussi claire que possible, mais en aucun cas exhaustive.

## 1.2 L'incontournable électrochimie

Pour le profane, ou tout simplement pour celui qui subit la corrosion, celle-ci se décrit *a priori* de trois manières :

- par le faciès : corrosion uniforme, corrosion par piqûres, corrosion cavernueuse (dans les interstices), corrosion fissurante, etc...;
- par la cause : corrosion par  $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $H_2S$ ,  $H_2SO_4$ ,  $HCl$ ,  $NaOH$ ,  $NaCl$ , etc ;
- par le dommage : perte progressive d'épaisseur (en mm/an), ou son inverse la durée de vie, percement (en 1 nuit, 1 mois ou 5 ans), fissuration (lente ou foudroyante), etc...

Cette apparente simplicité recouvre en fait une situation inextricable. En effet, toutes les combinaisons peuvent exister, sans aucun lien logique entre elles. Dans la réalité, il faut donc soigneusement distinguer l'analyse d'un problème de corrosion, qui est en partie celle ci-dessus, et l'analyse des phénomènes de corrosion eux-mêmes. Or ces derniers ne peuvent être présentés simplement que dans une approche électrochimique, car c'est précisément là le fondement de la corrosion aqueuse. Certes, cette approche électrochimique est souvent redoutée du profane, ou perçue comme étrangère à son problème. En réalité, il s'agit là pour l'essentiel d'un problème de communication, et pour beaucoup le résultat des tâtonnements d'une pédagogie qui a mis longtemps à se trouver [2]. En fait, il n'y a pas plus simple que l'électrochimie, dès lors que l'on ne s'ingénie pas à la compliquer inutilement.

## II. Les aspects électrochimiques de la corrosion

### II.1 Nature électrochimique de la corrosion

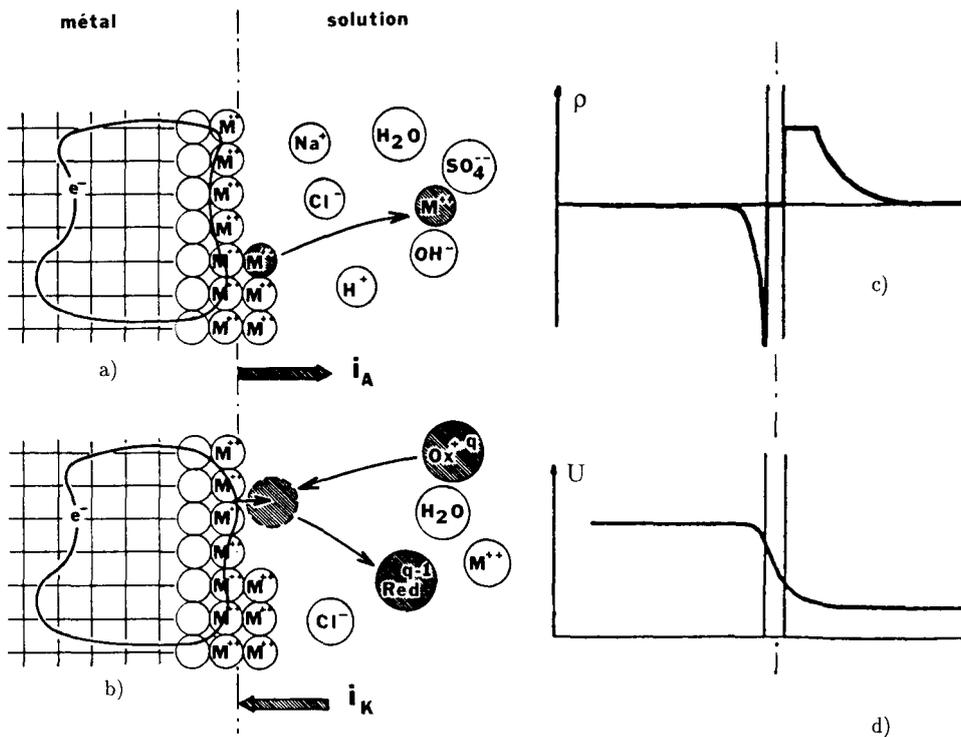
La nature électrochimique de la corrosion est liée à la structure atomique et électrique de la matière [2]. En effet, cette dernière est constituée de particules élémentaires porteuses de charges électriques, les ions et électrons, et de particules électriquement neutres, les atomes et les molécules.

La phase métallique solide comprend ainsi (Fig.1) :

- des ions métalliques  $M^{n+}$ , disposés suivant un empilement compact rigide: c'est le réseau cristallin;
- des électrons de conduction  $e^-$ , libres de se déplacer n'importe où dans le volume du métal. Ces électrons libres se comportent comme un gaz baignant les ions immobiles du réseau cristallin. Ils confèrent à la phase métallique les propriétés d'emploi usuelles des métaux, et en premier lieu leur très grande conductibilité électrique.

La phase aqueuse est un liquide, c'est-à-dire un empilement compact déformable et compressible qui comprend :

- des molécules neutres, eau et composés divers non dissociés;
- des ions positifs (cations) ou négatifs (anions); c'est la mobilité de ces ions qui confère à l'eau sa conductibilité électrique.



**Figure 1** : structure atomique et électrique de l'interface métal-solution : a) réaction anodique, b) réaction cathodique, c) distribution des charges électriques, d) distribution du potentiel électrique

Les ions métalliques  $M^{n+}$  sont des constituants à la fois de la phase métallique et de la phase aqueuse. A l'interface entre les deux phases, ils peuvent donc passer indifféremment d'une phase à l'autre. Ce transfert correspond à un transport de charges électriques, et donc à un courant électrique passant d'une phase à l'autre (Fig. 1a).

Par contre, les électrons libres ne sont pas des constituants de la phase aqueuse. Un électron libre ne peut donc pas passer directement dans cette phase. Il ne peut le faire que s'il est fixé sur une des particules élémentaires de la phase aqueuse. Cette particule verra alors sa charge électrique diminuée d'une charge élémentaire. En termes de chimie, cette opération correspond à une réduction de l'espèce chimique correspondante. Là encore, ce transfert de charges électriques correspond à un courant électrique circulant d'une phase à l'autre (Fig. 1b).

En électrochimie, on appelle par définition "courant anodique" un courant circulant dans le sens métal-solution et "courant cathodique" un courant circulant en sens inverse. Les réactions sont dites anodiques ou cathodiques selon qu'elles correspondent à un courant respectivement anodique ou cathodique. Les réactions anodiques correspondent en termes de chimie à des oxydations, et les réactions cathodiques à des réductions.

La corrosion d'une phase métallique nécessite quant à elle le passage en solution de tous les constituants du métal, les ions et les électrons. Elle fait intervenir au minimum deux réactions distinctes et indépendantes, une réaction anodique, l'oxydation du métal, et une réaction cathodique, le transfert d'électrons avec réduction simultanée d'un constituant de la solution.

Au passage, il faut noter que ce concept physique de transfert d'électrons est profondément différent du vocable usuel en microbiologie de "donneur ou accepteur d'électrons". Ce vocable se limite en effet à un concept purement chimique d'oxydo-réduction, par échange **unitaire** de charges électroniques entre deux espèces **atomiques**. L'électron concerné est alors un électron "de valence". Toutefois, l'espèce, la réaction ou la liaison chimiques associées peuvent rester quelconques. Ici, il s'agit au contraire d'un **transfert collectif** d'électrons entre deux phases **macroscopiques** de nature différente, et les électrons de conduction d'un métal ne sont pas du tout les électrons de valence que l'on trouve dans le liquide. Un tel transfert d'électrons implique donc nécessairement la participation d'espèces électriquement chargées, c'est-à-dire des ions, un liquide qui puisse en contenir, c'est-à-dire un électrolyte, et des réactions qui puissent faire passer du courant d'un métal à un électrolyte, c'est-à-dire des réactions électrochimiques.

Pour éviter toute erreur, une fois comprise cette nature électrochimique de la corrosion, on se bornera donc à parler de courants anodique et cathodique, d'oxydation et de réduction, et plus jamais d'électrons.

## II.2 Courbes de polarisation individuelles

Le fonctionnement indépendant de l'une ou l'autre des deux réactions anodique ou cathodique transfère des charges électriques élémentaires d'une phase à l'autre. À la longue, il finit donc par générer de part et d'autre des déséquilibres électriques en sens inverse, avec excès d'un côté et manque de l'autre, d'où la constitution de charges électriques macroscopiques de signe opposé. Or ces charges ont la propriété de s'attirer, même à grande distance. Elles se répartissent donc de part et d'autre de l'interface, sous forme d'une double couche électrique (Fig.1c). Ces distributions non homogènes de charges engendrent des champs électriques locaux, et donc, comme dans un condensateur électrique, une différence de potentiel  $U$  entre le métal et la solution (Fig.1d). C'est ce que l'on appelle en abrégé le "potentiel métal-solution", ou tout simplement le "potentiel du métal" (sous-entendu: par rapport à la solution).

Réciproquement, le même fonctionnement indépendant de l'une ou l'autre des deux réactions anodique ou cathodique se traduit par des courants électriques continus  $i$ , circulant effectivement d'une phase à l'autre. Comme tout courant électrique, ceux-ci sont nécessairement sensibles à la différence de potentiel entre les deux phases. Cette sensibilité est représentée graphiquement sous forme de courbes caractéristiques courant-potentiel, appelées "courbes de polarisation individuelles" (Fig.2).

En choisissant le sens anodique comme sens positif conventionnel, l'influence d'une variation du potentiel du métal sur les courants anodique et cathodique suit alors les lois usuelles de l'électricité: une augmentation de potentiel favorise les courants positifs, et freine les courants négatifs. Sur la figure 2, la courbe anodique monte et la courbe cathodique descend.

Au total, bien que les processus élémentaires anodique et cathodique soient totalement différents et indépendants, et même séparés (à l'échelle atomique), les deux réactions anodique et cathodique partagent les mêmes interactions électriques, et la même relation avec les deux grandeurs électriques que sont le courant et le potentiel. Le courant est le paramètre expérimental direct, représentant les mouvements de charges; le potentiel est une fonction d'état également observable, et représentant globalement les distributions de charges. Bien évidemment, la distribution influence le mouvement, et le mouvement modifie la distribution.

Dans une telle interaction en boucle,  $i$  et  $U$  se trouvent donc sur un strict pied d'égalité. Il n'y a ainsi aucune raison majeure de privilégier l'un ou l'autre. Historiquement, on a d'abord mis  $i$  en abscisse, car c'était le plus facile à contrôler expérimentalement. Par la suite, l'arrivée d'appareils capables de réguler le potentiel a ravivé les séquelles conceptuelles des approches initiales via la thermodynamique d'équilibre. Les gens ont alors cru voir dans le potentiel la variable suprême, et ils ont mis  $U$  en abscisse (convention de l'électrochimie). Toutefois, la corrosion n'est pas l'électrochimie (tant s'en faut!). Aujourd'hui, la tendance internationale **en corrosion** est alors un retour au référentiel d'origine, en remettant  $i$  en abscisse. Le courant a en effet une réalité physique directe, sur laquelle on ne peut pas se tromper. Le potentiel en

revanche, n'est tout au plus qu'une fonction d'état, certes directement observable elle-aussi, mais sur laquelle on a fait et l'on fait sans doute encore beaucoup d'erreurs. Mieux vaut donc ne pas en faire l'origine de tout.

Concrètement, suivant les époques et les chapelles, on trouvera dans la littérature autant de courbes  $U(i)$  que  $i(U)$ . Il faut donc s'accoutumer à lire les deux versions.

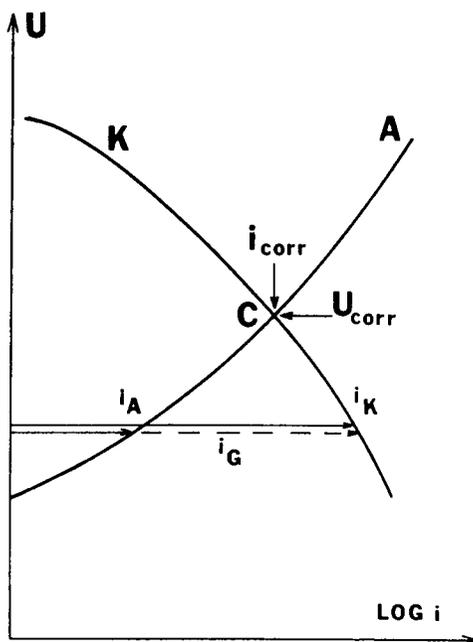


Figure 2 : courbes de polarisation individuelles anodique (A) et cathodique (K)

### II.3 Contrôle électrochimique de la corrosion

D'une manière générale en électricité, tous les courants sont additifs. Ils représentent en effet la résultante statistique d'un nombre absolument considérable d'événements individuels. Un seul ampère correspond par exemple à un flux net de quelques  $10^{18}$  charges élémentaires par seconde. Ainsi, si les processus unitaires anodique et cathodique sont séparés par des distances de quelques angströms ( $1\text{\AA} = 10^{-10} \text{ m}$ ) à l'échelle atomique, à l'échelle macroscopique ou même microscopique, ils coexistent nécessairement en tout point, et ce quelle que soit l'aire considérée. Il y a en effet  $10^8 \text{ \AA}^2$  dans un seul  $\mu\text{m}^2$ , et  $10^{14}$  dans un  $\text{mm}^2$ . Le courant global  $i_G$  circulant entre le métal et la solution est ainsi la résultante électrique de l'ensemble des deux réactions.  $i_G$  est donc la somme algébrique des courants anodique et cathodique  $i_A$  et  $i_K$ , ou encore leur différence en valeur absolue (Fig.2).

En l'absence de tout courant extérieur, ce qui est le cas en corrosion "naturelle", le potentiel du métal est le "potentiel de corrosion"  $U_{\text{corr}}$ , ordonnée du point de concours C des courbes A et K (Fig.2). En corrosion libre, les courants anodique et cathodique ont ainsi tous deux la même valeur absolue  $i_{\text{corr}}$ , appelée "courant de corrosion". Leurs effets électriques opposés se

compensent alors exactement. Dès lors, l'état électrique de l'interface ne peut plus évoluer, et le métal peut se dissoudre indéfiniment. Un tel équilibre dynamique est parfaitement stable, car tout écart de courant ou de potentiel tend à ramener le système vers le point C.

En résumé, la nature électrochimique de la corrosion aqueuse vient de la différence de la structure atomique entre un métal et un électrolyte. Ainsi, la "dissolution" du métal dans l'eau n'est pas un processus physique unique de dispersion dans un solvant, comme le serait la dissolution du sucre ou du sel, mais l'ensemble de deux réactions électrochimiques. La réaction anodique représente le passage en solution de la masse, et elle correspond à une oxydation du métal M en ions  $M^{n+}$ . La réaction cathodique représente le passage entre solution des électrons libres du métal, et elle nécessite la réduction concomitante d'un composant de la solution.

Les seuls éléments communs à ces deux réactions sont les grandeurs électriques U et i. En l'absence d'effet électrique imposé de l'extérieur, U prend une valeur  $U_{\text{corr}}$  bien définie, et la vitesse de corrosion du métal est reliée au courant de corrosion  $i_{\text{corr}}$  par la loi de Faraday ( $96500 \text{Coulomb} = 1 \text{ valence} \cdot \text{gramme}$ ).

Dans la pratique,  $1 \text{A/m}^2$ , ou  $0,1 \text{mA/cm}^2$ , ou encore  $100 \mu\text{A/cm}^2$  correspondent à une vitesse de dissolution de  $1,15 \text{ mm/an}$  pour l'acier et le cuivre [3].

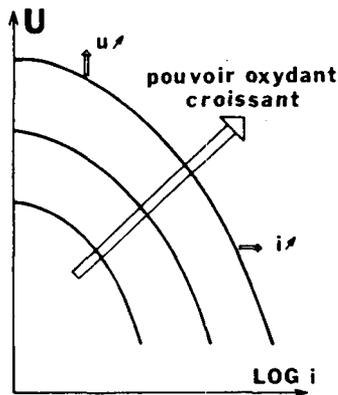


Figure 3 : signification du pouvoir oxydant d'un milieu corrosif : définition par rapport aux caractéristiques cinétiques des réactions cathodiques présentes

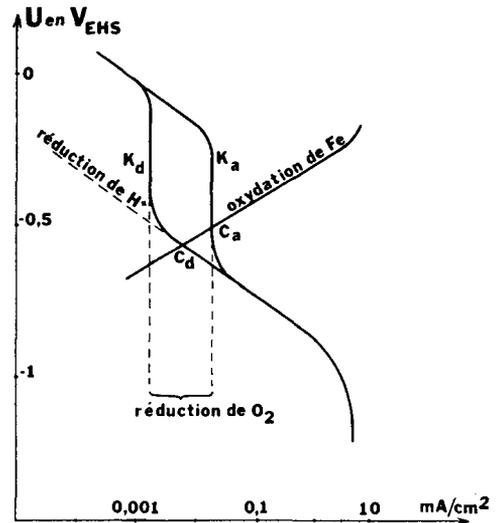


Figure 4 : pouvoirs oxydants respectifs de l'oxygène et des ions  $H^+$  pour la corrosion de l'acier dans une eau acidulée aérée (a) ou désaérée (d)

## II.4 Notion de pouvoir oxydant

Le pouvoir oxydant des milieux corrosifs est un paramètre fondamental pour la corrosion et la lutte contre la corrosion : il importe donc de bien le définir. Le pouvoir oxydant d'un milieu caractérise l'efficacité des réactions cathodiques présentes dans ce milieu (Fig.3). Le milieu est d'autant plus oxydant que le domaine d'existence de ces réactions est plus vaste, et donc s'étend vers des potentiels plus élevés, ou bien encore que pour un même potentiel, la vitesse de réaction et donc le courant cathodique sont plus grands.

La signification du pouvoir est donc double, et au total, le pouvoir oxydant d'un milieu augmente lorsque les courbes de polarisation des réactions cathodiques se déplacent dans le sens indiqué sur la figure 3.

Nous en donnerons tout de suite un exemple dans une eau plus ou moins acidulée et plus ou moins aérée, cas fréquent en corrosion bactérienne. Une telle eau comporte pour la corrosion deux espèces oxydantes, d'une part l'oxygène dissous (molécule  $O_2$ ), et d'autre part les ions  $H^+$  engendrés soit par la dissociation de la molécule d'eau  $H_2O$ , soit par la dissociation de molécules d'acides, acides forts ( $HCl$ ,  $H_2SO_4$ ), acides organiques faibles, ou gaz acides dissous ( $CO_2$ ,  $H_2S$ ).

Les réductions cathodiques de  $O_2$  et de  $H^+$  correspondent chacune à une courbe de polarisation individuelle (Fig.4), le courant cathodique total étant à chaque potentiel la somme des courants produits par les réductions respectives de  $O_2$  et  $H^+$ . La figure 4 représente le cas d'une eau stagnante, soit totalement aérée (courbe Ka), soit désaérée à 95% (courbe Kd). La dissolution anodique de l'acier ordinaire (courbe A) est elle-même peu sensible à la désaération.

On constate alors qu'en milieu aéré (point de fonctionnement Ca), la vitesse de corrosion de l'acier est essentiellement due à la réduction de  $O_2$ , alors qu'en milieu désaéré (point Cd), cette même vitesse de corrosion est au contraire liée à la réduction de  $H^+$ . Pour autant, il serait exagéré de parler dans le premier cas de "corrosion par l'oxygène", et dans le deuxième cas de "corrosion acide". Dans les deux cas, il n'existe qu'un seul et même phénomène, la corrosion générale uniforme de l'acier ordinaire dans l'eau. Seules l'origine et l'importance du pouvoir oxydant du milieu sont ici différentes.

En pratique, il importe dans tous les cas de bien distinguer le mécanisme de corrosion, qui est caractérisé par la dissolution anodique du métal, et le pouvoir oxydant du milieu, c'est-à-dire la nature des espèces réductibles et leur cinétique de réduction cathodique.

## II.5 Expérimentation électrochimique

### II.5.1 Mesure du potentiel U

Les voltmètres ayant deux bornes métalliques, la mesure directe du potentiel métal-solution n'est pas possible. On peut néanmoins mesurer des **variations de U**, ce qui représente en pratique le seul véritable besoin. Une électrode en équilibre thermodynamique avec son milieu immédiat représente en effet un système immuable, dont le potentiel propre  $U_R$  est peu sensible à la faible perturbation d'un courant de mesure. De telles électrodes peuvent alors être utilisées comme "référence". On mesure ainsi conventionnellement  $U-U_R$  au lieu de U, et on l'exprime en "volt par rapport à" ( $V_R$ ). Pour cela, on utilise plus particulièrement quelques systèmes bien définis [3]:

- l'électrode à hydrogène "normale" (EHN) ou "standard" (EHS), universelle ( $U_R = 0$  par convention), mais particulièrement peu pratique (platine platiné sous 1atm. d'hydrogène),
- l'électrode au calomel saturé (ECS), très pratique en milieu chloruré de laboratoire (Hg dans  $HgCl_2$  saturé, suivi d'un 2<sup>ème</sup> compartiment en KCl saturé  $U_R = 0,25V/EHN$ ),
- l'électrode Ag/AgCl, très robuste en milieu marin ( $U_R = 0,25V/EHN$  dans l'eau de mer),
- l'électrode Cu/CuSO<sub>4</sub>, en milieu sulfurique ou sensible au chlorure ( $U/R = 0,30V/EHN$ ).

En général, chacun utilise toujours la même électrode dans les mêmes études, et les problèmes de conversion sont peu fréquents.

### II.5.2 Mesure du courant i

Pour les mêmes raisons que pour la mesure du potentiel, tout courant imposé nécessite une électrode auxiliaire (le platine est particulièrement pratique pour cela, mais tout conducteur métallique incorrodable convient). On mesure alors directement sur le circuit électrique extérieur reliant les deux électrodes.

### II.5.3 Tracé des courbes de polarisation

On utilise pour cela un appareil appelé "potentiostat". C'est un asservissement à 3 électrodes et 2 circuits (Fig.5), un circuit de mesure du potentiel, à très faible courant, et un circuit d'application du courant. Une régulation électronique assure le courant nécessaire pour obtenir tout potentiel  $U$  demandé. Ceci montre au passage que même pour un potentiostat,  $U$  est une fonction de  $i$ .

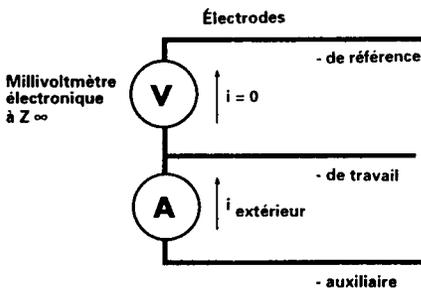


Figure 5 : dispositif pour tracer les courbes de polarisation expérimentales (potentiostat)

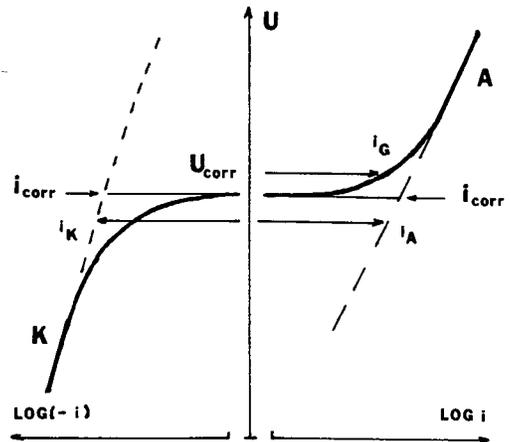


Figure 6 : schéma d'une courbe de polarisation expérimentale

Naturellement, un tel dispositif ne mesure pas les courbes de polarisation individuelles de la figure 2, mais uniquement la courbe de polarisation globale  $U(i_G)$ . Toutefois, en échelle logarithmique,  $\log|i_G|$  représente très vite  $\log|i_A|$  ou  $\log|i_K|$  dès lors que l'un ou l'autre devient prépondérant:

$$i_G = i_A + i_K$$

$$\log|i_G| = \left(1 - \frac{|i_A|}{|i_K|}\right) \log|i_K| \quad \text{ou} \quad \left(1 - \frac{|i_K|}{|i_A|}\right) \log|i_A|$$

La figure 6 illustre cet effet de l'addition algébrique sous logarithme. Contrairement à la figure 2, qui représentait les seules valeurs absolues des courants, le sens des courants est ici représenté conventionnellement, en mettant les sens anodique et cathodique de part et d'autre de l'axe des  $U$ . Dès que la courbe expérimentale globale  $U(i_G)$  s'écarte sensiblement du potentiel de corrosion, elle devient aussitôt une excellente approximation des deux courbes individuelles  $U(i_A)$  et  $U(i_K)$ .

## II.6 Représentation électrochimique des phénomènes de corrosion

Dans les problèmes concrets de lutte contre la corrosion, il n'est pas toujours possible de conduire l'expérimentation comme on vient de le voir, c'est-à-dire suivant des voies électrochimiques tendant à obtenir directement les données des figures 2 et 6. On est alors souvent contraint de recourir aux méthodes plus traditionnelles, par exemple les essais en immersion dans le milieu réel d'utilisation (mesures de pertes de masse).

Cependant, même dans ce dernier cas, il est toujours nécessaire d'avoir une représentation électrochimique des phénomènes de corrosion. Le schéma électrochimique correspond en effet à la nature profonde des phénomènes, et malgré son caractère initial abstrait, c'est ce schéma qui paradoxalement permet la représentation la plus simple... et également la plus sûre.

## III. La corrosion uniforme

Cette forme de corrosion représente certainement le cas le plus important. Tout d'abord, c'est de loin le cas le plus fréquent, même si c'est rarement le plus dangereux. Ensuite, c'est à travers lui que s'expriment les trois modes naturels de résistance à la corrosion, l'inertie chimique, la passivité et les dépôts de corrosion protecteurs.

### III.1 Dissolution d'un métal nu

Dans un certain nombre de circonstances, les produits de corrosion sont suffisamment solubles pour ne pas précipiter à la surface du métal, laissant ainsi un libre accès du liquide en tout point de la surface métallique. Dans ce cas, comme indiqué sur la figure 2, la corrosion est pilotée par le seul équilibre électrique des réactions anodique et cathodique. L'expression de cette figure 2 dépend alors de la forme effective des courbes de polarisation.

#### III.1.1 Polarisation d'activation

Comme toute cinétique irréversible, les réactions électrochimiques sont thermiquement activées, avec une dépendance de  $i$  en  $\exp(-Q/RT)$ .  $Q$  est l'énergie d'activation, en kJ ou kcal par mole, et  $R$  est la constante des gaz parfaits. En divisant tout par le nombre d'Avogadro  $N$ ,  $Q$  peut aussi s'exprimer en électron-volt par molécule.  $R$  est alors remplacé par la constante de Boltzmann ( $k=R/N$ ) :

$$i = i_0 \exp\left(\frac{-Q(J)}{RT}\right) = i_0 \exp\left(\frac{-Q(eV)}{kT}\right)$$

Dans une réaction électrochimique, les charges élémentaires sont transférées une par une. Le transfert le plus lent détermine la vitesse de la réaction globale. Ce stade déterminant la vitesse intervient donc ici pour une charge unitaire "quelque part" le long de la différence de potentiel  $U$  entre le métal et la solution. L'énergie d'activation  $Q$  comporte donc nécessairement un terme d'énergie électrique, en  $\pm\alpha U$  ( $0 < \alpha < 1$ , et souvent  $\alpha \sim 1/2$ ). En électrochimie, "l'activation thermique à température constante" se traduit donc par une dépendance de  $i$  vis-à-vis du potentiel :

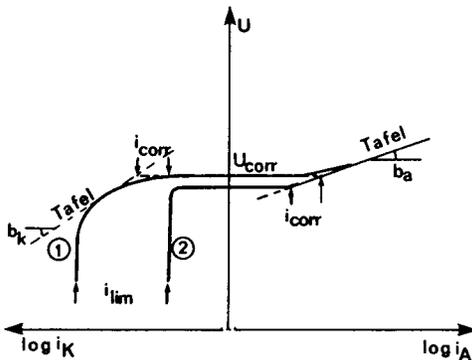
$$i = i_0 \exp\left(\frac{\pm\alpha U}{kT}\right)$$

En inversant la fonction, ceci s'écrit alors :

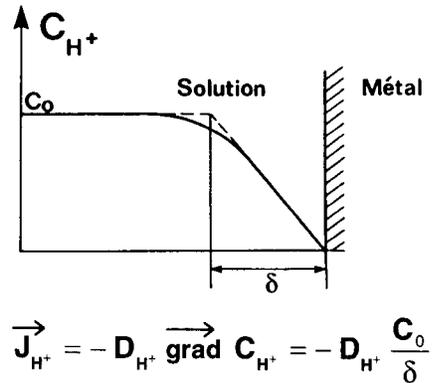
$$U = a \pm b \log i$$

avec  $b = 2,309 \text{ kT}/\alpha$

En échelle logarithmique, les courbes de polarisation sont donc des **droites dites de Tafel** (Fig.7). D'où l'intérêt tout particulier du "référentiel de Tafel"  $U=f(\log i)$ . A température ambiante, la pente  $b$  des droites de Tafel prend très souvent des valeurs caractéristiques: à 30°C, 60mV pour  $\alpha=1$  et 120mV pour  $\alpha=1/2$ . Les réductions de  $O_2$  et  $H^+$  correspondent effectivement à 120mV, et la dissolution du fer à pH neutre à 60mV (ou 40mV en milieu plus acide).



**Figure 7** : exemple de courbe de polarisation expérimentale



**Figure 8** : épuisement local de l'oxydant en polarisation de diffusion

Au passage, on notera que la position de la droite de Tafel anodique dans la figure 7 n'est définie que par la constante "préexponentielle"  $a$  de l'équation  $U = a + b \log i$ . Elle n'est donc en aucun cas reliée à une quelconque grandeur de thermodynamique d'équilibre. De toutes manières, dès lors que la teneur en produits de corrosion est en général inconnue, et de plus éminemment variable, le "potentiel redox" d'un métal et le "courant d'échange"  $i_0$  du système redox  $M/M^{n+}$  restent indéterminés dans la plupart des problèmes de corrosion. En fonction de la teneur effective en ions  $M^{n+}$  au contact du métal, le point représentatif de ce système redox n'est finalement qu'un simple point mobile le long de la courbe anodique. Il n'y a donc pas lieu de lui attribuer une quelconque importance.

### 3.1.2 Polarisation de diffusion

Dans un liquide, la convection représente une capacité de transport infinie par rapport aux flux impliqués dans les réactions de corrosion. Toutefois, entre le liquide convectif et le métal, il existe une couche limite laminaire qui ne peut être traversée que par diffusion. Or la diffusion, même en phase liquide, est un processus de transport relativement lent. Pour l'évacuation des produits de corrosion, cela peut entraîner des enrichissements locaux conduisant à des précipitations (voir §3.3). Pour l'apport des réactifs de la réaction cathodique, cela peut entraîner à l'inverse des épuisements locaux. Ceci est particulièrement fréquent pour  $H^+$ , dont le coefficient de diffusion est certes un peu plus élevé que les autres, mais dont la concentration est particulièrement faible à  $pH > 3$ .

Lorsque l'épuisement local est total (Fig.8), tout réactif qui arrive est immédiatement transformé. La cinétique cathodique est alors limitée par le flux de diffusion  $J_{H^+}$  et entièrement déterminée par lui. La courbe de polarisation cathodique devient ainsi une droite verticale (Fig.7), avec un courant totalement indépendant du potentiel.

Lors de la transition entre les polarisations d'activation et de diffusion, le raccordement entre les deux droites est définie par la "correction de Levich" [4] :

$$i_K^{-1} = i_{Tafel}^{-1} + i_{lim}^{-1}$$

En corrosion bactérienne, le cas des acides faibles mérite une attention particulière. En effet, un acide fort étant entièrement dissocié, le renouvellement local des ion  $H^+$  ne peut intervenir que par diffusion directe de  $H^+$ . Au contraire, dans un acide faible HX à un pH proche ou inférieur à son  $pK < pH < pK+1$ , les ions  $H^+$  et la molécule HX coexistent ( $HX \rightleftharpoons H^+ + X^-$ ). Un surplus de renouvellement des ions  $H^+$  peut alors intervenir par diffusion de HX, puis dissociation in-situ. Il en résulte qu'à un même pH, le courant limite apparent, et donc avec lui le pouvoir oxydant de  $H^+$  augmentent lorsque l'on passe de HCl aux acides lactique et acétique ( $pK$  resp. 3,7 et 4,7) ou même à un acide très faible comme  $H_2S$  ( $pK \sim 6,6$ ). Pour  $CO_2$  en outre, la concentration en  $CO_2$  dissous non hydraté est à nouveau très supérieure à celle de l'acide carbonique. En présence de  $CO_2$  dissous, le pouvoir oxydant de  $H^+$  peut alors rester très élevé à tout pH.

D'une manière générale enfin, les effets de polarisation de diffusion se rencontrent avec tout oxydant en concentration faible. C'est le cas notamment de l'oxygène, même en milieu parfaitement aéré.

### III.1.3 Résistance de polarisation

Mathématiquement, une polarisation de diffusion n'est jamais qu'une droite de Tafel de pente  $b$  infinie. Autour du point de corrosion libre, dès lors que les deux réactions anodique et cathodique suivent une loi exponentielle pure, on peut écrire en normalisant les potentiels et les courants:

$$i = i_A + i_K = i_{corr} \left[ \exp\left(+2,3 \frac{U - U_{corr}}{b_A}\right) - \exp\left(-2,3 \frac{U - U_{corr}}{b_K}\right) \right]$$

L'intérêt de cette écriture est que la dérivée d'une exponentielle contient la même exponentielle :

$$\left( \frac{di}{dU} \right)_{U_{corr}} = R_p^{-1} = B^{-1} \cdot i_{corr}$$

avec :  $B^{-1} = 2,3(b_A^{-1} + b_K^{-1})$

Expérimentalement, dans un domaine de quelques mV autour de  $U_{corr}$ , la pente  $dU/di$  de la courbe de polarisation, qui a les dimensions d'une résistance, se trouve donc être inversement proportionnelle à la vitesse de corrosion uniforme  $i_{corr}$ . Or la mesure de cette "résistance de polarisation"  $R_p$  ne prend que quelques minutes. Elle permet alors une détermination "instantanée" et totalement "non destructrice" de la vitesse de corrosion, à travers l'équation de Stern-Geary :

$$i_{corr} = B \cdot R_p^{-1}$$

Pour des pentes  $b_K$  de 120mV ou l'infini, et des pentes  $b_A$  de 40 à 60mV,  $B$  ne peut varier qu'entre 13 et 26mV. Même sans connaître exactement  $b_A$  ou  $b_K$ , on ne fait donc jamais d'erreur grossière en utilisant un  $B$  "conventionnel" de 20mV. C'est ce que font tous les "corrosimètres" du commerce, même s'ils n'ont pas tous le même  $B$ .

Inversement, si l'on recherche la précision, il faut savoir que l'équation de Stern-Geary n'est applicable qu'en situation de polarisation cathodique purement d'activation ou de diffusion. En cas de contrôle mixte faisant appel à la correction de Levich, B n'est plus ni calculable, ni même "calibrable" [5]. B se met en effet à dépendre du rapport  $i_{\text{cor}}/i_{\text{lim}}$ , et il peut varier de ce fait à chaque expérience.

### III.1.4 Notion de résistance à la corrosion

Le vocable même de corrosion signifie que le phénomène concerné est ressenti comme potentiellement dommageable par quelqu'un. Or cette notion de dommage dépend fondamentalement de chaque application. En pharmacie par exemple, la contamination d'un produit est sensible à des vitesses de dissolution très faibles, alors que la ruine d'une structure ou le percement d'une capacité demanderont beaucoup plus. Dans ces deux derniers cas, des vitesses de dissolution inférieures à 0,1 mm/an deviennent très clairement négligeables, et leurs variations relatives sans aucun intérêt. A ce niveau, une telle dissolution résiduelle n'est pas une "corrosion", mais une "absence de corrosion". À l'opposé, au-dessus de 1 mm/an, ce sont les durées de vie elles-mêmes qui deviennent vite négligeables, et leurs variations relatives sans intérêt.

En d'autres termes, la quantification précise des vitesses de corrosion n'a d'intérêt que dans la fourchette de 0,1 à 1 mm/an: en dessous, c'est "zéro"; au-dessus c'est "trop". En pratique, quelle que soit l'unité de mesure initialement utilisée, si l'on veut garder une appréciation saine de cette mesure, il faut obligatoirement la convertir en mm/an. Après une mesure de Rp, il vaut beaucoup mieux exprimer des mm/an "conventionnels", calculés avec un B approché, que de rester avec des valeurs exactes en  $\Omega\text{-cm}^2$ , mais dont personne ne percevrait la signification.

La même recommandation vaut pour des mesures directes de  $i_{\text{cor}}$ , ou même les pertes de masse. Une "once par pied carré par semaine" a certes bien la dimension d'une vitesse de corrosion, mais qui pourrait savoir ce qui est "bon" ou "mauvais" dans une telle unité ? Pour éviter le piège, le tableau ci-dessous donne la table de conversion exacte correspondant à la référence de 1 mm/an, pour les mesures les plus usuelles sur acier et cuivre, ainsi que la valeur approchée de ce seuil de 0,1 mm/an.

		A/m <sup>2</sup>	mA/cm <sup>2</sup>	g/m <sup>2</sup> - h	mdd*	$\Omega$ - cm <sup>2</sup>	mpy**
1 mm/an	Fe	0,863	0,0863	0,890	216	~ 200	39,4
1 mm/an	Cu	0,860	0,0860	1,021	245	~ 200	39,4
0,1 mm/an	#	0,1	0,01	0,1	25	2000	4

\* mg per dm<sup>2</sup> per day ; \*\* millième de pouce par an (mil per year).

## III.2 L'inertie chimique

Pour certains métaux, la courbe anodique se situe dans des domaines de potentiels particulièrement élevés. Avec des pouvoirs oxydants usuels (Fig.3), et notamment celui de H<sup>+</sup>, les vitesses de dissolution résultante restent très faibles. C'est le cas des métaux précieux (or, platine), et surtout du nickel et de ses alliages sans chrome, Monel (30% Cu) ou Hastelloy B. (30% Mo).

À potentiel élevé, ces métaux se corrodent comme les autres, même si c'est un peu moins vite. Ainsi l'Hastelloy B résiste paradoxalement mieux à un milieu très corrosif comme HCl concentré désaéré qu'à un milieu banal comme l'eau aérée.

### III.3 La passivité

La "passivité" est une propriété électrochimique très générale. Toutefois, on appelle "métaux passivables" ceux dont l'emploi repose explicitement sur cette propriété [7]. Dans de nombreux cas, ces emplois restent très spécifiques, et nous n'en parlerons pas ici. C'est le cas notamment des alliages de Ti, Zr, Nb et Ta [7]. Dans la pratique quotidienne, les seules familles à usage général sont les alliages d'aluminium et les aciers inoxydables [8]. En milieu bactérien, nous nous limiterons cependant à ce dernier cas.

En milieu très acide, la courbe anodique commence comme sur la figure 7 : plus le potentiel augmente, plus le métal s'oxyde et se dissout vite. À force cependant, il finit par constituer directement à sa surface une très mince couche d'oxyde insoluble. Pour le fer et les aciers inoxydables, l'épaisseur de cette "couche passive" est de quelques dizaines d'angströms. Une telle couche est très protectrice. Elle inverse tout d'abord l'évolution du courant, puis elle le stabilise à de très basses valeurs, de l'ordre du  $\mu\text{m}/\text{an}$  (Fig.9). Si le pouvoir oxydant est suffisant, le potentiel libre s'établit dans le domaine passif. Il n'y a alors aucune corrosion, mais juste une dissolution résiduelle négligeable. Si le pouvoir oxydant est insuffisant, le potentiel libre s'établit dans le domaine d'activité, et il peut y avoir corrosion rapide.

La hauteur de ce pic d'activité dépend et de l'alliage (teneurs en Cr, Ni, Mo) et du pH. Pour les aciers inoxydables dans des eaux plus ou moins salées, le pic disparaît en effet totalement à partir d'une valeur seuil se situant entre pH1 et pH3 (en l'absence d' $\text{H}_2\text{S}$ ). Au-dessus de ce seuil de pH, dans tous ces milieux que l'on appellera "neutres" par extension, il est impossible d'observer une corrosion uniforme de l'acier inoxydable.

Le même effet se retrouve pour l'acier ordinaire, avec un pH de transition plutôt vers 9 - 10. Dans le béton à pH12,5, les "ronds à béton" sont passifs. Toutefois, dans la couche superficielle dont le ciment est progressivement neutralisé par le  $\text{CO}_2$  atmosphérique, les armatures repassent alors à l'état actif et se corrodent. Des évolutions inattendues de pH locaux peuvent ainsi amener des transitions passif-actif extrêmement dommageables.

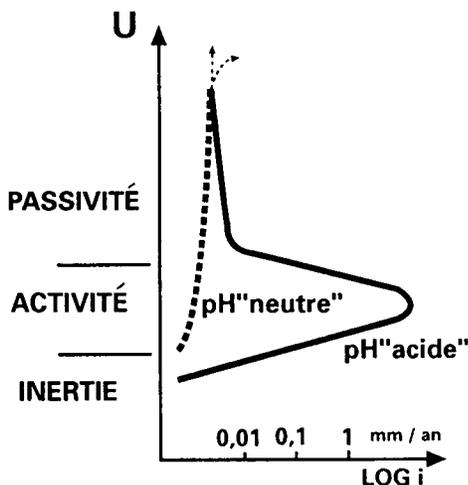


Figure 9 : courbe de polarisation anodique sur un acier inoxydable actif et passif

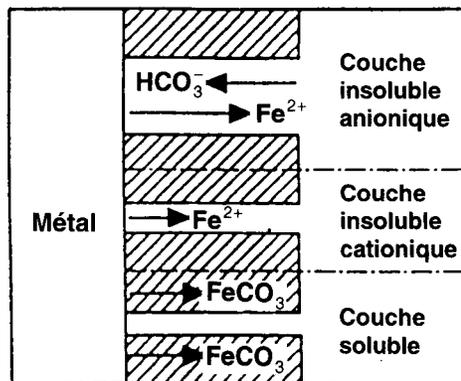


Figure 10 : les 3 types de régulation des dépôts de corrosion par transport au sein du dépôt

### III.4 Les dépôts de corrosion protecteurs

#### III.4.1 Principe général

Dès lors que les produits de corrosion précipitent à la surface d'un métal, les conditions physico-chimiques locales au sein du dépôt peuvent en être totalement perturbées:

- interaction entre la chimie de la précipitation du produit de corrosion et la chimie de la réduction du réactif cathodique. C'est particulièrement le cas pour l'acier en présence de  $\text{CO}_2$  ou  $\text{H}_2\text{S}$  (précipitation de carbonate ou sulfure de fer). C'est sans doute aussi le cas pour les réductions de  $\text{O}_2$  ou  $\text{H}_2\text{O}$  qui produisent des  $\text{OH}^-$ , et la précipitation de tout hydroxyde, oxyde ou oxysel (cas du cuivre) ;
- augmentation considérable des limitations par diffusion, aussi bien pour les réactions électrochimiques que pour les réactions de précipitation. Sur surface nue en milieu non strictement stagnant, l'épaisseur des couches limites de diffusion est en effet submicronique, alors qu'en comparaison, l'épaisseur des dépôts de corrosion dépasse couramment 100 microns.

A l'état stationnaire, la vitesse de corrosion dépend alors de l'équilibre dynamique de quatre réactions a lieu de deux : les deux réactions électrochimiques précédentes, plus en amont un transport du réactif cathodique, et en aval un transport du produit de corrosion.

La protectivité des dépôts de corrosion a souvent été constatée empiriquement, notamment pour le cuivre et ses multiples "patines". En revanche, elle n'a été que très peu étudiée en tant que telle [9].

#### III.4.2 Les trois types de dépôts

Selon le processus principal pilotant la protectivité, on distingue a priori trois types de dépôts. La figure 10 fait ainsi référence à la corrosion par  $\text{CO}_2$  de l'acier, où ces dépôts ont été tous trois observés:

- **dépôt soluble (S)**: les produits de corrosion précipitent immédiatement dans le milieu local au contact du métal, et se redissolvent à la surface extérieure des dépôts. Les porosités assurent la diffusion du réactif cathodique, mais les produits de corrosion sont évacués par le mouvement global du solide entre ses deux surfaces. Un tel dépôt est moyennement protecteur et très sensible à l'agitation.
- **dépôt insoluble cationique (IC)**: les vitesses de précipitation et de redissolution restent marginales devant la vitesse de corrosion. Les deux transports amont et aval sont alors assurés pour l'essentiel par la diffusion en phase liquide au travers des porosités. Ce dépôt ne se forme certes pas "une fois pour toutes", mais son taux de renouvellement reste toujours très faible. L'étape la plus lente est ici la diffusion du cation métallique, qui pilote soit le maintien de l'ouverture soit l'occlusion temporaire des porosités. Un tel dépôt est très protecteur et peu sensible à l'agitation.
- **dépôt insoluble anionique (IA)**: comme le précédent, ce dépôt se renouvelle très peu, et il est peu sensible à l'agitation. Cette fois, l'étape la plus lente est la diffusion de l'anion précipitable. L'épuisement local de cet anion rend les ions métalliques très solubles au contact du métal. Il peut donc exister de forts gradients de concentration en ions métalliques, et donc un fort flux et une vitesse de corrosion stationnaire importante. Un tel dépôt est donc par essence peu protecteur. En outre, en milieu  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{S}$ , l'anion précipitable est aussi celui qui tamponne l'acide du pouvoir oxydant, d'où de possibles acidifications locales [10] et un dépôt finalement "corrosif".

En résumé, la protectivité d'un dépôt de corrosion n'est pas due à la nature du solide qui précipite, mais à "l'état de surface liquide" stabilisé localement par ce dépôt.

En corrosion bactérienne, cet état et ce transport au travers des dépôts peuvent se voir notablement modifiés, dans la mesure où les bactéries se développent souvent au sein même des dépôts de corrosion [11].

### III.4.3 Courbes de pseudo-polarisation

Dans le principe même d'une polarisation imposée, le potentiostat se substitue à l'une ou l'autre des réactions électrochimiques. Les produits correspondants n'ont donc plus à être transportés à travers le dépôt, ou en tout cas pas de la même façon. Réciproquement, tout courant imposé risque de modifier instantanément la composition chimique des premiers microns d'eau immobilisée au contact du métal. Sauf exception, le tracé classique des courbes de polarisation devient ici une méthode destructrice.

Les deux seules méthodes électrochimiques non destructrices disponibles sont alors l'enregistrement de l'évolution du potentiel libre de corrosion  $U_{corr}(t)$ , et celui du courant de corrosion libre  $i_{corr}(t)$ , mesuré par résistance de polarisation. La relation potentiel-courant peut néanmoins s'étudier, même en corrosion libre, en traçant des courbes  $U_{corr}=f(i_{corr})$ , paramétrées en temps (Fig.11).

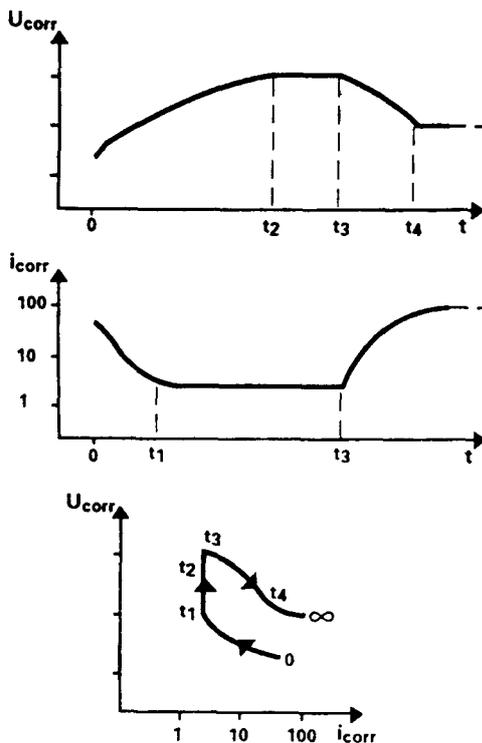


Figure 11 : principe d'une courbe de pseudo-polarisation

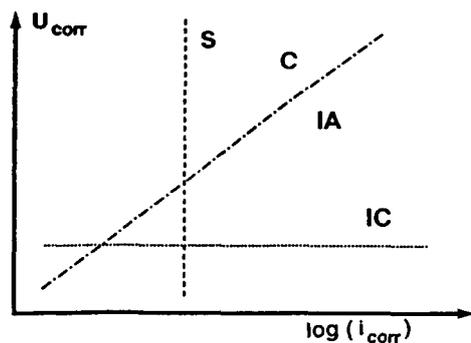


Figure 12 : identification de la nature du dépôt par la pente des courbes de pseudo-polarisation

Ces courbes de "pseudo-polarisation", ou "auto-polarisation" ont toutes les apparences d'une courbe de polarisation, mais leur lecture est différente [10]. Sur la figure 12, la courbe est ainsi horizontale pour un dépôt IC ( $U_{\text{corr}}$  constant), verticale pour un dépôt S ( $i_{\text{corr}}$  constant), et oblique pour un dépôt IA.

### III.4.4 Existence d'états stationnaires multiples

Même s'il est difficile d'exprimer des degrés d'irréversibilité, il est clair que la diffusion est un processus plus lent que l'électrochimie, et que la construction de couches massives épaisses introduit une inertie et des temps de relaxation beaucoup plus longs que de simples adsorbats de surface. Il en résulte que la manière d'atteindre des états stationnaires influe sur ces états. Il peut même exister des états stationnaires multiples [13]: il n'y a plus alors une, mais plusieurs vitesses de corrosion possibles, parfois extrêmement différentes. Avec des écarts d'un facteur 10 à 100, ceci n'est pas fait pour faciliter la prévision de la corrosion en laboratoire [13].

## III.5 Les polarisations en service

### III.5.1 Fonctionnement d'une électrode hétérogène

Tout ce qui précède concernait des métaux homogènes, considérés comme une "électrode". Pour les courants anodique et cathodique, les raisonnements étaient les mêmes en "intensité" (A) ou en "densité de courant" ( $A/m^2$ ). Tel n'est cependant plus le cas pour un métal hétérogène, ou pour l'assemblage de deux métaux différents.

Vis-à-vis de la figure 1 et de la structure atomique et électronique, la mise en contact électrique de deux métaux produit en effet une électrode métallique unique, sur laquelle il y a comme précédemment équilibre des courants anodique et cathodique. Simplement, sur une électrode hétérogène, il s'agit de l'**intensité du courant total**. Sur toute partie de cette électrode, la **densité locale de courant** peut varier, de même que la contribution relative de chaque zone au courant total. Il en résulte que s'il y a bien toujours balance globale entre l'intensité des courants totaux, il n'y a plus forcément balance locale entre les densités de courant. Certaines zones auront ainsi une résultante anodique nette, et les autres une résultante cathodique nette. Sur un métal hétérogène, on peut alors observer des anodes et des cathodes macroscopiques, avec des courants circulant de l'une à l'autre, à la fois sous forme électronique, dans le métal, et sous forme ionique dans la solution.

Les métaux industriels n'étant jamais purs (précipités, inclusions non métalliques), on verra plus loin que ces "couples locaux" jouent souvent un grand rôle dans l'initiation des corrosions localisées.

Sur le plan quantitatif, une telle réunion de deux métaux 1 et 2 se traite par le "couplage des courbes de polarisation" de chacun. Dans le cas le plus général, cela peut conduire à des figures extraordinairement complexes. Sur la figure 2 par exemple, il faut imaginer qu'il y ait au bas mot :

- 3 courbes anodiques ( $i_{A1}$ ,  $i_{A2}$  et la somme  $i_A = i_{A1} + i_{A2}$ ) ;
- 3 courbes cathodiques ( $i_{K1}$ ,  $i_{K2}$ , et  $i_K = i_{K1} + i_{K2}$ ) ;
- 3 potentiels de corrosion (potentiel de  $C_1$  et  $C_2$  pour chaque métal isolé, et de l'intersection C de  $i_A$  et  $i_K$  pour le couple) ;
- 4 courants de corrosion (courants de  $C_1$  et  $C_2$ , et courants  $i_{A1}$  et  $i_{A2}$  au potentiel C).

On voudra donc bien excuser l'absence de figure générale. On retiendra simplement que tout ce qui n'est plus dissous sur un métal l'est forcément sur l'autre. Si, par rapport aux deux métaux isolés, l'un voit sa dissolution augmenter par le couplage, l'autre la verra nécessairement diminuer :

$$U_{C_1} < U_C < U_{C_2} \quad \Rightarrow \quad \begin{array}{l} i_{A_1}(U_C) > i_{C_1} \\ i_{A_2}(U_C) < i_{C_2} \end{array}$$

Du principe général de la figure 2, il résulte en effet que le métal dont le potentiel augmente voit sa dissolution augmenter, et réciproquement. Selon l'importance que l'on attache à l'un ou à l'autre, on parlera alors de "protection cathodique" ou de "corrosion galvanique".

### III.5.2 Protection cathodique

L'acier des plates-formes pétrolières ne résiste pas à la corrosion dans l'eau de mer aérée. Pour éviter la corrosion de ces milliers de m<sup>2</sup> d'acier ordinaire, on installe ainsi quelques centaines de tonnes "d'anodes sacrificielles" en aluminium (ou en zinc, ou encore pour partie en magnésium). Leur fonction est de se dissoudre à la place de l'acier, et d'équilibrer ainsi la réduction cathodique de l'oxygène qui continue, et même au-delà, à se produire à la surface de l'acier protégé. La figure 13 illustre la distribution des courants électriques à la surface des anodes de protection et des aires protégées.

Pour des canalisations enterrées, le problème électrochimique est exactement le même. Toutefois, la résistivité des sols étant supérieure à celle de la mer, et de surcroît fluctuante, on préfère alors la "protection par courant imposé". Sur la figure 13, on utilise un générateur de courant continu, et des anodes inattaquables, par exemple en graphite ou en titane platiné.

### III.5.3 Corrosion galvanique

C'est le symétrique du cas précédent, lorsque le surcroît de dissolution porte sur une partie où il est cette fois considéré comme "dommageable". Au passage, il faut préciser que cette notion de dommage est liée à l'intensité du courant de couplage rapportée à l'aire anodique. Le rapport anode/cathode est alors un élément déterminant du risque. Pour un même couple acier au carbone/acier inoxydable dans l'eau de mer, on peut ainsi avoir des situations diamétralement opposées:

- une petite instrumentation en inox sur une grande structure en acier se trouve en situation implicite de protection cathodique, mais la grande structure en acier n'en souffre aucunement,
- un petit boulon en acier malencontreusement égaré sur une grande structure en inox peut disparaître en quelques mois, et il ne protégera même pas l'inox pour autant.

Enfin, la différence de potentiel libre entre deux métaux isolés ne préjuge en aucun cas du risque effectif de corrosion galvanique lors d'un couplage. Cette différence représente en effet la tension de la "pile" en circuit ouvert, alors que la corrosion galvanique est la conséquence du courant de cette pile en court-circuit.

## IV. Les corrosions localisées

Les corrosions localisées découlent toujours de la corrosion uniforme, par couplage galvanique entre des zones hétérogènes. Il suffit alors d'une petite anode et d'une grande cathode pour générer des vitesses de pénétration locales très importantes.

Ces hétérogénéités locales peuvent être préexistantes, dans le métal ou dans le milieu corrosif. On observe ainsi toute une panoplie d'interactions entre la corrosion et la métallurgie (corrosion intergranulaire, fragilisation du métal par l'hydrogène cathodique), la mécanique du métal (fatigue corrosion), la mécanique des fluides (corrosion-érosion, abrasion-corrosion) la mécanique des contacts (corrosion sous frottement, fretting corrosion) etc...

Il arrive aussi que l'hétérogénéité ne soit pas préexistante. Son apparition, déterministe ou aléatoire, est alors partie intégrante du mécanisme de corrosion. C'est ainsi que l'on distingue trois principaux types de corrosion localisée, la corrosion cavernreuse, la corrosion par piqûres et la corrosion sous tension.

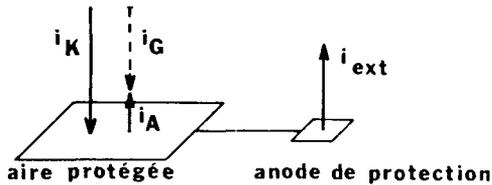


Figure 13 : principe de la protection cathodique

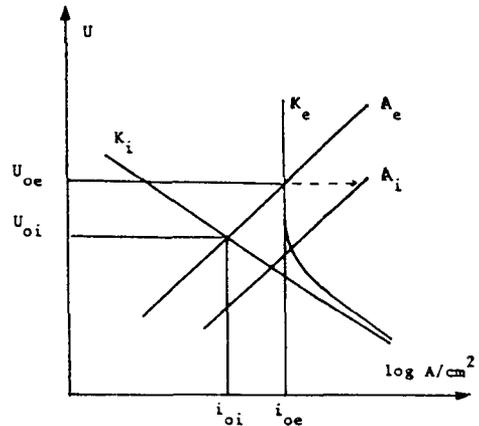


Figure 14 : pile d'aération différentielle entre l'extérieur au potentiel  $U_{oe}$  et l'intérieur désaéré dont le potentiel libre serait  $U_{oi}$

#### IV.1 Corrosion caverneuse

En service, les contacts entre des surfaces supposées planes produisent des interstices très étroits, dont la profondeur peut être de plusieurs mm, mais dont l'épaisseur est de l'ordre du centième de millimètre seulement. Il n'y a alors aucun renouvellement possible de la solution emprisonnée dans l'interstice, ni par convection ni même par diffusion.

Or le rapport volume/surface de cet interstice est très faible ( $0,001 \text{ cm}^3/\text{cm}^2$  pour une épaisseur de  $0,02 \text{ mm}$ ). En milieu aéré, le stock d'oxygène à réduire est donc extrêmement faible. Il s'épuise aussitôt par réduction cathodique sur la paroi, et disparaît en quelques secondes [14]. Ainsi, se forme quasi instantanément une "pile d'aération différentielle" entre le petit interstice désaéré et la surface extérieure en milieu aéré. Pour autant, il n'y a pas encore de corrosion galvanique. La figure 14 montre en effet que le couplage galvanique avec l'extérieur se contente de ramener le potentiel libre de l'interstice désaéré  $U_{oi}$  à celui  $U_{oe}$  qu'il avait avant désaération [14]. La vitesse de dissolution locale n'en est donc pas modifiée.

Néanmoins, même si elle n'est pas elle-même préjudiciable dans l'immédiat, cette très faible pile accumule progressivement les ions métalliques dans l'interstice. Elle les équilibre par des anions amenés de l'extérieur par électromigration. D'où un processus "d'incubation", qui peut être plus ou moins long. Celui-ci débouche sur un milieu local profondément différent de celui du début, et souvent très corrosif (fig.14 : translation  $A_e \rightarrow A_i$ ). La petite pile d'aération différentielle est donc le moteur initial d'un processus d'incubation, et la corrosion caverneuse proprement dite est le résultat d'un couplage galvanique final beaucoup plus fort entre le milieu d'origine et le milieu dénaturé devenu corrosif [14].

Pour le cuivre et ses alliages, les causes de corrosivité sont multiples. Ainsi, la corrosion caverneuse peut même se produire au débouché de l'interstice, par dispersion de ce milieu concentré vers l'extérieur. Quant aux aciers ordinaires, la nature exacte du milieu local et le pourquoi de sa corrosivité n'ont jamais été étudiées.

Pour l'aluminium en revanche, l'hydrolyse de l'ion  $Al^{3+}$  entraîne très vite des pH locaux inférieurs à 4, interdisant le maintien de toute passivité. Les milieux chlorurés ont sous cet angle

une sévérité toute particulière, car toute baisse de pH correspond ici à une présence locale d'acide chlorhydrique, ennemi n°1 des métaux passivables.

Pour les aciers inoxydables, l'hydrolyse des ions  $\text{Cr}^{3+}$  peut même engendrer des pH encore bien plus bas. Toutefois, certaines nuances sont aussi à même de résister jusqu'à des pH de 3,2 ou même 1. D'où des gradations de résistance en fonction de leurs "pH de dépassivation" effectifs. Enfin, ces incubations longues jusqu'à dépassivation finale peuvent également être interrompues prématurément par le déclenchement d'une corrosion par piqûres dans ce milieu confiné et concentré.

Quoi qu'il en soit, les corrosions cavernieuses sont toujours l'aboutissement d'une dérive lente de la composition locale du milieu corrosif, et cette dérive initiale est le résultat conjoint de la pile initiale d'aération différentielle et de la géométrie exigüe de l'interstice.

## IV.2 Corrosion par piqûres

Contrairement à la corrosion cavernieuse, la corrosion par piqûres ne présente aucun déterminisme local. Comme toute corrosion localisée, elle correspond bien sûr à la constitution d'un couple galvanique stable entre une petite anode et une grande cathode. Toutefois, ce couple résulte ici d'une stabilisation spontanée à partir d'une réaction en chaîne bouclée:

corrosion --> produits de réaction --> corrosivité --> corrosion.

L'amorçage local de cette réaction en chaîne intervient toujours à partir de germes de dissolution ponctuels, aléatoires et totalement étrangers au processus ultérieur de stabilisation et croissance des piqûres [15]. Quant au critère de résistance à la corrosion par piqûres, il peut être lié tout aussi bien à l'amorçage qu'à la vitesse de croissance.

### IV.2.1 Cas des métaux passivables

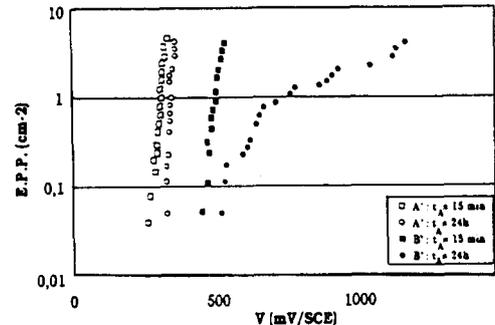
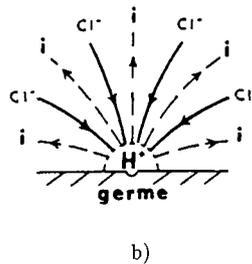
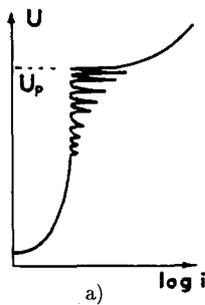
Comme précédemment, on se limitera aux alliages d'aluminium et aux aciers inoxydables. Pour l'aluminium, il est très difficile d'empêcher toute piqûre en milieu neutre chloruré. Les critères de résistance sont alors liés à la seule croissance. Ainsi, une densité de piqûres à la fois forte et contrôlée permet d'assurer une vitesse de pénétration moindre [7].

Pour l'acier inoxydable au contraire, la croissance des piqûres n'est pas maîtrisable. Les critères de résistance sont alors liés au seul amorçage. Comme en corrosion cavernieuse, mais à une échelle microscopique locale, toute dissolution soudaine entraîne en effet un pulse d'HCl (figure 15b). Si ce dernier disparaît aussitôt par dilution, la dissolution est éphémère et s'arrête. Le germe se repassive (fig. 15a). Au contraire, si ce pulse est suffisamment fort ou dure suffisamment longtemps, il induit une dissolution supplémentaire de  $\text{Cr}^{3+}$ , dont l'hydrolyse renforce en retour le pulse. Il en résulte la stabilisation spontanée du même couple galvanique qu'en corrosion cavernieuse, cette fois-ci instantanée et sans le support initial de la géométrie. Ceci ne veut pas dire que la géométrie ne joue pas de rôle dans l'évolution d'un germe vers une piqûre. Tout ce qui peut freiner la dispersion du pulse d'HCl favorise en effet l'amorçage (ex: forte rugosité de surface, dissolution "fouissante", c'est-à-dire le plus en profondeur possible et avec le moins d'ouverture vers l'extérieur).

Comme toute dissolution anodique, la stabilisation d'un germe instable en piqûre stable est très sensible au potentiel, à tel point [15] qu'il existe un véritable potentiel critique dit "potentiel de piqûre"  $U_p$ : les germes de piqûres sont instables en dessous, et se stabilisent au dessus. Dans le détail toutefois, il existe autant de valeurs critiques que de germes. On ne peut donc définir en toute rigueur qu'une probabilité expérimentale de piqûre [16] en fonction du potentiel (Fig. 16).

Néanmoins, si l'on évite de manipuler outrageusement les états de surface [15], on peut continuer d'utiliser la notion conventionnelle de potentiel de piqûre. Plus  $U_p$  est élevé, plus un acier inoxydable pourra résister à une plus grande variété de milieux corrosifs et de pouvoirs

oxydants. Cependant, il faut savoir que même pour les aciers inoxydables, les états de surface évoluent dans le temps, généralement en bien [17].



**Figure 15** : schéma d'un germe de piqûre a) manifestation électrochimique des « piqûres repassivées » pour  $U < U_p$ , b) acidification et enrichissement local en chlorure

**Figure 16** : probabilité expérimentale de piqûre EPP, en fonction du potentiel

#### IV.2.2 Cas des dépôts protecteurs

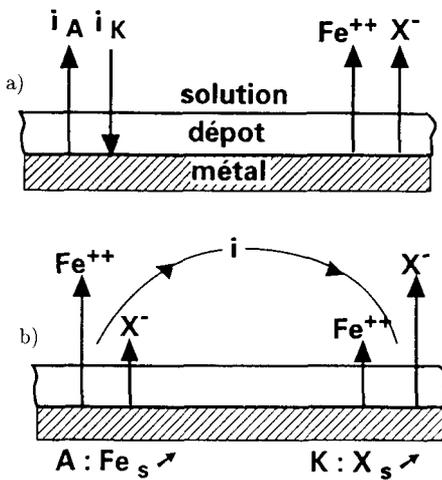
La très grande variété des dépôts protecteurs sur cuivre entraîne une variété similaire dans la sensibilité aux différents anions, d'où une certaine impossibilité à décrire des mécanismes généraux pour le cuivre.

Pour le fer en revanche, la réduction cathodique de  $H^+$  à partir de  $H_2O$ ,  $CO_2$  ou  $H_2S$  produit respectivement des anions  $OH^-$ ,  $HCO_3^-$  et  $HS^-$ . Ceux-ci doivent alors être considérés comme des produits de corrosion à part entière. En effet, ils contribuent très directement à la précipitation d'hydroxyde, carbonate ou sulfure de fer, à travers des produits de solubilité qui pour chaque anion  $X^-$  sont de type:

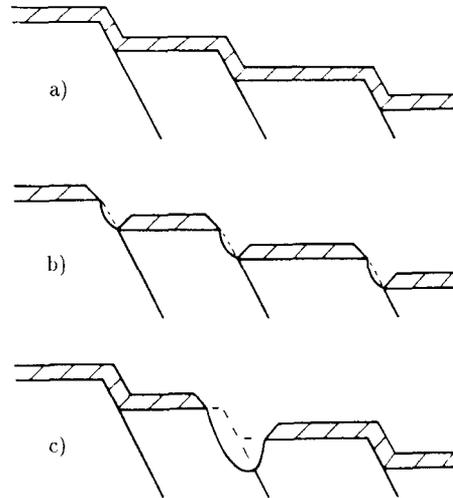
$$[Fe^{++}] \cdot [X^-] / [H^+] = K$$

Pour bien comprendre les milieux corrosifs, il n'est en effet jamais bon d'exprimer les lois physico-chimiques en fonction d'espèces chimiques par trop minoritaires. Or en présence de  $CO_2$  et  $H_2S$ , les ions  $CO_3^{2-}$  et  $S^{2-}$  ont des concentrations négligeables devant celles de  $HCO_3^-$  et  $HS^-$ , auxquelles elles sont reliées par la seconde dissociation de l'acide. La forme ici choisie pour exprimer l'équilibre de solubilité a l'avantage de convenir aux trois anions  $OH^-$ ,  $HCO_3^-$  et  $HS^-$ . Elle définit alors la solubilité  $Fe_s$  du fer, à  $[X^-]$  et pH donnés, ou la solubilité  $X_s$  de l'anion à  $[Fe^{++}]$  et pH donnés.

En corrosion uniforme, indépendamment des teneurs en  $Fe^{++}$  et  $X^-$  qui peuvent exister à l'extérieur du dépôt, ou du pH régnant à l'intérieur, la balance locale entre réactions anodique et cathodique, produit en tout point les ions  $Fe^{++}$  et  $X^-$  dans le rapport stoechiométrique exact de leur précipitation commune (Fig. 17a). La solubilité locale des ions  $Fe^{++}$  est donc minimale, et la protectivité du dépôt optimale.



**Figure 17** : stabilisation d'une piqûre sur un acier recouvert de dépôts protecteurs d'hydroxyde, carbonate ou sulfure de fer. a) corrosion uniforme :  $i_A = i_K$ . b) corrosion localisée : séparation



géographique de  $i_A$  et  $i_K$ , et des productions de  $Fe^{++}$  et de l'anion précipitable  $X^-$ .

**Figure 18** : principe de la corrosion sous tension: corrosion localisée assistée par la déformation.

Par rapport à ce point de départ, une polarisation cathodique augmente la production totale d'anions précipitables  $X^-$ . Il en résulte alors une baisse consécutive de la solubilité locale du fer, et une augmentation corrélatrice de la protectivité du dépôt (figure 17b). Réciproquement, une polarisation anodique freine la production d' $X^-$ , augmente la solubilité de  $Fe^{++}$  et diminue d'autant la protectivité du dépôt.

Ainsi, à partir d'une fluctuation aléatoire produisant un couple local d'ordinaire éphémère, la polarisation mutuelle de l'anode et de la cathode accentue automatiquement leur caractère réciproque. La solubilité du fer  $Fe_s$  augmente à l'anode, et celle de l'anion  $X_s^-$  à la cathode. À la limite, s'il n'y a plus aucune réaction cathodique sur l'anode, le fer y devient extrêmement soluble (limitation par  $FeCl_2$  seulement). Sur une telle anode, le dépôt n'induit alors plus aucun frein à la dissolution (type IA de la figure 10).

En résumé, en corrosion uniforme, les cinétiques anodique et cathodique se bloquent mutuellement par la réaction stoechiométrique de précipitation entre leurs produits de réaction respectifs. Une séparation géographique leur permet au contraire de se libérer de ce blocage, en dissolvant le fer là où il n'y a pas d'anion précipitable, et en produisant l'anion  $X^-$  là où il n'y a pas de fer dissous.

Contrairement aux métaux passivables, l'hétérogénéité n'intervient donc plus ici sur un milieu liquide libre, mais sur l'état de surface liquide emprisonné au sein même du dépôt. Pour être stables, les piqûres n'ont ainsi plus besoin de s'enfouir. Elles peuvent rester totalement ouvertes sur l'extérieur, ou même représenter de larges zones attaquées à fond plat. Seuls leurs bords abrupts révèlent encore à l'oeil la présence du couple galvanique [18] ("mesa attack" de la corrosion par  $CO_2$ ).

### IV.3 Corrosion sous tension

Après l'initiation de la corrosion localisée assistée par la géométrie, puis l'initiation spontanée assistée par le couplage lui-même, il s'agit cette fois d'une initiation assistée par la déformation de la surface. La limite d'élasticité vraie de tous les métaux est en effet toujours inférieure à la limite conventionnelle utilisée dans les codes de calcul (limite à 0,2% d'allongement permanent). L'écart est souvent faible, sauf pour les aciers inoxydables austénitiques (donc amagnétiques). En service, dès lors que cette limite vraie est atteinte, ne serait-ce que localement, la contrainte induit alors un micro fluage très lent du métal, qui provoque des ruptures locales des films de surface protecteurs, et l'initiation de couples locaux transitoires. Leur stabilisation, ou leur répétition peuvent alors induire des dissolutions locales, mais en forme de fissures. La figure 18 illustre ainsi la reconstitution de la protection sur les marches microscopiques créées en surface. Si elle est rapide, il n'y a aucune conséquence (Fig.18a). Si elle est lente non plus, car la dissolution reste répartie (Fig.18b). Entre les deux (Fig.18c), la dissolution se localise sous la forme apparente de fissures. Celles-ci peuvent être plus ou moins ramifiées, en fonction d'éventuelles fluctuations locales du champ de contraintes.

Les paramètres de milieu sensibles sont souvent les mêmes que pour les autres corrosions localisées. Pour les aciers inoxydables austénitiques par exemple, on retrouve les chlorures, le pH, le potentiel, et accessoirement l'H<sub>2</sub>S. Pour des raisons mécaniques, la température doit cependant être supérieure à 50 - 60°C.

Il existe finalement assez peu de corrosions sous tension à froid, ce qui limite les interférences avec la présence de bactéries. Une exception notable concerne cependant les aciers ordinaires en milieu nitrate (peut-être due à la plus grande solubilité du nitrate de fer par rapport aux oxydes et hydroxydes).

## V. Conclusions

Au cours de cette "introduction" à la corrosion aqueuse des métaux, nous avons dû survoler rapidement un très grand nombre de concepts. À lui seul, ce premier chapitre a ainsi fait l'objet de tout le programme de trois écoles d'été précédentes, les Houches, Bombannes et Banyuls. Il n'était donc pas question ici d'approfondir, mais simplement de faire pressentir les grands principes.

À partir de ces deux cas de base, à savoir une corrosion uniforme et trois corrosions localisées, on peut construire ensuite toute la théorie de la corrosion, par interaction avec la métallurgie, ou avec la mécanique du solide, du fluide ou du contact. On peut également envisager toutes les combinaisons possibles de ces cas de base entre eux. Ainsi, peuvent coexister la corrosion galvanique et la protection cathodique à propos de chacun d'entre eux. Individuellement, toutes ces combinaisons sont sans doute relativement simples à expliquer, du moins une par une. Le seul problème est qu'il y en a beaucoup!

Et les bactéries dans tout ceci? Eh bien, **les bactéries ne corrodent pas** : elles se "contentent" d'engendrer des milieux corrosifs en général insoupçonnés. La composition chimique réelle d'un milieu bactérien peut en effet différer radicalement de celle de son homologue stérile. Comme indiqué en préambule, tout l'art de la prévention de la corrosion bactérienne consiste alors à déconvoquer la microbiologie, la chimie et la corrosion.

## Références

- [1] CROLET J.-L. Mat. Techn. **78**, n° spécial Biocorrosion (Décembre 1990), 9.
- [2] CROLET J.-L., dans Interfaces et Surfaces en Métallurgie, TransTech Publications, Aedermannsdorf (Suisse) 1975.
- [3] SHREIR L.-L. Corrosion, Newnes-Butterworths, Londres, 1976.
- [4] LEVICH V.-G. Physico-chemical Hydrodynamics, Prentice Hall, New-York 1962.
- [5] CROLET J.-L. Mem. Sci. Rev. Metall. **87**, 2 (1990) 123.
- [6] CROLET J.-L. Acta Microb. Pol. **43**, 1 (1994) 110.

- [7] CROLET J.-L. Techniques de l'ingénieur, article M153.
- [8] LACOMBEP., BAROUX B., BERANGER G. Les aciers inoxydables. Les Éditions de Physique, Les Ulis, 1990.
- [9] CROLET J.-L. *Met. Corr. Ind.* **63**, 757 (1988), 279.
- [10] CROLET J.-L. dans *Modelling aqueous corrosion: From individual pit to system management*. NATO ASI Series, Series E: Applied Sciences Vol. 266. Kluwer Academic Press Publishers, Dordrecht NL, 1994.
- [11] DAUMASS., MASSIANI Y., CROUSIER J. *Corros. Sci.* **28**, 11 (1988) 1041.
- [12] CROLET J.-L. *Met. Corr. Ind.* **64**, 764 (1989) 91.
- [13] CROLET J.-L., NACE Annual Conference Corrosion 95, paper 127, Orlando (1995).
- [14] CROLET J.-L. *Mem. Sci. Rev. Met.* **89**, 6 (1992) 397.
- [15] CROLET J.-L., SERAPHIN L., TRICOT R., *Mem. Sci. Rev. Mat.* **74**, 11 (1977) 647.
- [16] BAROUX B. *Mem. Sci. Rev. Met.* **85**, 12 (1988) 683.
- [17] BAROUX B., GORSE D., dans *Modelling aqueous corrosion : from individual pit to system management*. NATO ASI Series, Series E : Applied Sciences Vol. 266. Kluwer Academic Press Publishers, Dordrecht NL (1994).
- [18] DABOSI F., BERANGER G., BAROUX B., *Corrosion localisée*, Les Éditions de Physique, les Ulis, 1994, p.383 et 407.



## Chapitre 2

### Introduction à la microbiologie des bactéries

Michel MAGOT

**Résumé.** Les notions élémentaires de microbiologie sont brièvement exposées dans ce texte. Les aspects écologiques, morphologiques, le métabolisme, la physiologie, la génétique et la taxonomie y sont abordés en attachant une importance particulière à la définition du vocabulaire de cette discipline.

#### I. Introduction

Traiter toute la bactériologie en une vingtaine de pages est une gageure impossible à tenir. L'objectif de ce chapitre est donc plus modeste, et consiste principalement à donner quelques définitions précises des termes et d'exposer les concepts élémentaires qu'un non-microbiologiste doit comprendre et utiliser lorsqu'il dialogue avec un bactériologiste. Plus précisément, nous choisirons de traiter des notions indispensables à l'instauration d'un dialogue pluridisciplinaire dans le cadre du thème qui unit les participants à l'Ecole de Saint Avit : la biodétérioration des matériaux. L'expérience vécue sur le terrain montre en effet l'importance du vocabulaire pour initier des collaborations fructueuses dans ce domaine. Faute de parler le même langage, chacune des disciplines nécessaire à la compréhension ou la résolution d'un problème peut s'enfermer dans des considérations théoriques, ou des stratégies expérimentales ou appliquées, qui peuvent n'avoir aucun sens face à la réalité des phénomènes en cause [1].

Les éléments de ce texte paraîtront triviaux, voire simplistes, pour les microbiologistes participant à l'Ecole d'Eté. Mais ils auront sûrement constaté, à l'issue de cette semaine dédiée toute entière à la pluridisciplinarité, que des termes aussi évidents pour eux que "milieu de culture", "physiologie", "coloration de Gram"... n'ont pas plus de signification pour un corrosionniste que n'en ont à leurs oreilles les "courbes de polarisation", "potentiels d'abandon", ou autres "diagrammes d'impédance".

#### II. Qu'est-ce qu'une bactérie ?

##### II.1 Les trois "règnes" du monde vivant

La division du monde vivant entre règne animal et règne végétal est une notion qui nous est à tous familière. Les microbiologistes utilisent cependant peu cette dichotomie, surtout parce qu'il n'y a pas de consensus quant à la place des bactéries dans ce système de classification, bien qu'on les ait le plus souvent considérées comme appartenant au règne végétal.

Jusqu'à la fin des années 70, une autre classification dichotomique était en usage, basée sur la présence ou l'absence d'une structure moléculaire caractéristique, le noyau. Chez les **Procaryotes**, regroupant toutes les bactéries, le matériel génétique est diffus dans la cellule. Chez les **Eucaryotes**, regroupant les protozoaires, les levures, les champignons, les végétaux supérieurs et les animaux, le matériel génétique est inclus dans le noyau cellulaire limité par une membrane.

En 1977, Woese et Fox, évolutionnistes américains, synthétisèrent des données récentes sur les constituants cellulaires et la taxonomie moléculaire (voir plus loin) des procaryotes, et montrèrent que ceux-ci appartenaient à deux règnes différents, les **Archaeobactéries** et les **Eubactéries** [2]. Ces deux classes de procaryotes présentent autant de différences moléculaires entre elles qu'avec les eucaryotes. Plus récemment, Woese a proposé de renommer les trois règnes **Archaea**, **Bacteria**, et **Eucarya**, mais cette nomenclature n'est pour l'instant pas universellement admise par la communauté scientifique internationale.

Les bactéries au sens le plus commun du terme, c'est à dire les procaryotes, se répartissent donc entre deux règnes. Les archaeobactéries sont principalement représentées par les bactéries méthanogènes et les bactéries dites "extrémophiles" (halophiles et thermophiles extrêmes, voir plus loin). La très grande majorité des autres bactéries connues, pathogènes de l'homme, des animaux et des plantes, bactéries marines et d'eau douce, presque toutes les bactéries sulfato-réductrices, etc..., sont des eubactéries (tableau 1).

(PROCARYOTES)	<b>EUBACTÉRIES</b> ( <b>Bacteria</b> )	La plupart des bactéries classiques
	<b>ARCHAEBACTÉRIES</b> ( <b>Archaea</b> )	Méthanogènes et extrémophiles principalement
	<b>EUCARYOTES</b> ( <b>Eucarya</b> )	Levures Champignons Protozoaires Plantes Animaux

*Tableau 1 : Les trois règnes du monde vivant*

## II.2 Définition

La définition des bactéries, telle qu'on peut la trouver dans le "Bergey's Manual", est complexe et fait appel à des aspects morphologiques, structuraux, biochimiques et moléculaires. Nous n'en retiendrons ici que l'essentiel et le plus accessible à l'observation : les bactéries sont formées de cellules isolées ou d'associations simples de cellules identiques, dépourvues de noyau.

### II.3 Morphologie et principales caractéristiques cellulaires

On a coutume de distinguer deux grandes catégories morphologiques de bactéries: les *bacilles*, en forme de bâtonnets, et les *coques* (ou cocci), de forme approximativement sphérique. En fait, il existe, au delà de ces structures de base, une très grande diversité de morphologies bactériennes, d'aspect et de taille, dont quelques exemples sont schématisés dans la figure 1. Les bacilles peuvent être plus ou moins longs ou larges, droits ou incurvés, isolés ou associés en paires ou en chaînes. De même, des cocci peuvent être de tailles différentes, associés en paires, en tétrades, en chaînes (streptocoques), en amas (staphylocoques). Il existe même des bactéries de forme étoilée, ou cubique ! Les dimensions varient de 0,5 à 10  $\mu\text{m}$  en moyenne, mais des chaînes ou des bactéries filamenteuses peuvent mesurer plusieurs dizaines de micromètres.

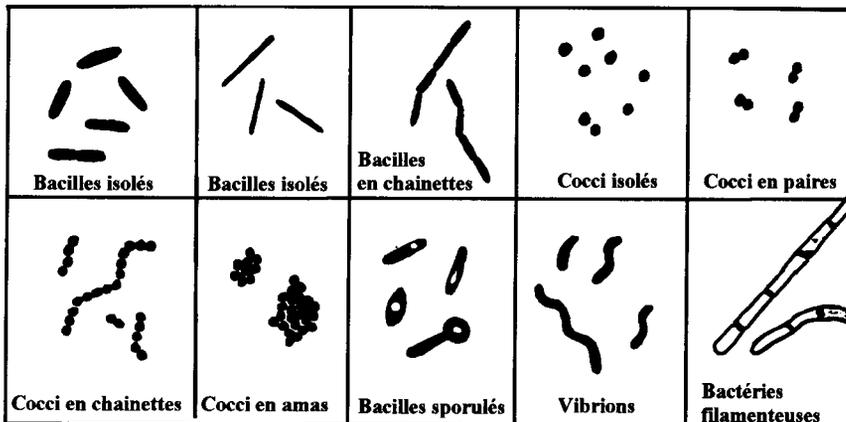


Figure 1 : Exemples de morphologies bactériennes

La structure de la cellule eubactérienne peut être très schématiquement décrite par trois unités de base :

\* Le *cytoplasme*, c'est à dire le milieu interne de la cellule, est le siège de toutes les fonctions vitales. Il contient le matériel génétique (ADN), et les enzymes nécessaires au déroulement des processus métaboliques et à la synthèse des constituants structuraux. Le cytoplasme est isolé du milieu extérieur par la *membrane cytoplasmique*, épaisse de 8 nm environ et composée de deux feuillettes de nature lipidique. Elle est le siège des échanges avec le milieu extérieur, par diffusion ou transport actif des métabolites (nutriments et produits du métabolisme) et des ions. Certaines molécules peuvent être concentrées plus de 500 fois dans le cytoplasme. La membrane cytoplasmique contient de nombreuses enzymes (protéines), assurant des fonctions telles que la fonction respiratoire.

\* La *paroi* est l'enveloppe externe de la bactérie. Sa grande rigidité assure l'intégrité structurale de la cellule, et lui permet de résister aux fortes pressions osmotiques générées par la concentration interne de plusieurs atmosphères liée à l'accumulation intracellulaire de certaines molécules. Elle est composée d'un polymère de sucres aminés liés par de courtes chaînes d'acides aminés, la muréine. Dans l'environnement, certaines bactéries sont entourées d'une sorte de gangue associée à la paroi, aussi appelée capsule. Cette enveloppe, qui peut atteindre plusieurs microns, est constituée de polysaccharides qui jouent un rôle important

dans les propriétés d'adhésion des bactéries, et qui sont un des constituants majeurs des biofilms.

La structure de la paroi détermine deux grands groupes, les *bactéries gram-positives* et les *bactéries gram-négatives*, du nom d'une coloration spécifique. Les bactéries gram-positives ont une paroi épaisse (20 à 80 nm), composée à 50% d'acide teichoïque en plus de la muréine. Les bactéries gram-négatives ont une paroi plus fine (10 à 15 nm), constituée de muréine pure. Elles se distinguent surtout des précédentes par la présence d'une seconde membrane, la membrane externe. L'espace situé entre les deux membranes, où se trouve la paroi, est appelé *espace périplasmique* (ou périplasma). Il est le siège de certaines réactions métaboliques (figure 2).

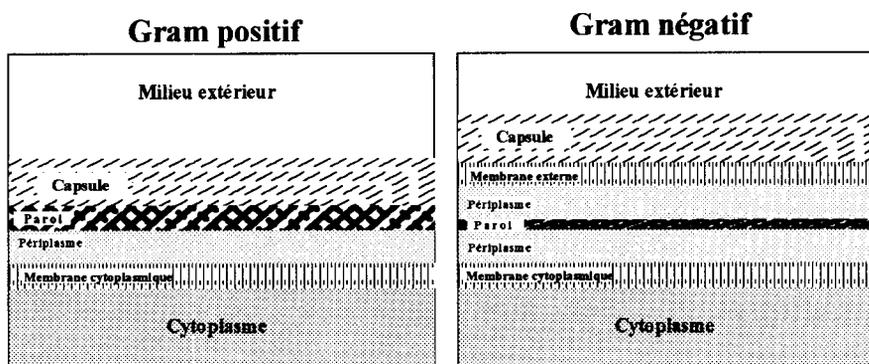


Figure 2 : Structure de l'enveloppe bactérienne des bactéries Gram + et Gram -

Les cellules de certaines bactéries, principalement regroupées dans les genres *Bacillus*, *Clostridium* et *Desulfotomaculum*, se différencient en une structure appelée *spore* lorsque les conditions de leur milieu deviennent défavorables à leur croissance. Les spores apparaissent au microscope à contraste de phase comme des inclusions sphériques ou ovoïdes, très réfringentes, en position centrale, subterminale ou terminale. Au stade ultime de la sporulation, le corps bactérien se lyse et la spore est libérée dans le milieu. Les spores présentent une totale inertie métabolique (dormance), et sont des formes de résistance aux conditions défavorables du milieu : chaleur, dessiccation, solvants, radiations, variations du pH et traitements biocides.

De nombreuses bactéries possèdent, au niveau de leur enveloppe externe, un ou plusieurs appendices appelés *flagelles*, invisibles au microscope optique. Ils sont les organes locomoteurs des bactéries mobiles, qui sont ainsi capables de "nager" dans leur environnement.

Bien que la composition chimique des constituants de la membrane cytoplasmique et de la paroi des archaebactéries soit très différente de celle des eubactéries, l'organisation structurale des cellules est semblable à celle décrite ci-dessus.

### III. Les bactéries et leur écosystème

Les bactéries sont omniprésentes, et parfois très abondantes, dans l'environnement, où elles jouent un rôle majeur dans les cycles du carbone, de l'azote, du soufre, et plus marginalement de nombreux autres composés minéraux. Cette abondance (tableau 2) n'est pas sans conséquences au niveau expérimental. Elle doit être gardée à l'esprit chaque fois que l'on se préoccupe de résoudre un problème de microbiologie, dès la réalisation du prélèvement à étudier. Prélever un échantillon d'eau ou un échantillon solide pour une analyse bactériologique doit toujours s'accompagner de précautions d'*asepsie*, simples mais indispensables : utiliser des récipients stériles, éviter de toucher l'échantillon, ou porter des gants stériles ou désinfectés, ne pas poser un coupon de corrosion sur le sol, etc.. Faute de respecter ces règles, les résultats de l'analyse bactériologique pourront être totalement faussés par la présence de contaminants qui n'ont rien à voir avec le problème étudié. L'échantillon prélevé doit de plus être exploité dans un délai de quelques heures suivant le prélèvement, ou au pire être réfrigéré. Sinon, il évolue le plus souvent par mort des bactéries, mais dans certains cas une multiplication des cellules peut être observée au cours du stockage. Si on souhaite étudier des bactéries anaérobies, il faut en plus protéger l'échantillon de l'oxygène de l'air.

Ecosystème		Nombre de bactéries
Air:	Montagne	$10^0 - 10^1 / \text{m}^3$
	Jardin public	$10^2 - 10^3 / \text{m}^3$
	Appartement	$10^3 - 10^4 / \text{m}^3$
	Gare	$10^6 - 10^8 / \text{m}^3$
Océan:	Loin des côtes	$10^1 / \text{mL}$
	Près des côtes	$10^3 / \text{mL}$
	Sédiments	$10^6 - 10^7 / \text{g}$
Eaux douces:	Lac	$10^5 - 10^7 / \text{mL}$
	Rivière	$10^4 - 10^5 / \text{mL}$
	Eau minérale en bouteille	$10^3 - 10^5 / \text{mL}$
Autres	Sol	$10^6 - 10^9 / \text{g}$
	Boue activée	$10^{10} - 10^{11} / \text{mL}$
	Intestin des animaux	$10^{10} - 10^{12} / \text{g}$
	Flore de la peau	$10^2 - 10^5 / \text{cm}^2$
	Flore buccale	$10^5 - 10^6 / \text{mL}$

Tableau 2 : Ordre de grandeur des populations bactériennes dans divers environnements.

On a souvent tendance à traiter des problèmes bactériens en termes d'espèces, de souches, ou de groupes bactériens particulier : par exemple, on dira que les bactéries sulfato-réductrices sont responsables de cas de corrosion de l'acier. C'est oublier que dans leur environnement, ces bactéries sont quasiment toujours une des composantes de *flores* plurispécifiques (ou *consortium* bactériens), associant des bactéries aux métabolismes variés (le plus souvent au sein de biofilms, voir chapitre "Biofilms"). Cet aspect doit être pris en compte dans l'interprétation des phénomènes étudiés. Ainsi, dans un cas de corrosion bactérienne, le milieu étudié peut ne contenir aucun des nutriments carbonés nécessaires au développement des BSR ; cependant, celles-ci peuvent s'y développer parce qu'une, ou plusieurs, des autres espèces présentes dans l'écosystème vont leur fournir ces nutriments, issus de la transformation d'autres molécules (figure 3).

La recherche de bactéries dans un échantillon doit aussi systématiquement tenir compte des conditions physicochimiques de l'écosystème étudié. Deux recommandations sont particulièrement importantes : tenir compte de la composition ionique des eaux étudiées pour

établir la composition chimique des milieux de culture utilisés ; et incuber les cultures à une température proche de celle de l'écosystème étudié. Ensemencer un échantillon d'une eau chaude et salée dans des milieux de culture préparés avec de l'eau douce, et les incuber à 30°C n'a guère de sens. Le résultat ne peut être que catastrophique et conduire à des interprétations erronées. Pour bien comprendre l'importance de ces remarques, il est nécessaire d'introduire ici quelques notions de physiologie bactérienne.

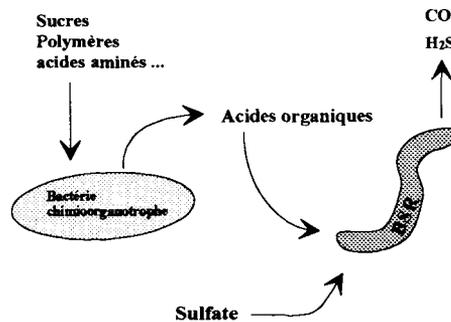


Figure 3 : Exemple simple d'interaction entre bactéries dans une flore

## IV. Notions de physiologie bactérienne

### IV.1 Mode de développement des bactéries

Le cycle de croissance d'une bactérie est simple. A son stade initial, elle a une taille et une masse minimale. Elle grossit et s'allonge ensuite jusqu'à une taille critique, puis se divise par scission binaire. Elle disparaît alors virtuellement, laissant place à deux cellules filles strictement identiques à la cellule mère. Chacune de ces cellules entame alors le même cycle. Le nombre de bactéries double donc à chaque génération : le mode de croissance d'une culture bactérienne est exponentiel (figure 4). Le **temps de génération**  $q$  est le temps que dure un cycle de croissance. Le **taux de croissance**  $\mu$  est le nombre de générations par unité de temps ( $\mu=1/q$ ). Le taux de croissance dépend des conditions et de la phase de croissance. Le développement de bactéries dans un milieu de culture se déroule généralement en plusieurs phases (figure 4) :

- A : phase de latence (facultative; dépend de l'état physiologique des bactéries et du milieu)
- B : phase d'initiation de la croissance ( $\mu$  augmente)
- C : phase exponentielle pendant laquelle  $\mu$  est constant ( $\mu=\mu_{\max}$ )
- D : phase de ralentissement ( $\mu$  diminue)
- E : phase stationnaire ( $\mu=0$ ), intervenant lorsqu'au moins un des composants du milieu est épuisé.
- F : phase de lyse, plus ou moins prononcée, correspondant à la mort des cellules.

En milieu naturel, ce type de croissance ne peut être éventuellement observé que lors de la colonisation initiale d'un écosystème. La plupart du temps, les écosystèmes sont à l'équilibre, et la population reste constante.

## IV.2 Température

Dans un écosystème, la flore bactérienne autochtone est adaptée à son environnement. La température est l'un des paramètres les plus importants de cette adaptation, qui détermine aussi dans quelles conditions une souche bactérienne peut être cultivée au laboratoire. Une classification des micro-organismes en fonction de leur sensibilité à la température a été adoptée. Ceux poussant à basse température sont dits *psychrophiles*, alors que ceux poussant à température ordinaire sont appelés *mésophiles*. Pour des bactéries se développant à plus de 50°C, on parle de germes *thermophiles*. Une classification plus précise, et les limites de température sont mentionnées dans le tableau 3. La température de croissance la plus extrême rapportée à ce jour concerne une bactérie isolée des "fumeurs noirs" des dorsales océaniques, capable de pousser jusqu'à 112°C.

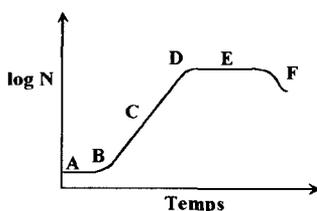


Figure 4 : Courbe de croissance d'une culture bactérienne

Type physiologique	Température de croissance (°C)	
	minimale	maximale
Psychrophile	< 0	< 20
Mésophile	> 20	< 55
Thermophile modéré facultatif	> 37	> 55
Thermophile modéré obligatoire	> 55	< 75
Thermophile extrême (hyperthermophiles)	> 60	> 80*

(\* optimum > 80)

Tableau 3 : Classification physiologique des bactéries en fonction de la température.

L'étude des températures de croissance peut aider à distinguer le caractère autochtone ou allochtone d'une bactérie isolée d'un prélèvement [3]. Un exemple est représenté sur la figure 5 : à partir d'un prélèvement réalisé sur un puits pétrolier, des bactéries ont été purifiées en utilisant différentes températures de croissance, puis leurs taux de croissance ont été déterminés en fonction de la température. Deux des souches représentées, Dm et Mt, ont un optimum de croissance correspondant précisément à la température du gisement pétrolier (60°C), ce qui traduit leur caractère indigène. Par contre, la souche Dl, qui ne pousse pas à 60°C mais se développe très bien à 35°C, doit être considérée comme une bactérie allochtone.

## IV.3 Salinité

Comme dans le cas de la température, les micro-organismes ont été classés en fonction de la salinité de leur milieu (tableau 4). Les bactéries se développant dans des milieux contenant 20 à 50 g/l de NaCl (0,34-0,85M) sont dites faiblement *halophiles* ; celles poussant de 50 à 200

g/l (0,85-3,4M) sont halophiles modérées. Les bactéries halophiles extrêmes ont une croissance optimale entre 200 et 300 g/l NaCl (3,4-5,1M) (4).

Il existe par ailleurs des bactéries pour lesquelles le sel n'est pas indispensable à la croissance, mais qui peuvent se développer dans des milieux modérément salés : elles sont **halotolérantes**, par opposition aux halophiles définies ci-dessus pour lesquelles la présence de sel est indispensable.

Pour pouvoir vivre à des concentrations élevées en sel, les bactéries doivent compenser les effets de la pression osmotique par l'accumulation intracellulaire de composés protecteurs, les osmolytes. Il peut s'agir d'éléments minéraux, comme des ions potassium, ou organiques, tels que la glycine-bétaïne, des acides aminés ou des sucres. Ces osmolytes, ou leurs précurseurs, doivent éventuellement être fournis dans le milieu de culture.

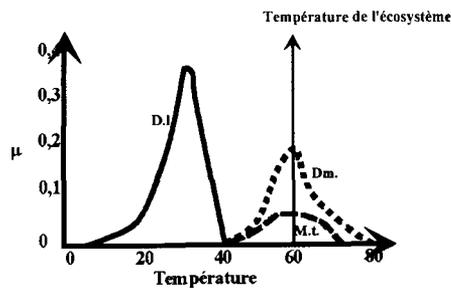


Figure 5 : Taux de croissance de 3 souches bactériennes en fonction de la température

	Type physiologique	Croissance optimale
Salinité	Non halophile	[NaCl]: < 0,34M
	Faiblement halophiles	0,34 - 0,85M
	Halophiles modérées	0,85 - 3,4M
	Halophiles extrêmes	3,4 - 5,1M
Oxygène	Aérobie strict	Seulement en présence d'oxygène
	Aéro-anaérobie	Avec ou sans oxygène
	Anaérobie strict	Seulement en absence d'oxygène
	Microaérophile	Voir texte
pH	"Neutrophile"	pH: 6 - 8
	Acidophile	0 - 6
	Alcalophile	8 - 11,5
Pression	Barotolérant	P: 1 - 400 atm
	Barophile	>400 atm

Tableau 4 : Types physiologiques en fonction de la salinité, de l'oxygène, du pH et de la pression.

#### IV.4 Influence de l'oxygène

Le comportement des bactéries vis-à-vis de l'oxygène dépend étroitement de leurs aptitudes métaboliques, qui seront décrites plus loin. On distingue trois groupes principaux, appelés types respiratoires (tableau 4). Les bactéries **aérobies strictes** ne peuvent pousser qu'en

présence d'oxygène. Les bactéries *aéro-anaérobies* (ou *anaérobies facultatives*), poussent indifféremment, mais en mettant en oeuvre des métabolismes différents, avec ou sans oxygène. Les bactéries *anaérobies strictes* ne se développent qu'en absence d'oxygène, par lequel elles sont intoxiquées. Le niveau de sensibilité de ces organismes peut varier considérablement : les bactéries méthanogènes, par exemple, sont tuées par un contact de quelques minutes avec l'oxygène de l'air, alors que les bactéries sulfato-réductrices, bien que ne se multipliant qu'en anaérobiose stricte, supportent généralement bien des expositions de quelques heures.

Si la manipulation de bactéries aérobies strictes ou facultatives ne pose pas de réel problème technique, il en va tout autrement des bactéries anaérobies strictes, qui doivent être protégées du contact avec l'oxygène. Des techniques et des équipements spécifiques sont nécessaires.

D'importantes difficultés techniques se posent également pour la culture des bactéries *microaérophiles*, très mal connues, qui ne poussent qu'à des concentrations en oxygène définies, non nulles, mais inférieures à la pression partielle d'oxygène dans l'air.

#### IV.5 Influence du pH

La majorité des bactéries connues se développent à des pH proches de la neutralité, entre 6 et 8, et sont donc parfois qualifiées de *neutrophiles*. Il existe toutefois des germes extrêmophiles par rapport au pH : les bactéries *alcalophiles* qui ont un pH optimum de croissance supérieur à 8, et les bactéries *acidophiles* préférant les pH inférieurs à 6 (tableau 4). Certaines bactéries alcalophiles obligatoires sont capables de pousser à un pH optimum avoisinant 11 (mais ne dépassent pas 11,5), alors que *Thiobacillus thiooxidans* pousse à pH 2, ou que la bactéries thermoacidophile *Thermoplasma acidophilum* apprécie un pH de 1 à 60°C !

Par les effets de leur métabolisme, les bactéries font souvent varier le pH de leur milieu de culture, par exemple en produisant des acides organiques. Le pH peut ainsi évoluer au delà des limites physiologiques de la souche, stoppant la croissance. C'est une des raisons pour lesquelles les milieux de culture sont généralement tamponnés, le plus souvent par des tampons phosphate ou carbonate.

#### IV.6. Pression hydrostatique

Parce qu'elle impose des contraintes techniques importantes, l'effet de la pression est rarement pris en compte dans les études de bactériologie. Des bactéries peuvent cependant se développer dans des habitats soumis à de fortes pressions : à la profondeur moyenne de l'océan (3800 m), la pression est de 380 atm ; celle des gisements pétroliers, selon leur profondeur, peut atteindre plusieurs centaines d'atmosphères ; certaines installations industrielles fonctionnent également sous des pressions plus ou moins élevées.

Les micro-organismes capables de se développer sous pression sont dits *barophiles*. Plus précisément, ceux se développant au delà de 400-500 atm sont barophiles, par opposition aux organismes *barotolérants* qui supportent des pressions inférieures à cette limite (tableau 4).

Les bactéries barophiles obligatoires, qui ne peuvent être cultivées que sous pression, sont fort heureusement très rares. Leurs limites de croissance peuvent être très spectaculaires : *Pseudomonas bathycetes* peut continuer à se développer sous une pression de 1000 atm ! Cette rareté signifie que presque toutes les bactéries isolées d'écosystèmes sous pression

peuvent être cultivées à la pression atmosphérique. Symétriquement, la plupart des organismes communs peuvent se développer à des pressions modérées.

#### IV.7 Physiologie et biodétérioration des matériaux

Les conditions physico-chimiques évoquées ci-dessus déterminent dans quelle mesure un micro-organisme peut, en s'y développant, avoir un effet sur son milieu. Une étude de microbiologie dans le but de comprendre ou de résoudre un problème de biodétérioration doit obligatoirement prendre en compte ces paramètres. Il est possible d'isoler une bactérie sulfato-réductrice thermophile ne pouvant pousser qu'au delà de 50°C, d'un prélèvement d'eau dans une conduite dont la température ne dépasse jamais 25°C. Cela n'expliquera jamais rien : la bactérie ne fait que "passer" dans l'installation, où elle ne peut pas exprimer son métabolisme. De ces considérations, on peut déduire quelques règles très simples pour l'étude des flores bactériennes :

- respecter, bien sûr, les règles d'aseptie lors du prélèvement,
- réduire le plus possible le temps entre le prélèvement et l'analyse, la flore bactérienne pouvant subir des modifications considérables pendant le transport et le stockage. Noter toutes les informations sur la date, l'heure, le transport, le traitement, qui aideront à l'interprétation des résultats,
- utiliser des milieux de cultures dont la salinité est conforme à celle de l'écosystème étudié. Le pH et le choix aérobie/anaérobie doivent répondre aux mêmes exigences, mais en gardant à l'esprit qu'au sein d'un biofilm par exemple, des microniches écologiques peuvent être créées, avec des zones de pH ou d'aération différentielles,
- incuber les milieux à une température proche de celle mesurée *in-situ*.

#### V. Bases nutritionnelles

Le métabolisme peut être défini comme l'ensemble des réactions biochimiques qu'un organisme peut accomplir : dégradations, synthèses et transformations de molécules chimiques catalysées par des protéines intracellulaires, les enzymes. De nombreuses réactions nécessitent de l'énergie. On distingue de ce fait deux types de métabolisme: le **métabolisme énergétique**, mettant en jeu un donneur d'électrons (c'est à dire un réducteur), qui est la **source d'énergie** (en réalité, l'énergie provient des réactions d'oxydo-réduction), et un accepteur final d'électrons (oxydant); et le **métabolisme carboné**, assurant la synthèse des composants cellulaires. En fonction du type de molécules impliquées dans ces métabolismes, on a défini 6 **types trophiques** principaux (tableau 5), divisés en sous-types (tableaux 6 et 7).

Métabolisme énergétique	Phototrophie Chimiotrophie
Métabolisme carboné	Autotrophie Hétérotrophie
Selon accepteur d'électrons (métabolisme énergétique):	Respiration Fermentation

Tableau 5 : les 6 principaux types trophiques

## V.1 Métabolisme énergétique

Les bactéries puisent leur énergie de la lumière ou de réactions chimiques. Cette énergie est stockée et transportée dans la cellule sous deux formes :

- Elle est utilisée pour la synthèse d'adénosine-5'-triphosphate (ATP) à partir d'adénosine-5'-diphosphate (ADP). La rupture de la liaison phosphate terminale de l'ATP libère l'énergie nécessaire aux processus métaboliques endergoniques. Ainsi, les cycles de synthèse-hydrolyse de l'ATP permettent à la cellule de gérer ses besoins énergétiques.
- l'énergie peut aussi être stockée sous forme de "pouvoir réducteur" dans des molécules qui peuvent recevoir des électrons d'intermédiaires métaboliques. Ces électrons peuvent être utilisés soit par transfert à une autre molécule, soit pour la synthèse d'ATP. De nombreux transporteurs d'électrons sont connus, parmi lesquels le NAD (nicotinamide adénine dinucléotide) est le plus répandu.

Type trophique	Sous-type	Source d'énergie	Donneur d'électrons	Accepteur d'électrons
Phototrophie	Photolithotrophie Photoorganotrophie	lumière lumière	minéral organique	
Chimiotrophie	Chimiolithotrophie Chimioorganotrophie	chimique chimique  chimique	minéral organique  organique	minéral minéral (respiration aéro ou anaérobie) organique (fermentation)

Tableau 6 : Métabolisme énergétique

On distingue deux types trophiques selon la source primaire d'énergie utilisée par les bactéries (tableau 6) :

- les bactéries **phototrophes** utilisent l'énergie lumineuse par l'intermédiaire de pigments chlorophylliens, pour la synthèse d'ATP couplée à l'apparition d'un pouvoir réducteur. Chez les bactéries **photolithotrophes**, ces réactions sont couplées avec l'oxydation d'un composé minéral du soufre ou celle du fer ferreux. C'est un composé organique (acide organique, alcool ...) qui est oxydé par les bactéries **photoorganotrophes**.
- les bactéries **chimiotrophes** utilisent une énergie d'origine chimique, de composés minéraux dans le cas des bactéries **chimiolithotrophes**, ou organiques chez les bactéries **chimioorganotrophes**. Dans ce dernier cas, le type d'accepteur final d'électrons définit le dernier terme du métabolisme énergétique : dans le cas de la **respiration**, qui peut être aérobie (O<sub>2</sub>) ou anaérobie (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, CO<sub>2</sub>, etc...), c'est un accepteur minéral ; la **fermentation**, par contre, est analogue à une réaction de dismutation : une molécule organique est utilisée à la fois comme donneur et accepteur d'électrons, dans la mesure où la somme des degrés d'oxydation des molécules issues de son métabolisme est égale à son degré initial d'oxydation.

## V.2. Métabolisme carboné

Les bactéries utilisent différentes sources de carbone pour pourvoir à leurs besoins en carbone cellulaire. Les bactéries **autotrophes** utilisent le CO<sub>2</sub> (ou ses sels) comme seule source de carbone. Beaucoup d'entre elles peuvent toutefois aussi utiliser une source de carbone organique présente dans leur milieu : elles sont autotrophes facultatives (tableau 7).

Les bactéries ne pouvant utiliser que des sources de carbone organiques sont appelées **hétérotrophes**. Elles sont **prototrophes** si elles peuvent synthétiser l'ensemble des molécules qui leur sont nécessaires à partir d'une source de carbone unique. Des bactéries telles que *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, ou de nombreux *Pseudomonas* sont dans ce cas. La plupart des bactéries hétérotrophes sont cependant **auxotrophes**. Elles n'ont pas le potentiel nécessaire à la synthèse de toutes les molécules essentielles, qui doivent être fournies dans le milieu de culture : ce sont les **facteurs de croissance**, qui appartiennent à trois grandes classes : les acides-aminés constituant des protéines, les bases puriques et pyrimidiques précurseurs des acides nucléiques, et les vitamines cofacteurs des enzymes. Ces facteurs de croissance sont apportés dans les milieux soit sous leur forme pure, soit par des mélanges complexes tels que l'extrait de levure, ou des hydrolysats de protéines pour les acides-aminés. En milieu naturel, ces éléments peuvent être fournis par le métabolisme de la flore bactérienne associée.

Type trophique	Sous-type	Source de carbone
Autotrophie	Autotrophie stricte Autotrophie facultative	CO <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> ou organique
Hétérotrophie	Prototrophie Auxotrophie	1 seule source de carbone organique 1 source de carbone organique et facteurs de croissance

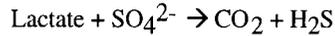
Tableau 7 : Métabolisme carboné

Métabolisme énergétique et métabolisme carbonés sont en pratique très liés, puisque souvent, la source d'énergie est aussi la source de carbone cellulaire. Ces métabolismes sont même confondus dans le cas particulier de la **mixotrophie** : en présence d'hydrogène, de carbonate et d'acétate, 70% du carbone cellulaire de *Desulfovibrio desulfuricans* provient de l'acétate et 30% du carbonate, et ce métabolisme assimilatoire est générateur d'énergie (chimiotrophie).

La grande diversité des métabolismes et de la physiologie, dont les notions exposées ci-dessus ne donnent qu'un aperçu, explique comment des bactéries ont pu coloniser des écosystèmes extrêmement variés. Elle permet aussi d'entrevoir la complexité des mécanismes pouvant intervenir dans les phénomènes de biodétérioration. Afin de préciser ces notions, quelques exemples sont décrits ci-dessous, choisis parmi des organismes directement impliqués dans la biodétérioration des matériaux, ou indirectement par le rôle qu'ils peuvent jouer dans la dynamique de flores polymicrobiennes. Nous nous intéresserons surtout au métabolisme énergétique qui, par les réactions d'oxydo-réduction qu'il met en jeu, a une importance prépondérante sur beaucoup de mécanismes de biodétérioration.

Mais avant d'aborder ces exemples, il est nécessaire de préciser que le vocabulaire des biologistes dans ce domaine est susceptible de surprendre les chimistes et les corrosionnistes. En biologie, les bilans métaboliques s'intéressent aux espèces chimiques sans généralement en distinguer les différentes formes. Ainsi dira-t-on que "l'acétate" est un "acide gras volatil". Simplement, sans doute, parce qu'acétate est plus rapidement énoncé que "acide acétique" ou

"espèce acétique". En ne prenant pas en compte les différentes formes, sels ou acides, et les pK qui les déterminent, on en arrive donc à écrire des réactions métaboliques difficiles à équilibrer, comme cette illustration du métabolisme des bactéries sulfato-réductrices :

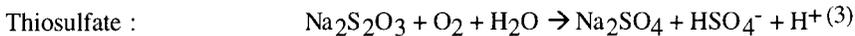
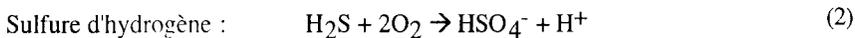
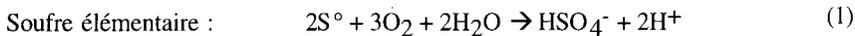


Ces "détails" n'ont que peu d'importance en biologie, où la mise en évidence des entités chimiques suffisent à élucider les voies métaboliques. Par contre, si microbiologistes, chimistes et corrosionnistes doivent ensemble imaginer des *mécanismes* de biodétérioration, il est *indispensable* que les équations des métabolismes soient écrites sous leur forme chimique adéquate, tenant compte entre autre du pK des couples acide-base. La raison en est simple : les biodégradations ne sont pas dues à une action *physique* des bactéries sur leur environnement, mais bien aux propriétés *physico-chimiques* des molécules impliquées dans leur métabolisme.

### V.3 Exemple d'une bactérie chimolithotrophe : *Thiobacillus ferrooxidans*

*Thiobacillus ferrooxidans* est une bactérie aérobie stricte chimolithotrophe obligatoire et autotrophe. Autrement dit, son accepteur terminal d'électrons est l'oxygène, la source d'énergie est minérale, et le CO<sub>2</sub> est la seule source de carbone cellulaire. Ces bactéries poussent donc sur des milieux extrêmement simples, puisqu'il ne faut leur fournir que la source d'énergie et quelques sels minéraux, dont les sources d'azote (ammonium) et de phosphore (phosphate). Le CO<sub>2</sub> et l'oxygène sont fournis par l'air de la chambre d'incubation.

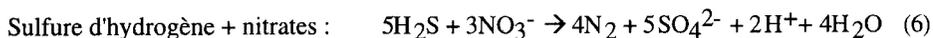
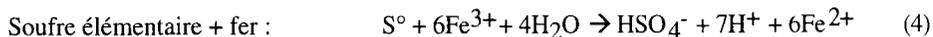
Ces organismes tirent leur énergie de l'oxydation de composés minéraux soufrés : pyrite, thiosulfate, soufre élémentaire, tétrathionate, FeS, H<sub>2</sub>S. Les équations du métabolisme énergétique sont les suivantes :



On peut noter que ces réactions génèrent de l'acide sulfurique - les thiobacilles sont acidophiles et poussent à pH 2 : en milieu aéré contenant une source de soufre minéral, *T. ferrooxidans* peut être un agent très efficace de biodétérioration. Son implication dans des phénomènes de corrosion des bétons, par exemple dans les réseaux d'égouts, a été rapportée.

L'énergie de ces réactions est utilisée pour la synthèse d'ATP, qui est consommé pour les synthèses des composants cellulaires à partir du CO<sub>2</sub>.

Bien que décrit comme aérobie stricte, on s'est aperçu assez récemment que *Thiobacillus ferrooxidans* pouvait puiser son énergie de l'oxydation anaérobie du soufre couplée à la réduction du fer ou des nitrates (respiration anaérobie) :

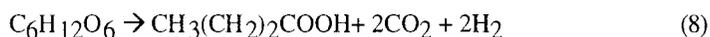


Les acides produits font de *T. ferrooxidans* un excellent candidat à la corrosion bactérienne en milieu anaérobie. Ceci n'a cependant pas été décrit à notre connaissance, peut-être parce que le fer ferrique et les nitrates sont peu abondants dans les écosystèmes très réducteurs.

#### V.4 Métabolisme des bactéries anaérobies fermentaires : l'exemple des *Clostridium*

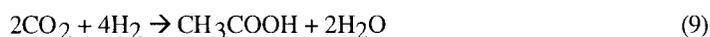
Les bactéries chimioorganotrophes anaérobies strictes fermentaires, dont les *Clostridium* sont le groupe le mieux décrit sous l'aspect métabolique, sont capables de fermenter un très grand nombre de composés : sucres, acides aminés, acides organiques... Certaines d'entre elles peuvent aussi utiliser des polymères polysaccharidiques ou protéiques (amidon, dextrines, cellulose, xylane, peptones...), qu'elles hydrolysent en oligomères ou monomères entrant dans les voies métaboliques. Les produits de la fermentation de ces composés organiques sont principalement des acides organiques, des alcools, du CO<sub>2</sub> et de l'hydrogène. Dans des écosystèmes anaérobies, les bactéries fermentaires se situent donc en amont des processus de biodégradation de la matière organique. Leurs produits sont utilisés par les bactéries tirant leur énergie de la respiration anaérobie, telles que les bactéries méthanogènes ou sulfato-réductrices, qui accomplissent les étapes finales de la minéralisation anaérobie de la matière organique en CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub>.

La fermentation du glucose par un *Clostridium* peut par exemple conduire à la production d'acétate (éq.7), ou de butyrate (éq.8), selon que l'une ou l'autre des réactions suivantes, génératrice d'ATP, est mise en oeuvre :

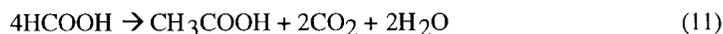
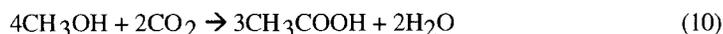


Les proportions des produits de réaction mesurés expérimentalement sont cependant rarement celles prédites par les schémas métaboliques, car des métabolismes parallèles sont très souvent impliqués : l'hydrogène produit par les réactions (7) et (8) peut par exemple être en partie utilisé pour la réduction de l'acétate en d'autres acides organiques (butyrate, caproate, succinate...) ou en alcools. Le tableau 8 donne quelques exemples de produits de fermentation dosés dans des milieux de culture.

Certains *Clostridium* hétérotrophes sont capables de se développer en autotrophie, en synthétisant de l'acétate à partir du CO<sub>2</sub> (ils sont dits **acétogènes**) :



Ils peuvent aussi synthétiser l'acétate à partir de composés organiques en C<sub>1</sub> tels que le méthanol (éq.10) ou le formiate (éq.11) :



Enfin, certains *Clostridium*, comme *C. thermoaceticum*, sont capables de synthétiser l'acétate à partir du CO<sub>2</sub> bien qu'ils soient hétérotrophes obligatoires, en associant les réactions (7) et (9). Le bilan métabolique devient alors :



Produits	<i>C. butyricum</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>C. acetobutylicum</i>
Acétate	42	60	14
Butyrate	76	34	4
Lactate	-	33	-
CO <sub>2</sub>	188	176	221
H <sub>2</sub>	235	214	135
Acétone	-	-	22
Butanol	-	-	56
Éthanol	-	26	6

Tableau 8 : Produits de fermentation (moles/100 moles de glucose fermenté)

### V.5 La respiration anaérobie: l'exemple des bactéries sulfato-réductrices

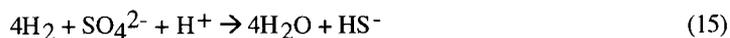
Ce que l'on appelle bactéries sulfato-réductrices (BSR) est en fait un groupe très divers d'une soixantaine d'espèces répertoriées à ce jour, appartenant à une quinzaine de genres différents. Elles ont pour seuls points communs d'être anaérobies strictes et d'utiliser le sulfate comme accepteur terminal d'électrons. Le métabolisme énergétique est assuré par le couplage de l'oxydation d'un substrat généralement organique (chimioorganotrophie) avec la réduction du sulfate. On distingue deux grandes classes métaboliques de BSR : les oxydants complets oxydent totalement leur donneur d'électrons, comme le lactate dans l'équation (13) :



Les oxydants incomplets produisent de l'acétate et du CO<sub>2</sub> (équ. 14) :



On connaît actuellement plus d'une centaine de molécules organiques pouvant être utilisées comme source de carbone et d'énergie par les BSR, depuis des acides organiques simples ou des alcools, jusqu'à des acides gras à longues chaînes, des aromatiques fonctionnalisés, et même des hydrocarbures linéaires saturés ou des hydrocarbures aromatiques. Les BSR peuvent de même utiliser différents accepteurs d'électrons : sulfate, mais aussi sulfite, thiosulfate, soufre élémentaire. Certaines "respirent" également le nitrate en absence de composés soufrés. D'autre part, certaines BSR peuvent utiliser l'hydrogène comme donneur d'électron, par l'intermédiaire d'enzymes appelées hydrogénases, dont l'importance a sans doute été surestimée en corrosion bactérienne (voir chapitre "Corrosion bactérienne dans l'industrie pétrolière"). Le métabolisme énergétique s'écrit alors :



La présence d'une source de carbone dans le milieu est ici indispensable pour assurer le métabolisme carboné ; ce sont généralement l'acétate ou le formiate qui sont utilisés, mais le CO<sub>2</sub> peut l'être également par de rares souches, qui sont donc chimiolithotrophes et

autotrophes dans ces conditions. Enfin, certaines souches sont capables de se développer par fermentation en absence d'accepteur d'électrons.

Il faut bien garder à l'esprit que, comme dans le cas de la fermentation, une souche bactérienne donnée n'est pas seulement capable de réaliser telle ou telle de ces réactions. Elle peut le plus souvent utiliser un assez grand nombre de donneurs et d'accepteurs d'électrons, ce qui lui permet de s'adapter aux disponibilités de son milieu. Le tableau 9 illustre cette diversité métabolique chez une souche isolée d'une eau de gisement pétrolier, *Desulfotomaculum kuznetsovii*. Il ne représente probablement qu'une image partielle de ses capacités métaboliques, puisque "seulement" 28 donneurs et 6 accepteurs d'électrons ont été testés.

## V.6 Métabolisme et biodétérioration

Les exemples décrits ci-dessus, qui ne représentent qu'une infime partie de la diversité métabolique microbienne, suggèrent la complexité des interactions possibles entre les bactéries et leur écosystème, et entre elles au sein de flores polymicrobiennes. L'accès à l'ensemble des données gouvernant la dynamique de populations impliquées dans des phénomènes de biodétérioration est impossible. Les modèles de biodétérioration, en corrosion bactérienne par exemple, ne prennent en compte qu'une partie de cette réalité, et doivent donc être manipulés avec beaucoup d'humilité. Mais ils ne sont pas pour autant inutiles : ils permettent d'identifier et de caractériser certains mécanismes-clés, des "facteurs de risque", cibles des traitements préventifs ou curatifs. L'étude de ces mécanismes peut même conduire à la découverte de nouvelles bactéries ayant des analogies métaboliques avec celles étudiées, alors qu'elles n'avaient pas été soupçonnées auparavant de jouer un rôle dans les phénomènes de biodétérioration (voir chapitre "Corrosion bactérienne dans l'industrie pétrolière").

Sources de carbone et d'énergie utilisés en présence de sulfate :			
Acétate	Lactate	Propionate	
Butyrate		Pyruvate	Malate
Fumarate		Valérate	Palmitate
Formate + CO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	Formate + Acétate	
H <sub>2</sub> + Acétate	Méthanol	Ethanol	
Glycérol			
Accepteurs d'électrons: Sulfate, sulfite, thiosulfate			
Composés fermentés en absence d'accepteur d'électrons : Fumarate			
pyruvate			
glycérol			

**Tableau 9:** Substrats utilisables par *Desulfotomaculum kuznetsovii*

En ce qui concerne la prévention ou la résolution des problèmes de biodétérioration, les microbiologistes et les corrosionnistes ont tout intérêt à raisonner en termes d'écologie microbienne : les traitements ne doivent pas s'adresser à un unique type bactérien, mais doivent cibler la flore bactérienne de l'installation traitée dans son ensemble, agissant ainsi simultanément sur tous les maillons des interactions microbiennes. L'usage de biocides à large spectre ou d'associations de biocides est un exemple de cette démarche (voir chapitres "Bactériostase et Bactéricidie").

## VI. Éléments de taxonomie

Dans toute science, il est nécessaire de définir et de nommer les objets étudiés. La bactériologie n'échappe pas à cette règle, et depuis l'origine de cette science, il y a un siècle environ, les souches bactériennes ont été décrites et baptisées de deux noms latins, de genre et d'espèce.

La **taxonomie** consiste en l'établissement d'une **classification** rassemblant les objets étudiés en groupes de plusieurs niveaux, de la **nomenclature** qui attribue un nom à chacun de ces groupes, et en l'**identification** de microorganismes en vue de les classer et de les nommer. L'identification est donc la mise en application pratique des règles de classification et de nomenclature.

### VI.1. Classification et nomenclature

Le niveau le plus bas de désignation d'une bactérie, qui n'est pas un niveau taxonomique, est celui de la **souche**, définie comme l'ensemble des cellules identiques qui descendent d'une cellule mère unique. C'est la "souche pure" destinée à être caractérisée, décrite, et nommée. Les souches sont classées dans les véritables niveaux taxonomiques, à commencer par l'**espèce** et le **genre**, puis la famille, l'ordre, la classe et la division. Le tableau 10 donne l'exemple d'une souche de bactéries sulfato-réductrice de référence déposée en collection internationale.

Règne:	Eubactéries
Division:	Gracilicutes
Classe:	Protéobactéries
Famille:	<i>Desulfovibrionaceae</i>
Genre:	<i>Desulfovibrio</i>
Espèce:	<i>desulfuricans</i>
Sous-espèce:	<i>aestuarii</i>
Souche:	NCIB9335

Tableau 10 : Classification de la souche NCIB9335

En pratique, on utilise seulement les noms de genre et d'espèce pour désigner une bactérie. Il s'agit de deux noms latins qui, par convention, sont toujours écrits en italiques, le nom de genre portant toujours une majuscule alors que le nom d'espèce n'en porte jamais (ex.: *Desulfovibrio desulfuricans*). Une espèce regroupe l'ensemble des souches ayant les mêmes caractéristiques que la **souche type** qui a été initialement décrite, déposée dans une collection internationale, et approuvée comme nouvelle espèce par les comités internationaux de nomenclature. Les *Approved Lists of Bacterial Names*, dont les révisions sont publiées régulièrement, font référence en la matière.

### VI.2 Définition de l'espèce bactérienne

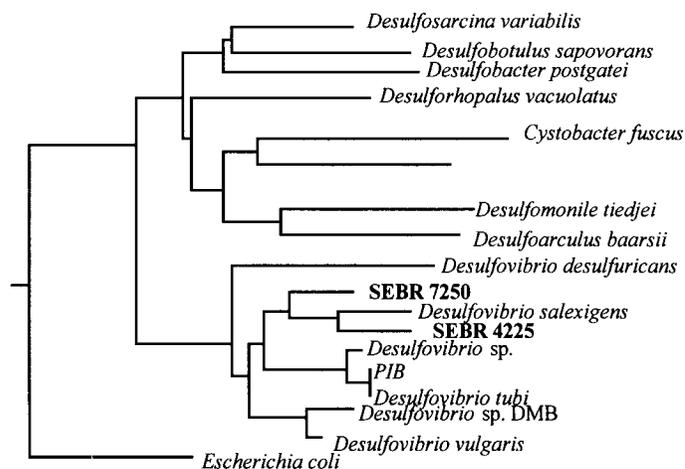
Chez les animaux, l'espèce est définie comme l'ensemble des individus interféconds. Les bactéries n'ayant pas de sexualité comparable à celle des organismes supérieurs, on attribuait

dans le passé un nom d'espèce à l'ensemble des souches partageant un grand nombre de caractères morphologiques, biochimiques, physiologiques, de pathogénicité, etc...

Aujourd'hui, la définition de l'espèce bactérienne est moléculaire : elle est définie comme l'ensemble des souches présentant une homologie de leur ADN (support physique des gènes) supérieure à 70%. L'homologie est mesurée par une méthode appelée hybridation ADN/ADN. Cette technique n'est en pratique utilisée qu'assez rarement, pour résoudre des ambiguïtés entre souches très proches. Actuellement, le séquençage des rARN 16S devient la référence la plus courante, car il permet de situer une bactérie inconnue par rapport à l'ensemble du monde bactérien.

### VI.3 Taxonomie et séquençage des ARN ribosomiques

Tous les organismes vivants partagent certaines caractéristiques moléculaires universelles, comme le code génétique par exemple. La machinerie moléculaire permettant la synthèse des protéines est un de ces points communs, puisqu'elle diffère finalement assez peu entre les organismes appartenant aux trois règnes. Parmi les éléments constituant cette machinerie figurent trois molécules d'acide ribonucléiques utilisées en taxonomie moléculaire. L'une d'entre elles, le rARN 16S chez les procaryotes, est constitué d'un enchainement d'environ 1600 bases nucléiques dont la **séquence** est très conservée chez tous les êtres vivants. Cette propriété permet de comparer la séquence d'un ARN 16S de bactérie avec la séquence homologue de n'importe quel organisme, et de mesurer le degré de divergence entre les deux individus. Toutes les séquences connues sont répertoriées dans des banques de données internationales. On peut donc ainsi comparer la séquence de l'ARN 16S d'une bactérie qu'on étudie avec celle de toutes les autres bactéries et construire, par un traitement mathématiques des données, un **arbre phylogénétique** montrant la position taxonomique de l'organisme étudié (figure 6).



**Figure 6** : Exemple d'arbre phylogénétique basé sur le séquençage du rRNA 16S, montrant la position taxonomique de deux souches nouvelles.

Le séquençage des rARN 16S, et l'exploitation de ses résultats, est une technique lourde, réservée à un petit nombre de laboratoires dans le monde. Elle n'est en pratique utilisée que pour la description d'une nouvelle espèce et pour des études de phylogénie.

#### VI.4 Comment et dans quel but identifie-t-on une bactérie ?

Les méthodes moléculaires qui viennent d'être décrites sont des méthodes de référence en taxonomie, mais sont en pratique impossibles à mettre en oeuvre au quotidien. L'identification courante d'une bactérie passe donc par des techniques plus traditionnelles, s'appuyant sur les caractères décrits lors de la publication d'une nouvelle espèce. Cette méthode impose la réalisation d'un très grand nombre de tests (tableau 11), qui ne sont pas toujours tous maîtrisés par un même laboratoire.

	<b>Indispensables</b>	<b>Facultatifs/éventuels</b>
Morphologie des cellules	Forme, taille, arrangement, mobilité	Type de flagellation, sporulation, capsule
Enveloppe cellulaire	Coloration de gram	Ultrastructure en microscopie électronique
Aspect des cultures	Aspect du milieu liquide, aspect des colonies	Couleur des cultures et des colonies
Composition chimique	Pourcentage en guanine et cytosine (GC%) du matériel génétique	Pigments cellulaires, lipides de membrane
Physiologie	Température, pH	Salinité, pression
Métabolisme	Type respiratoire (aéro/anaérobie), types trophiques (énergie et carbone), liste des donneurs et accepteurs d'électrons, des sources de carbone, d'azote, de soufre	Produits du métabolisme, besoins en vitamines, en facteurs de croissance
Écologie	Habitat naturel	Pathologie, biodégradations, biodétériorations

*Tableau 11 : Critères de caractérisation et d'identification d'une souche bactérienne (liste non exhaustive).*

Si beaucoup de ces tests sont standardisés, présentés sous forme de "kits", et parfois automatisés dans le domaine de la bactériologie médicale, il n'en va pas de même dès que l'on veut étudier des bactéries d'environnements naturels ou industriels. Leur mise en oeuvre est alors très artisanale, longue et fastidieuse. De plus, le choix des tests dépend très largement du groupe bactérien étudié. Dans ces conditions, on peut se demander si, confronté par exemple à un problème de biodétérioration, il est nécessaire d'identifier les bactéries en cause. Très souvent, la réponse sera clairement négative. Ceci peut être illustré par un exemple :

Une conduite en acier véhiculant de l'eau "perce" par corrosion interne. L'examen montre une corrosion par piqûre, et des BSR sont mises en évidence dans les prélèvements d'eau : le diagnostic de corrosion bactérienne paraît le plus probable, et le remède consiste à appliquer un traitement bactéricide qui éliminera les BSR, facteur de risque principal. Nul besoin, pour

cela, de savoir si l'espèce en cause est *Desulfovibrio desulfuricans*, *Desulfotomaculum nigrificans* ou une autre espèce au nom encore plus exotique ! Il vaut mieux consacrer son énergie (et ses budgets !) à mettre en oeuvre des tests de sélection d'un bactéricide efficace sur les bactéries mises en évidence dans les prélèvements.

Par contre, dans le cas de laboratoires étudiant des aspects plus fondamentaux, par exemple les mécanismes des phénomènes de biodétérioration, il peut être indispensable de travailler avec des souches pures clairement identifiées.

## VII Conclusion

La bactériologie est une science, étroitement liée à l'ensemble des sciences de la vie. Elle est aussi un métier. Les quelques aspects évoqués ci-dessus montrent à quel point les stratégies d'adaptation des micro-organismes à leur écosystème, leurs modes de développement, et leurs effets sur leur environnement, peuvent être complexes et variés. C'est pourquoi l'étude de la biodétérioration des matériaux ne peut être que pluridisciplinaire. Le dialogue entre corrosionnistes, chimistes, spécialistes des matériaux et microbiologistes permet de confronter des données aussi différentes que celles de la chimie, l'électrochimie, la biochimie et l'écologie microbienne. Un individu, l'idéal "biocorrosionniste", ne peut détenir et maîtriser seul toutes les pièces de ce puzzle. C'est pourquoi, même sur le terrain, la résolution de problèmes de biodétérioration ne s'avère efficace et rapide que si ce dialogue est mis en place dès la phase la plus initiale de la réflexion.

## Références

- [1] Crolet J.L. Matériaux et techniques. Décembre 1990 pp 9-13.
- [2] Woese C.R. and Fox G.E. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **74**: 5088-5090 (1977).
- [3] Magot M., Connan J. et Crolet J.L. La Recherche **25**: 936-937 (1994).
- [4] Ollivier B., Caumette P., Garcia J.L. and Mah R.A. Microbiol. Rev. **58**: 27-38 (1994)

## Ouvrages de base

- \* *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (4 volumes). Williams and Wilkins (1984).
- \* *The Prokaryotes* 2nd edition (4 volumes). Springer Verlag (1992).
- \* *Biology of Anaerobic Microorganisms*. A.J.B. Zehnder Ed. John Wiley and Sons (1988).
- \* Lehninger, Nelson et Cox: *Principes de biochimie* 2ème édition. Flammarion (1994).

## Chapitre 3

### Corrosion des polymères

Jean-Michel TRÉMILLON

**Résumé.** Après avoir introduit la notion de vieillissement ou corrosion des polymères, les différents modes généraux de dégradation de ces matériaux sont exposés : mode physique, mécanique, thermochimique, photochimique ou hydrolytique. L'influence de l'action de moisissure est enfin présentée.

#### 1. Introduction

Les spécialistes de polymères n'ont pas coutume d'utiliser le terme de "corrosion" pour les polymères. En général, ils parlent plutôt de "vieillissement". Pour autant, cette dégradation des polymères relève très de la même définition ISO 8044 que celle des métaux. Dans les deux cas, il s'agit là d'une interaction entre le matériau et son milieu environnant, aboutissant à une dégradation de ses propriétés d'emploi. Naturellement, les mécanismes de cette "corrosion des plastiques" n'ont rien à voir avec les mécanismes de la corrosion aqueuse des métaux. En particulier, la corrosion des polymères n'est évidemment pas électrochimique. Néanmoins, la notion même de corrosion n'est pas liée à un mécanisme particulier d'interaction, mais à l'existence d'une interaction avec l'environnement et au risque de dommage induit par cette interaction. Au total, c'est donc bien également de corrosion dont il faut parler à propos des polymères. Il s'agit même d'une notion fondamentale, et pourtant souvent mal connue, qui limite la diffusion de ces matériaux dans nombre d'applications à exigence de fiabilité élevée.

Une des différences principales avec les métaux est que, dans la corrosion des métaux, une partie du matériau se trouve dispersée dans l'environnement, alors que dans la corrosion des polymères, c'est au contraire une partie de l'environnement qui pénètre lentement dans le matériau. C'est donc cette différence qui a donné lieu historiquement à la différence d'appellation mentionnée, et à ce vocable particulier de "vieillissement". En effet, on peut aussi appeler vieillissement toute évolution lente et irréversible (dans les conditions d'utilisation), d'une ou plusieurs propriétés du matériau considéré. Cette évolution peut résulter de modifications de la structure des macromolécules qui assurent sa cohésion mécanique, de sa composition, ou de sa morphologie. Le vieillissement pose bien entendu des problèmes lorsqu'il se traduit par une altération des propriétés fonctionnelles (aspect, résistance mécanique, etc.), et l'on retombe alors sur la notion de corrosion. À nouveau, une des différences avec les métaux est que, sauf exceptions, il n'y a souvent pas d'apparence immédiate de corrosion pour les polymères. D'où leur réputation (fausse) de résister intrinsèquement à la corrosion. Les destructions immédiates sont effectivement relativement rares, en particulier dans l'eau, et elles sont liées le plus souvent à des solubilités spécifiques les rendant incompatibles avec certains solvants. Pour le reste, la corrosion des polymères est par essence une dégradation différée, ou une dégradation dont la perception est différée.

Pour une utilisation précise des polymères, le cahier des charges permet normalement de fixer (plus ou moins objectivement) un seuil au-delà duquel telle ou telle propriété cesse d'être apte à assurer la fonction attendue. Le temps écoulé entre la mise en service de l'objet et l'instant où il devient inapte au service est alors appelé "durée de vie utile". Celle-ci n'est pas une propriété intrinsèque du matériau, mais elle se rapporte à une propriété et à une utilisation bien définies.

Par ailleurs, le terme de vieillissement n'implique pas un mécanisme précis, mais un ensemble de phénomènes complexes faisant intervenir simultanément plusieurs paramètres de l'environnement (température, rayonnements, espèces chimiques...) Leurs effets sur le matériau sont multiples, et on peut les classer en deux grandes familles :

- le vieillissement physique, pris au sens large, a savoir tous phénomènes dans lesquels la structure chimique des macromolécules et autres constituants du matériau n'est pas modifiée. On distingue alors des phénomènes :

    sans transfert de masse (réorganisation interne, fissuration sous contrainte)

    avec transfert de masse (diffusion de solvant, perte de plastifiant)

    le vieillissement chimique, peut être lié :

        à la température (thermolyse, thermo-oxydation),

        aux radiations (photolyse, radiolyse, photo-oxydation, radio-oxydation),

        au contact de réactifs (gazeux, liquides ou biologiques).

Nous ne traiterons pas ici de ce que l'on pourrait appeler le vieillissement mécanique (fluage, relaxation, fatigue), et qui relève de manière spécifique de la rhéologie.

## 2. Vieillissement physique avec transfert de masse

### 2.1 Diffusion de solvant

La pénétration du solvant écarte les macromolécules, et entraîne la rupture de liaisons secondaires interchaînes. Il y a donc gonflement (augmentation du volume libre) et plastification. Cela peut aller jusqu'au développement de fibrilles (crazes), c'est à dire de décohésions internes dont les parois restent reliées par de nombreux ligaments fibrillaires.

Ces phénomènes font appel aux notions de solubilité et de diffusion. Les conséquences au plan pratique sont alors :

- une modification mécanique globale (théoriquement réversible) : diminution du module d'élasticité, de la contrainte au seuil d'écoulement et de la contrainte à rupture, augmentation de l'allongement à la rupture.

- une diminution de la température de transition vitreuse  $T_g$ .

- des gonflements différentiels, qui peuvent aller jusqu'à la décohésion des phases constitutives du matériau (alliages ou matériaux composites).

Le solvant pénètre dans le polymère selon une loi de diffusion, qui peut être appréhendée quantitativement par des mesures gravimétriques.

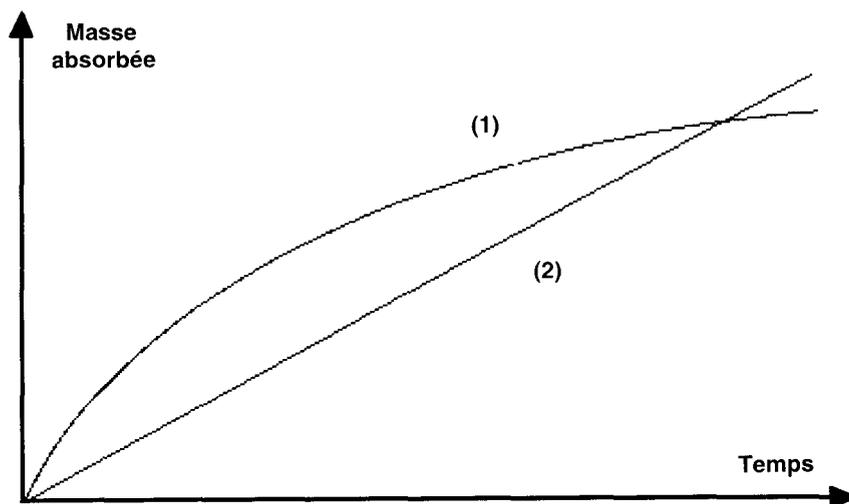
Le tableau 1 dresse une liste (non limitative) des solvants les plus agressifs vis-à-vis des principaux polymères.

#### *Cas de l'eau*

Solvant courant de l'environnement, et particulièrement polaire, l'eau joue un rôle à part. Elle est en particulier capable d'établir des liaisons hydrogènes relativement fortes avec les groupes polaires portés par le polymère.

Un des problèmes principaux lié à l'eau est celui des micro-vides du matériau, qui finissent par se remplir d'eau liquide en environnement humide.

Lorsque la température extérieure descend en dessous de 0°C, la glace formée entraîne alors le développement de contraintes intenses à la surface de ces cavités, de même si la température est portée rapidement au-dessus de 100°C.



**Figure 1 :** Gain de masse en fonction du temps

(1) Polymère dont la structure n'est pas modifiée : la limite de saturation est une limite de solubilité, et le phénomène est réversible.

(2) Polymère dont la structure ou la morphologie est modifiée

**Tableau 1 :** agressivité des solvants vis à vis des principaux polymères

Polymères	Solvants
PE	Hydrocarbures, hydrocarbures chlorés
PP	Hydrocarbures, hydrocarbures chlorés
PVC	Tétrahydrofurane, cétones, esters hydrocarbures chlorés
PS	Hydrocarbures, hydrocarbures chlorés, solvants oxygénés
PMMA	Alcools, cétones, hydrocarbures, hydrocarbures chlorés
Fluorés	Pratiquement insensibles
POM	Hydrocarbures
PA	Eau, phénols, diméthylformamide, acides organiques
PETP, PBTP	Eau, hydrocarbures chlorés
PC	Hydrocarbures aromatiques et chlorés
PPSU	Cétones, hydrocarbures chlorés et aromatiques
PPS	Amines, hydrocarbures chlorés
PPO	Hydrocarbures aromatiques et chlorés
Cellulosiques	Cétones, acides organiques
Thermodurcissables	Généralement plus résistants que les linéaires, Eau pour époxy, polyesters, polyamides et polyamides-imides, solvants chlorés et oxygénés pour polyesters

### ***Limitation éventuelle des problèmes de diffusion du solvant***

Une augmentation de la cristallinité ou du taux de réticulation entraîne une réduction des micro-hétérogénéités locales, et réduit donc la diffusion des solvants.

En présence de charges solides dans le polymère, certains agents de couplage entre la charge inerte et le polymère sont particulièrement "sensibles à l'eau". Il faut donc veiller à utiliser des agents de couplage performants.

Lorsque cela s'avère possible, l'utilisation de films-barrières est également une solution technologique performante.

## **2.2 Perte de plastifiants**

De même que la diffusion d'un solvant dans le polymère peut le plastifier, la migration des plastifiants hors des polymères peut faire l'effet inverse. Cette migration peut provenir :

- soit d'une évaporation : les cinétiques sont alors souvent très complexes, et liées aux interactions plastifiants/polymère. En première approximation, elles obéissent toutefois à des lois d'Arrhénius.

- soit d'une extraction : il s'agit alors d'une conséquence du même phénomène de diffusion de solvant décrit au paragraphe précédent.

Au plan thermo-mécanique, les conséquences se situent à l'inverse de celles de la pénétration de solvant, c'est à dire, cette fois, perte de souplesse et fragilisation, principalement à froid. De plus, certaines propriétés de surface pourront être modifiées par l'exsudation du plastifiant (adhésion, anti-statisme, etc.).

La parade à ce problème se situe au niveau du choix de plastifiants appropriés.

## **3. Vieillessement physique sans transfert de masse**

### **3.1 Réorganisation interne**

C'est ce que l'on appelle généralement "vieillessement physique" tout court. Il est lié uniquement à des causes internes au matériau, c'est-à-dire au fait que le matériau est, au terme de sa mise en œuvre, dans un état thermodynamique instable. Le vieillissement résulte alors d'une évolution plus ou moins lente vers un état plus stable. Cette évolution est liée à la mobilité moléculaire. On peut donc prévoir qu'elle sera d'autant plus rapide que la température sera élevée.

Le vieillissement physique se traduit par une réduction du volume libre, autrement dit par une augmentation de la compacité du réseau macromoléculaire. Toutes les propriétés liées au volume libre seront donc affectées : masse volumique, coefficient de dilatation,  $T_g$  (augmentation de l'endommagement détectée par une augmentation du frottement interne), etc. A long terme, la contrainte au seuil d'écoulement peut augmenter, alors que la résistance au choc généralement diminue.

Dans les polymères semi-cristallins, certaines parties de chaînes piégées dans la phase amorphe vont progressivement diffuser, et s'incorporer à des zones cristallines. On constate alors une augmentation du taux de cristallinité (PP, PE), qui peut entraîner une augmentation du module d'élasticité.

La stabilisation d'un polymère ne peut résulter que d'un traitement thermique à température légèrement inférieure à sa  $T_g$ , et permettant d'atteindre ainsi le plus rapidement possible un état de pseudo-équilibre.

### 3.2 Fissuration sous contrainte en milieu tensio-actif (Stress-Cracking)

Un véritable Stress-Cracking est un phénomène de surface, initié par une tension polyaxiale, en présence d'un agent externe ne produisant pas en lui-même de dégradation chimique dans le polymère. Selon l'ASTM D883, il se définit comme le développement de craquelures de dimensions importantes, dans lesquelles les zones fibrillaires "crazées" sont absentes, ou déjà sectionnées, ce qui entraîne un affaiblissement catastrophique des propriétés mécaniques, allant jusqu'à la fracture totale des éprouvettes.

Le phénomène est encore aujourd'hui mal compris des spécialistes. Deux concepts s'affrontent quant au mécanisme déterminant. L'un s'appuie sur des hypothèses faisant intervenir une absorption du liquide par le polymère. Ceci conduit à une certaine plastification et, par suite, à une modification des distributions des contraintes en fond de fissures. L'autre invoque préférentiellement le rôle joué par les interactions physiques se développant à l'interface entre le polymère et le liquide.

De toutes façons, il a été montré que la nature de la fracture est entièrement liée à l'aptitude du fluide agressif à pénétrer à l'intérieur de la fissure en croissance, et donc à maintenir le contact avec le front de fracture.

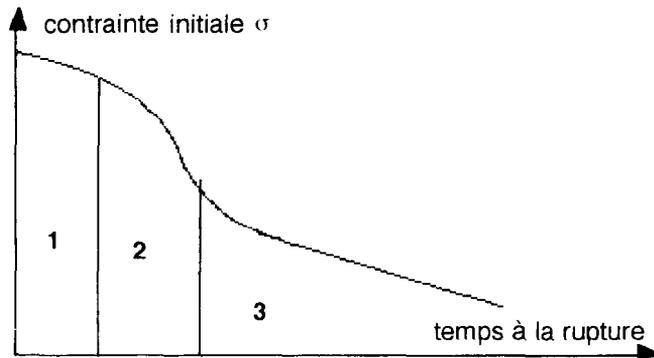


Figure 2 : Relation entre temps à rupture et contrainte initiale

Zone (1) :  $\sigma$  élevée ou liquide à forte viscosité et coefficient d'étalement  $< 0$ . La vitesse de pénétration du liquide est inférieure à la vitesse de propagation de la fissure, d'où rupture ductile comme en milieu air.

Zone (3) :  $\sigma$  faible ou liquide à faible viscosité et coefficient d'étalement  $> 0$ . La vitesse de pénétration du liquide est supérieure à la vitesse de propagation de la fissure, d'où rupture fragile, et véritable Stress - Cracking

Zone (2) : Rupture mixte, avec fracture très rugueuse.

La température est naturellement un facteur aggravant du phénomène. D'une manière générale, les cinétiques du cracking sont toujours accélérées par la teneur en basses masses du polymère, et par la quantité de microzones de faiblesse présentes : microcavités, microdégradations localisées, agglomérats d'impuretés, etc.).

Dans le cas des polymères semi-cristallins, les facteurs cristallographiques jouent un rôle important, et de nombreux auteurs ont démontré que le cracking de ces polymères est retardé par l'augmentation :

- du taux de cristallinité ;
- des enchevêtrements moléculaires, de la teneur en branchements et de la masse moléculaire ;
- de la teneur en superstructures élastomériques dispersées (tailles supérieures à 0,2  $\mu\text{m}$ ), qui jouent un rôle cicatrisant important même dans les polymères amorphes.

## 4. Vieillessement thermochimique

### 4.1 Vieillessement non oxydatif

Dans certaines conditions de mise en oeuvre ou d'utilisation, les matériaux sont, soit hors de tout contact avec l'oxygène, soit en contact avec celui-ci, dans des conditions telles que toute oxydation potentielle soit fortement limitée par la diffusion. La cause première d'évolution de la structure est alors purement interne, et due à la stabilité propre des liaisons chimiques du matériau.

La description de ces phénomènes n'entre pas dans le cadre de l'étude du comportement à long terme, la dégradation thermique n'étant sensible qu'à des températures supérieures au seuil au-delà duquel les propriétés mécaniques chutent notablement. Tout au plus faut-il garder en mémoire les défauts radicalaires ou chromophores que peuvent créer au sein du matériau les fortes températures de la mise en oeuvre.

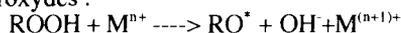
### 4.2 Thermo-oxydation

En règle générale, la très grande réactivité de l'oxygène vis-à-vis des radicaux libres fait que, dès qu'il est présent, le comportement à long terme du polymère est essentiellement gouverné par les réactions d'oxydation. Les réactions peuvent alors démarrer dès les températures ambiantes.

Le mécanisme standard est présenté sur la figure 3

#### *Limitation de la thermo-oxydation*

La stabilité d'un polymère est principalement liée à "l'arrachabilité" des hydrogènes, mais les impuretés, particulièrement les traces de métaux de transition (résidus catalytiques de la machine de transformation, ou pigments) ont un rôle accélérateur de la dégradation, en catalysant la décomposition des hydroperoxydes :



Il est possible de retarder ou limiter la thermo-oxydation en jouant sur l'un des niveaux du mécanisme :

- amorçage ---> capteur de radicaux ( $\text{R}^{\bullet} + \text{C} \text{---> produits stables}$ )
- arrachement d'hydrogène ---> donneur d'hydrogène plus rapide que la macro-molécule ( $\text{RO}_2 + \text{AH} \text{--->} \text{ROOH} + \text{A}^{\bullet}$  ( $\text{A}^{\bullet}$  stable))
- ramification ---> réducteur d'hydroperoxyde ( $\text{ROOH} + \text{X} \text{--->} \text{ROH} + \text{XO}$ ) et/ou complexation des ions métalliques

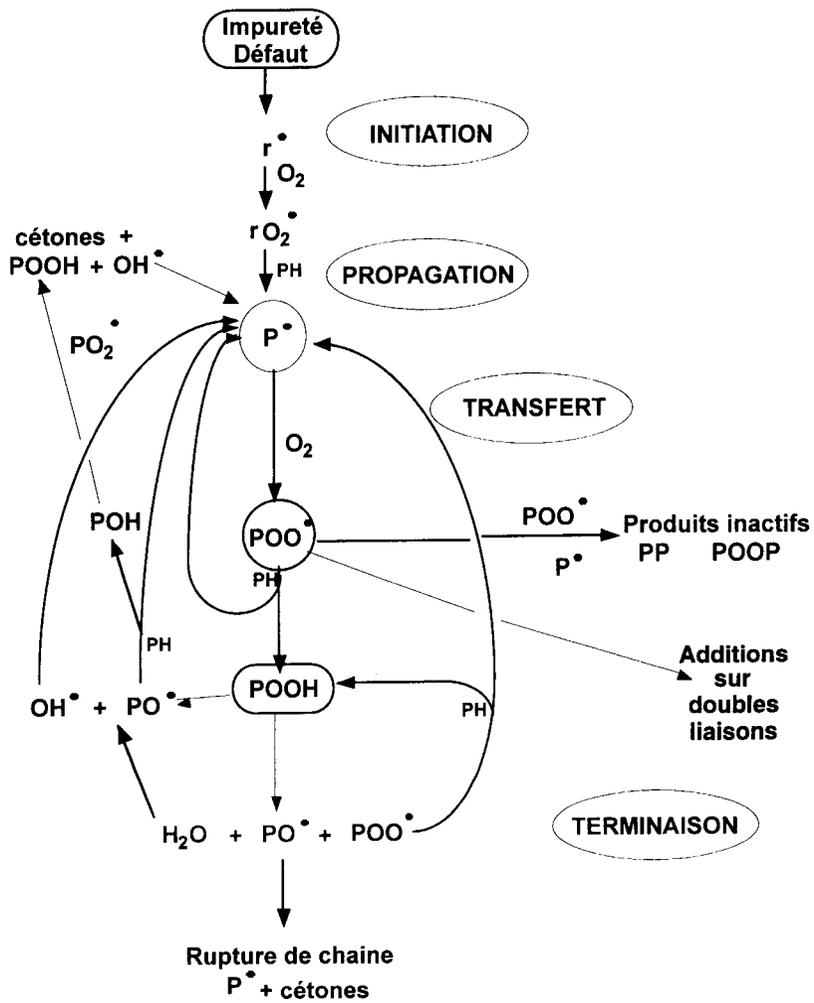


Figure 3 : Mécanisme général de l'oxydation.

## 5. Vieillessement photochimique

Le vieillissement climatique des polymères est principalement provoqué par le rayonnement direct du soleil, dont les effets sont cependant grandement perturbés par les autres facteurs atmosphériques que sont la chaleur, l'humidité et les intempéries. Le caractère excessivement fluctuant de ces paramètres rend très ardue l'étude et la prévision des phénomènes de photodégradation.

### 5.1 La lumière et les polymères

Les photons UV peuvent réagir avec la matière : ils ont en effet une énergie suffisante pour faire passer une molécule de son état fondamental à un état excité (400 kJ/mole) . Les mêmes processus sont souvent inaccessibles par simple élévation de température.

La lumière solaire est filtrée par l'atmosphère terrestre , principalement par l'ozone au niveau du rayonnement UV (coupure à 290 nm). En moyenne, l'énergie solaire globale se situe entre 300 kJ/cm<sup>2</sup> au nord de l'Europe et 800 kJ/cm<sup>2</sup> dans les régions tropicales désertiques. On compte environ 42 % de rayons infrarouges, 52 % de visibles et 6 % d'ultraviolets, ce qui donne 10<sup>20</sup>-10<sup>21</sup> photons/cm<sup>2</sup> au nm dans le domaine des UV.

Toutefois, la majorité des structures hydrocarbonées aliphatiques ainsi que les fonctions simples absorbent seulement dans l'U.V. lointain (< 250 nm). Seuls les groupes aromatiques peuvent dans quelques cas absorber au-dessus de 300 nm (polycarbonate, PA et PI aromatiques par exemple).

En première analyse, la plupart des polymères classiques devraient donc être stables sous rayonnement solaire, ce qui n'est à l'évidence pas le cas. En fait, leur instabilité est liée à la conjonction de deux causes , la présence d'impuretés chromophores pour (>300 nm, et leur aptitude à subir des processus d'oxydation en chaîne. Ces impuretés photosensibles peuvent être :

- des résidus catalytiques,
- des traces de sels métalliques,
- des hydrocarbures aromatiques polynucléaires,
- des adjuvants aromatiques,
- des produits de dégradation (hydroperoxydes, cétones) liés à la mise en œuvre (thermo- et mécano-oxydation).

### 5.2 Mécanismes généraux

Comme pour le vieillissement thermique, la présence d'oxygène conditionne la photochimie des polymères. La photodégradation non oxydative n'intervient que pour les polymères absorbant intrinsèquement au-dessus de 290 nm, et pour quelques autres en situation de déficit en O<sub>2</sub> (pièces épaisses à la dégradation oxydative déjà amorcée).

Le schéma général de l'oxydation est toujours valable (figure 3). La structure absorbante initiale est en général en très faible quantité. Elle ne joue alors un rôle important que dans la mesure où une réaction en chaîne prend le relais, et joue le rôle d'amplificateur.

Deux différences importantes existent cependant entre photo- et thermo-oxydation :

- les hydroperoxydes sont photolysés par les photons UV, ce qui a pour effet l'absence de temps d'induction, et une rapidité d'obtention des phénomènes de coupure de chaîne.
- les cétones sont photolysées par les photons UV (processus de Norrish), ce qui permet de nouvelles possibilités de rupture de chaînes, et conduit à un grand nombre d'espèces oxydées.

### 5.3 Photostabilisation

Les paramètres de structure du polymère influencent la photodégradation :

- arrachabilité des hydrogènes (comme pour la thermo-oxydation)
- nature et concentration des chromophores initiaux.
- perméabilité à l'oxygène.

La photostabilisation, c'est à dire la lutte contre la photosensibilisation, passe obligatoirement par la rupture de la réaction en chaîne de l'oxydation, c'est à dire par l'addition de composés à effets physiques ou chimiques, et peuvent agir à différents niveaux du mécanisme général (figure 3) :

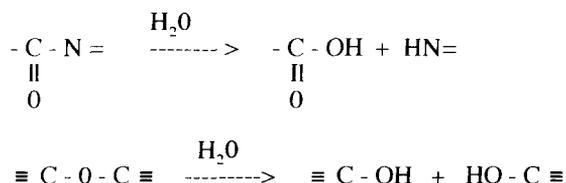
- pigments et charges minérales (effet d'écran interne),
- absorbeurs UV,
- "quenchers" (désactivateurs d'états excités),
- antioxydants (capteurs de radicaux),
- réducteurs d'hydroperoxydes.

Ces additifs sont fréquemment associés lorsqu'ils peuvent agir en synergie, mais il faut savoir qu'ils peuvent également présenter dans certains cas des antagonismes importants.

## 6. Vieillessement hydrolytique

Dans certains cas, le polymère ne se contente pas de fixer des molécules d'eau, mais il réagit plus ou moins rapidement avec elles. Les effets de l'hydrolyse, principalement chute de masse molaire par coupure de chaînes, se superposent à ceux résultant de l'interaction physique (plastification, gonflements différentiels, extraction, etc.), ce qui rend assez compliquée l'étude expérimentale du phénomène.

Beaucoup de polymères commerciaux possèdent dans leur squelette des groupements chimiques hydrolysables tels que amide, imide, uréthane, ester ou éther. Par exemple :



De plus, ces réactions peuvent être catalysées par des espèces acides ou basiques, ce qui augmente la sensibilité du polymère à son mode de terminaison de chaîne ou aux additifs/impuretés (exemple : les pluies acides peuvent être particulièrement agressives pour des polycarbonates, des polyesters insaturés ou des polyamides).

Ces réactions chimiques sont contrôlées par des lois d'Arrhénius, avec des énergies d'activation relativement importantes. La température joue donc toujours un grand rôle.

La sensibilité à l'hydrolyse est inhérente à chaque polymère, mais elle diminue avec l'augmentation de masse moléculaire et le taux de cristallinité,

Enfin, il faut faire très attention à la présence de traces d'eau après polymérisation, car elles peuvent démarrer la dégradation dès la mise en œuvre...

## 7. Moisissures et polymères

Ce chapitre anticipe sans doute un peu sur la suite de l'ouvrage. Néanmoins, il s'articule directement avec les mécanismes de dégradation des polymères. Les moisissures sont en effet capables de provoquer chez certains polymères des processus de détérioration, qui peuvent présenter plusieurs niveaux :

- modification d'aspect : formation de tâches qui, sans altérer les propriétés, sont inopportunes lorsque le matériau a une vocation esthétique. Il ne faut pas oublier en effet les réflexes de rejet et de dégoût qu'éprouve toute personne devant utiliser un matériel "moisi". De même, certaines moisissures étant pathogènes, elles peuvent présenter quelques risques.
- altération de certaines propriétés fonctionnelles liées à la surface du matériau (isolation électrique, étanchéité, masquage optique, organolepsie, perméabilité...).
- modification des propriétés mécaniques par processus induits (fragilisation, fissuration...)

Les moisissures sont omniprésentes dans l'atmosphère, le sol, etc. ..., et leurs spores peuvent être véhiculées par de nombreux vecteurs (vent, insectes, hommes) et atteignent n'importe quel matériau. Pour se développer, elles auront ensuite besoin :

- d'une source de carbone organique (sous une forme assimilable).
- de différents éléments (N, Mg, P, S, ...),
- d'oxygène, celui-ci pouvant être utilisé sous sa forme dissoute.

Cependant, tous ces éléments nutritifs ne sont pas suffisants si certaines conditions d'environnement ne sont pas réunies, à savoir :

- une température située entre 15 et 40°C,
- une humidité relative supérieure à 70 %, cette condition étant la plus importante,
- obscurité et confinement (paramètres favorisant mais non indispensables).

Les métabolismes de développement de ces moisissures conduisent alors à deux types d'attaque des polymères :

- une attaque dite indirecte, où les produits du métabolisme (acides organiques par exemple) attaquent les matériaux par voie chimique,
- une attaque dite directe, où elles utilisent les matériaux eux-mêmes comme source nutritive grâce à des actions enzymatiques.

Pour être utilisée, toute substance nutritive doit pénétrer dans la cellule mycélienne, et donc au préalable traverser la paroi (enveloppe rigide assurant la protection des cellules contre le milieu). Les petites molécules pénètrent soit par perméabilité, soit par l'intermédiaire de "transporteurs" (par exemple enzymes appelées perméases), sans subir de transformation. Les grosses molécules à haute masse moléculaire ne peuvent pas pénétrer sans subir au préalable des transformations, qui ont pour but de réduire leur dimension. A cet effet, les moisissures synthétisent des enzymes dites extra-cellulaires, dont le rôle est de "découper" les grosses molécules en petites molécules qui pourront ensuite pénétrer dans la cellule.

Il apparaît donc que la nature chimique et physico-chimique du polymère influera très directement sur sa résistance aux moisissures :

- les macromolécules longues et ramifiées (ou réticulées) seront plus difficilement "séquençables",
- la présence de liaisons facilement hydrolysables par les enzymes (esters, amides) facilitera le "découpage".

Toutefois, la nature des adjuvants et additifs du polymère est souvent prépondérante sur sa résistance finale. Plastifiants, lubrifiants, stabilisants, charges... se retrouvent en effet dans le produit fini en quantités non négligeables, et peuvent devenir réellement "comestibles" s'ils sont accessibles à la moisissure, c'est-à-dire s'ils viennent migrer à la surface.

Enfin, la présentation du matériau peut aussi se révéler fondamentale. Pour qu'une moisissure puisse se développer sur un matériau, il faut d'abord qu'elle "s'accroche" à sa surface. Certains matériaux seront donc plus facilement colonisables que d'autres. Les matériaux à surface irrégulière, ceux présentant des cavités, ou des structures cellulaires (mousses), se prêteront donc le plus aux attaques mycéliennes, ce d'autant plus que ces irrégularités de surface sont sensibles à l'encrassement naturel (dépôts organiques par exemple), lequel à son tour sera susceptible de favoriser le développement mycélien. L'épaisseur du matériau n'a *a priori*, pas d'influence sur le développement des moisissures : un matériau fin ou mince sera simplement, en cas d'attaque, plus fragile qu'un matériau épais.

Vis-à-vis du risque de corrosion par les moisissures, on comprend ainsi toute l'influence des mécanismes propres du vieillissement des polymères, mécanismes entraînant :

- cassures de macromolécules et création de nutriment,
- augmentation de la rugosité de surface,
- migration d'adjuvant.

Il est à noter que la résistance du polymère peut être renforcée par l'ajout d'un fongicide. En revanche, cette protection est rarement définitive car l'efficacité des fongicides s'estompe avec le temps.

En conclusion, il apparaît, au vu de la diversité des polymères et des adjuvants, qu'il est extrêmement difficile de faire des généralisations en matière de résistance des matériaux polymériques à l'action des moisissures. Bien que souvent considérés comme résistants, de nombreux matériaux polymériques peuvent s'avérer sensibles lorsqu'ils se trouvent dans des conditions d'humidité favorables aux moisissures. Cette sensibilité est alors d'autant plus marquée que le matériau résiste par ailleurs plus mal au vieillissement.



# Chapitre 4

## Introduction à la biologie des moisissures

Marie-France ROQUEBERT

**Résumé.** Les champignons du groupe des moisissures jouent un rôle très important dans le cycle du carbone par la biodégradation de la matière organique naturelle. Leur mode spécifique de développement, croissance apicale, ramification, formation de spores et les actions de biodégradation enzymatiques et métaboliques qui y sont liées sont exposées.

### I. Introduction

Moisissures et bactéries sont souvent traitées, dans les domaines de l'application, sous le vocable général de "microorganismes". Il s'agit pourtant d'organismes bien différents réunis seulement par leur taille microscopique.

Le terme de "moisissures" n'a pas réellement de signification systématique; il est utilisé de façon empirique pour désigner tous les champignons microscopiques qui intéressent l'économie et l'environnement humains, de façon bénéfique ou néfaste. Les moisissures sont des champignons et en ont donc tous les caractères fondamentaux.

### II. Caractères généraux des champignons

Ce sont des **Eucaryotes** avec des noyaux typiques entourés d'une membrane, contenant des chromosomes. Ce caractère les différencie des bactéries qui sont des **Procaryotes** avec un chromosome libre à l'intérieur de la cellule. Les cellules d'Eucaryotes contiennent des organites, mitochondries, corps de Golgi et vacuoles à l'intérieur du cytoplasme et se divisent par mitoses et méioses.

#### II.1 Place des champignons dans le règne vivant

Après avoir, suite à des observations morphologiques, cytologiques et ultrastructurales, considéré l'ensemble des champignons comme un règne à part dans le monde des eucaryotes à côté des animaux, des plantes et des protistes (2), les études moléculaires contemporaines montrent qu'il s'agit d'un groupe hétérogène, polyphylétique, éclaté dans trois règnes différents : chromistes, protozoaires et vrais champignons ou Eumycota (2). Il semblerait même qu'ils soient plus près des animaux que des plantes (2). Cependant, ces récentes indications demandent à être confirmées.

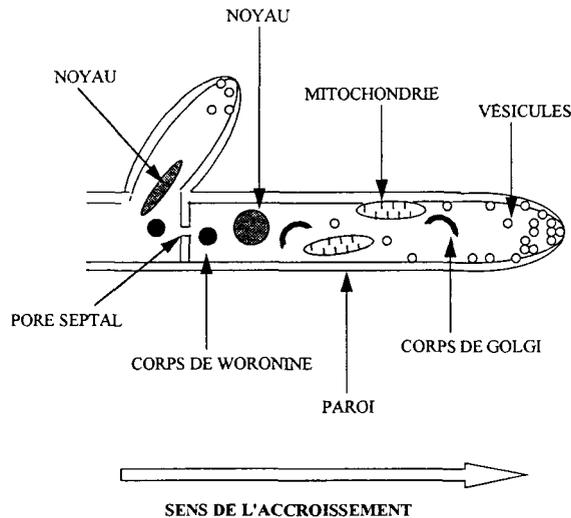
#### II.2 Appareil végétatif

L'appareil végétatif des champignons, c'est à dire celui qui est impliqué dans la nutrition, le développement et par suite l'envahissement du substrat, est un **thalle** soit unicellulaire chez les levures soit, le plus fréquemment, composé de filaments chez les champignons filamenteux. Chaque filament est une **hyph** dont l'ensemble constitue un réseau : le **mycélium**.

### III. Mode de développement des champignons

#### III.1 Structure des hyphes

Les hyphes sont des sortes de tuyaux, de 2 à 10  $\mu\text{m}$  de diamètre contenant le cytoplasme, les noyaux et autres organites cellulaires, le tout étant limité par une membrane plasmique et une paroi rigide constituée de protéines, polysaccharides (cellulose chez les Oomycètes) et chitine comme composant majeur. Elles sont généralement cloisonnées transversalement formant une succession de longues cellules plurinucléées. Dans les parties jeunes du mycélium les cloisons sont incomplètes, c'est à dire perforées, et permettent le passage du contenu cellulaire d'un compartiment à l'autre ( Fig. 1).



**Figure 1:** Représentation schématique de la structure d'une hyfe en accroissement apical avec ramification.

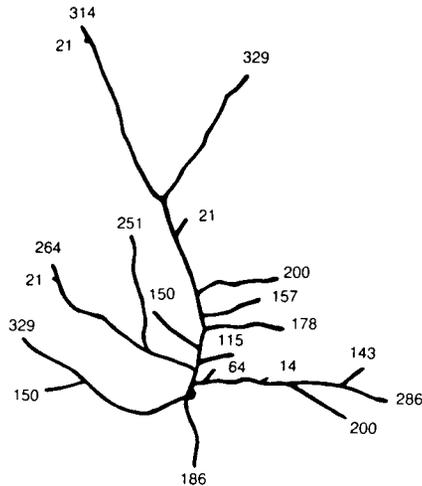
Dans les zones les plus âgées, elles sont fermées, obturées par des corpuscules particuliers (corps de Woronine ou parenthésomes pour ne citer que les principaux) isolant les parties en voie de dégénérescence, largement vacuolisées, des parties actives au cytoplasme plus dense avec ribosomes, mitochondries et petites vésicules. Le mycélium des Zygomycètes n'est pas cloisonné (mycélium coenocytique).

#### III.2 Croissance des hyphes

La colonisation du substrat est réalisée par extension et ramification des hyphes. Leur accroissement s'effectue par le sommet (apex). Les parties terminales sont donc les parties actives où s'effectue l'essentiel des activités de synthèse et de dégradation nécessaires à la croissance et à la reproduction. Elles sont caractérisées par la présence de nombreuses vésicules cytoplasmiques contenant les enzymes et les précurseurs de synthèses de la matière cellulaire. Les hyphes sont appliquées sur le substrat ou parfois immergées dans celui-ci. Elles absorbent, à travers leur paroi, l'eau, les substances nutritives et les ions qui y sont contenus. Cette fonction implique une perméabilité pariétale qui diminue de l'apex vers les zones plus âgées où la paroi se différencie structurellement et

devient plus étanche. Dans les zones actives il y a en permanence des échanges entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule.

L'appareil végétatif, ainsi constitué en une sorte de toile d'araignée dense et appliquée au substrat, est le plus actif et efficace dans la dégradation. Celle-ci peut être infime ou considérable, selon l'adaptation spécifique du champignon, la durée et les conditions de développement. En condition favorables, et surtout en culture artificielle, la vitesse d'accroissement peut être importante (Fig.2) et il peut se former de très grosses quantités de mycélium et donc de protéines, qui sont utilisées par exemple pour l'alimentation animale (1). En conditions naturelles ils se forme, dans la plupart des cas, des quantités plus réduites de mycélium, mais qui peuvent avoir une activité intense.



**Figure 2 :** Longueur des hyphes de *Mucor hiemalis* après une heure de croissance à 25°C sur milieu artificiel (en  $\mu\text{m}$ ). D'après Trinci, 1971.

## IV. Nutrition et Physiologie

### IV.1 Généralités

Les champignons sont **hétérotrophes** car ils ne peuvent pas, comme les plantes vertes, synthétiser la matière organique à partir du  $\text{CO}_2$  atmosphérique grâce à la photosynthèse. Ils doivent donc puiser dans le milieu ambiant l'eau, l'énergie et les substances organiques et minérales nécessaires à la synthèse de leur propre matière. Ils peuvent être **saprophytes**, se développant sur des substrats morts ou inertes, **parasites**, se développant aux dépens d'organismes vivants qu'ils finissent par tuer, préparant ainsi la place aux saprophytes, ou encore **symbiotiques**. La symbiose est une association à bénéfice réciproque entre un champignon et un autre organisme : algue pour former les lichens ou plantes sous forme de mycorhizes. On estime que 85% des plantes sont mycorhizées, la plante apportant la matière organique et le champignon les sels minéraux et l'eau puisés dans le sol, assez loin grâce à l'extension du mycélium.

Toutes les moisissures sont saprophytes. Elles aident par leur développement et les activités métaboliques corrélées, à la dégradation et au recyclage de la matière organique. Dans la nature, cette action de biodégradation est souvent corrélée à celle des bactéries et des microanimaux.

Ils absorbent leurs aliments à travers la paroi de leur appareil végétatif. Cette façon de se nourrir caractérise les organismes **absorbotrophes**.

Tableau 1: Principales enzymes produites par les moisissures. D'après J. Florent 1993

ENZYMES	MOISSURES PRODUCTRICES
<b>Hydrolases</b>	
<b>Glucidases</b>	
Glucoamylases	<i>Aspergillus awamori</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>A. saitoi</i> , <i>A. niger</i> , <i>Rhizopus niveus</i> , <i>R. delemar</i> , <i>Mucor pusillus</i> , <i>M. rouxianus</i>
$\alpha$ -Amylases	<i>A. oryzae</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. sojae</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Rhizopus sp.</i>
$\beta$ -Glucanase	<i>A. oryzae</i> , <i>A. niger</i>
$\alpha$ -Galactosidase	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Mortierella vinacea</i>
$\beta$ -Galactosidase (Lactase)	<i>A. niger</i>
Dextranases	<i>Penicillium funiculosum</i> , <i>Trichoderma sp.</i>
Pectinases	<i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>Penicillium glaucum</i>
Pentosanase	<i>A. niger</i>
Linamarase	<i>Penicillium steckii</i> , <i>Aspergillus sydowii</i>
Naringinase	<i>A. niger</i>
Cellulases (enzyme C <sub>1</sub> , $\beta$ -1,4 glucanases, cellobiases)	<i>A. niger</i> , <i>A. wentii</i> , <i>P. funiculosum</i> , <i>Trichoderma reesei</i> , <i>T. viride</i> , <i>T. koningii</i>
Lipases et estérases	<i>A. niger</i> , <i>R. delemar</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Mucor javanicus</i> , <i>M. miehei</i> , <i>Absidia butleri</i>
<b>Protéases</b>	
Protéases acides	<i>M. pusillus</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>A. saitori</i> , <i>A. niger</i> , <i>Trametes sanguineara</i>
Protéases neutres	<i>A. oryzae</i>
Protéases alcalines	<i>A. oryzae</i>
Présures	<i>Endothia parasitica</i> , <i>M. miehei</i> , <i>M. pusillus</i>
L-Amino-acide acylase	<i>A. oryzae</i>
<b>Oxydases</b>	
Glucose oxydase	<i>A. niger</i> , <i>P. glaucum</i> , <i>P. notatum</i>

Ils produisent une grande variété d'enzymes extracellulaires, oxydases, hydrolases (Tableau 1) et peuvent utiliser, en les dégradant, la plupart des substrats organiques naturels y compris la cellulose, la chitine, l'amidon et la lignine ... Ces hydrates de carbone sont métabolisés pour produire de l'énergie et des précurseurs pour la synthèse du matériel cellulaire. L'ensemble des réactions de dégradation (catabolisme) et de synthèse (anabolisme) est naturellement régulé pour maintenir l'équilibre nutritionnel des cellules (1).

Dans les produits qui participent au métabolisme on peut distinguer les **métabolites primaires**, éléments de base à partir desquels sont, à leur tour, synthétisées les molécules essentielles à l'édification de la cellule (protéines, acides nucléiques, coenzymes, polysaccharides, lipides). Les **métabolites dits secondaires** ne sont pas indispensables à la croissance du microorganisme, et leur stockage s'effectue dans les hyphes ou bien ils peuvent être excrétés. Ces métabolites secondaires (antibiotiques, mycotoxines...) jouent un rôle non négligeable dans la nature, au bénéfice de ceux qui les produisent. Leur synthèse est exploitée à grande échelle dans l'industrie.

En résumé, le champignon dégrade le support à la fois par émission d'enzymes et d'acides, transformation des composants et rejet des déchets à l'extérieur ou stockage.

## IV.2 Facteurs de développement

Comme chez tous les êtres vivants, la physiologie de la cellule fongique est sous contrôle du génome et d'un certain nombre de facteurs externes qui participent au déroulement du programme génétique (Fig. 3).

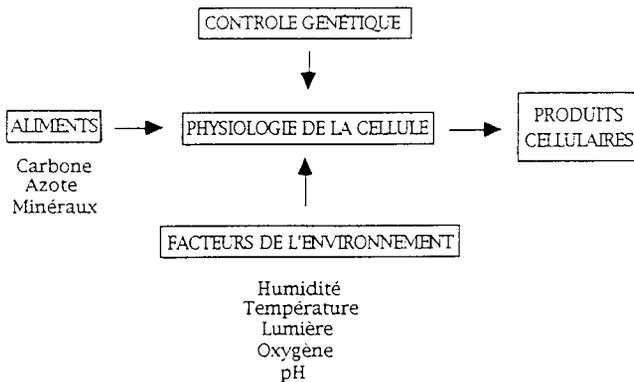


Figure 3 : Facteurs intervenant sur la physiologie de la cellule fongique.

### IV.2.1 Les éléments nutritifs

Les principaux éléments nutritifs sont le carbone et l'azote, généralement utilisés sous forme de composés organiques. Le potassium, le phosphore, le magnésium, le soufre sont les éléments indispensables même en quantité très réduite. Le cuivre, le manganèse, le zinc et le molybdène sont des oligoéléments qui avec les vitamines, sont indispensables pour le fonctionnement des enzymes.

Certains produits (acides aminés par exemple) peuvent pénétrer dans la cellule sans transformation tandis que d'autres tels l'amidon, la cellulose, les protéines doivent être transformés préalablement par le champignon en molécules plus simples, assimilables. Quelle que soit la nature des produits absorbés, ils le sont en très petite quantité, suite au caractère microscopique des moisissures, entraînant une consommation très faible mais qui peut, à la longue, être dégradante et corrosive pour le substrat. On a récemment montré que des champignons peuvent se développer en l'absence apparente de nutriments, phénomène appelé **oligotrophie**. Il semble qu'ils soient ainsi capables de tirer le carbone des composés de l'ambiance volatiles (acétone) ou gazeux de (méthane).

Cette oligotrophie est particulièrement importante dans les actions de biodétérioration ou de biocorrosion puisqu'elle explique que les champignons puissent se développer à la surface de supports non organiques (métaux ou verre) ou organiques à faible disponibilité (plastiques) et causer des taches et des altérations.

#### IV.2.2 Les facteurs de l'environnement

À la différence des substances nutritives qui ne sont pas limitantes dans la majeure partie des cas, les facteurs de l'environnement peuvent constituer un élément déterminant pour l'initiation et la poursuite du développement des champignons.

##### IV.2.2.1 La température

La plupart des champignons, surtout les moisissures, sont **mésophiles** c'est à dire qu'ils se développent autour de 20°C. Pour chaque espèce on définit des températures **cardinales** qui sont les températures minimales, optimales et maximales de croissance. Selon leur faculté de croissance à hautes ou basses températures, on reconnaît différentes catégories.

**Tableau 2.** Échelles de températures de croissance de quelques moisissures et températures optimales, en °C.

Catégories	Echelles	Opt.	Exemples
Psychrophiles	<0 - 20	0 - 17	<i>Thamnidium elegans</i> <i>Fusarium nivale</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>
Mésophiles	0 - 50	15 - 40	la plupart
Thermotolérantes	0 - >50	15 - 40	<i>Aspergillus candidus</i> <i>Aspergillus fumigatus</i>
Thermophiles	20 - 50	40-50	<i>Mucor miehei</i> <i>Rhizomucor pusillus</i>

Quelques moisissures sont **thermorésistantes** c'est à dire qu'elles peuvent supporter les températures très élevées (50% de viabilité à 85°C pour *Neosartorya fischeri*) et donc résister, à la pasteurisation : leur résistance dépend en grande partie du milieu dans lequel elles se trouvent (pH, teneur en sucre...).

##### IV.2.2.2 L'humidité

La quantité d'eau disponible dans le substrat et l'ambiance environnante, est le facteur déterminant pour le développement des champignons.

Les moisissures requièrent moins d'humidité relative que les bactéries. La valeur minimum de l'hygrométrie pour que commencent à se développer certaines moisissures, dites **xérophiles**, est de 65% tandis que celle des bactéries se situe autour de 95%. En conditions humides ce sont d'abord les bactéries qui s'installent puis les moisissures, si l'humidité décroît.

Pour un même organisme (*Eurotium repens*) les taux d'humidité nécessaires à la germination, la croissance et la sporulation peuvent ne pas être rigoureusement les mêmes.

##### IV. 2.2.3 L'oxygène

D'une façon générale, les champignons sont des organismes aérobies. Cependant, certains sont peu exigeants tel que *Penicillium expansum* qui se développe à 2,1% d'oxygène et *P. roquefortii* qui supporte une teneur de 4% d'oxygène à l'intérieur des fromages. On a même découvert, dans le rumen des animaux, des espèces complètement anaérobies (5).

#### IV 2.2.4 Le pH

Les champignons sont peu sensibles au pH du milieu. Ils se développent entre 4,5 et 8 avec un optimum entre 5,5 et 7,5. Certaines espèces peuvent se développer entre 1,7 et 2.

### V. Reproduction

Lorsque le substrat commence à s'épuiser, les moisissures doivent tenter d'en coloniser d'autres. Cette fonction est assurée par la formation de **spores**, éléments de conservation et de dispersion qui se détachent et survivent aux conditions difficiles avant d'aller contaminer d'autres lieux. Ce sont des cellules deshydratées, au métabolisme ralenti avec une paroi épaisse qui les protège de l'environnement. A cause de cette protection, elles sont beaucoup plus résistantes que le mycélium aux procédés de décontamination. Dans les essais de traitement curatif on prendra donc garde de travailler sur des souches abondamment sporulantes.

Les spores sont transportées par l'air, l'eau ou d'autres vecteurs humains ou animaux et peuvent survivre très longtemps avant de germer et redonner le champignon.

Elles proviennent de reproduction sexuée ou asexuée ; les deux formes de reproduction peuvent être simultanées, ou séparées dans le temps ou selon les conditions écologiques. On ne connaît alors le champignon que sous l'une ou l'autre forme. Chez la plupart des moisissures on ne connaît que la reproduction asexuée.

La formation des spores peut s'effectuer selon des procédés très divers. Cette diversité, associée aux différences de forme, ornementation, couleur, est exploitée pour l'identification et la classification.

### VI. Taxonomie des champignons

L'identification précise des moisissures, comme celle de tous les organismes vivants, est extrêmement importante. En effet, une espèce définie est souvent corrélée à des activités écologiques particulières qui peuvent expliquer l'origine de la contamination et les mécanismes de détérioration. Certaines espèces, par exemple, sont cellulolytiques (*Trichoderma viride*), d'autres ligninolytiques (*Phanerochaete chrysosporium*), ou encore supportent de faibles teneurs en eau (xérophiles comme *Eurotium amstelodami*) etc. Inversement, des substrats, des conditions thermiques, hygrométriques ou osmotiques particulières sélectionnent telle ou telle espèce.

Par ailleurs, dans le domaine des biotechnologies, ou de la recherche d'activités nouvelles, il est important de connaître l'identité des espèces afin de pouvoir reproduire les résultats et communiquer entre équipes.

La classification est basée sur des caractères hiérarchisés partant d'ensembles larges, à caractères communs, à des unités plus restreintes à caractères spécifiques.

Exemple: *Aspergillus niger* van Tieghem

Division: Ascomycota

Classe: Ascomycètes

Famille: Trichocomaceae

Genre: *Aspergillus*

Espèce: *niger*

van Tieghem est le nom du chercheur qui a trouvé et décrit ce champignon pour la première fois.

Dans la pratique on utilise pour désigner un organisme, le nom de genre suivi du nom d'espèce. Pour plus de précision taxonomique, le binôme est suivi d'un nom d'auteur. Les souches appartenant à des espèces caractérisées peuvent être déposées en collection. Elles sont conservées en culture, lyophilisées ou congelées à -180°C (azote liquide) pendant un temps théoriquement indéfini, et réutilisées selon les besoins. Il existe des collections de microorganismes dont la fonction est de

conserver les souches et de les fournir à la demande. Les données concernant les souches des collections européennes sont regroupées en un réseau informatisé MINE, consultable par les utilisateurs intéressés.

La morphologie des thalles et la formation des spores sont à la base de la classification des champignons. La figure 4 est une représentation simplifiée de la place des moisissures dans la classification.

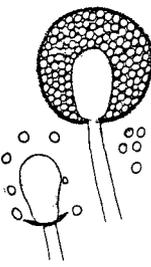
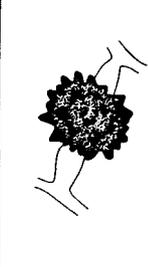
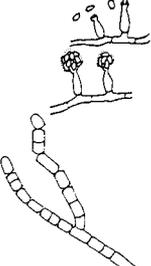
THALLE	REPRODUCTION ASEXUÉE	REPRODUCTION SEXUÉE	EXEMPLES	
 thallesiphonné	 spores endogènes	 zygospores	MUCORALES	ZYCOMYCOTINIÈS
 thalles cloisonné	 spores exogènes (conidies)	 cleistothèque   périthèque  inconnue	EUROTIALES  HYPOCREALES	ASCOMYCOTINIÈS
			HYPHOMYCETALES	

Figure 4 : Caractères morphologiques des principaux groupes de moisissures.

A la méthode morphologique de classification se superposent de plus en plus des méthodes biochimiques, immunologiques et moléculaires tournant autour de l'amplification en chaîne par polymérisation (PCR) de l'ADN. Si de nombreux travaux sont en cours dans ce domaine, l'identification morphologique reste majoritaire et les analyses moléculaires surtout appliquées à résoudre des problèmes de systématique et de phylogénie des champignons (2). Il existe cependant des "kits" d'identification mis au point pour des moisissures d'importance économique: phytopathogènes, pathogènes de l'homme ou productrices de mycotoxines dans le domaine de l'agro-alimentaire (3 et 4).

## VII. Conclusion

Les moisissures jouent dans la nature un rôle fondamental dans la biodégradation de la matière organique animale et végétale et dans son recyclage. Cette action est indispensable à l'équilibre naturel des ressources.

Ces mêmes actions, effectuées par les mêmes procédés, peuvent être nuisibles si elles portent sur des matériaux fabriqués ou utilisés par l'homme : il s'agit alors de biodétérioration.

La connaissance des particularités du développement des moisissures et de ses potentialités, peut aider à stimuler leur action dans le premier cas et mieux la contrôler dans le cas de la biodétérioration.

## Références

- (1) Florent J. *In Microbiologie Industrielle. Les microorganismes d'intérêt industriel*, J.Y. Leveau et M. Bouix Ed., Les moisissures, 1993, p.111-168.
- (2) Hawksworth D.L., Kirk P.M., Sutton B.C. and D.N. Pegler. *Dictionary of the fungi*, Eighth edition, CAB International, 1996.
- (3) Innis M.A., Gelfand G.H., Sninsky J.S. and T.J.White, *PCR protocols, a guide to Methods and Applications*, Academic Press, New York, 1990.
- (4) Persing D.H., Smith T.F., Tenover F.C. and T.J. White, *Diagnostic molecular microbiology, Principles and applications*, American Society for Microbiology, 1993.
- (5) Wainwright M. *An introduction to fungal Biotechnology*. J. Wiley, Chichester, 1992.
- (6) Wessels J.G.H. and Meinhardt F. *In The Mycota I*, Esser K. and Lemke Ed., Springer-Verlag, Berlin. Growth, Differentiation and sexuality, 1994.



*Deuxième partie*

# **Mécanismes de base**

H.C. FLEMMING  
D. FÉRON et D. THIERRY  
D. HILAIRE  
G. TACHÉ



## Chapitre 5

### Biofilms

Hans-Curt FLEMMING

**Résumé.** Les micro-organismes peuvent modifier la réactivité des interfaces en créant des films qui représentent une des plus vieilles forme de vie sur terre : les biofilms. Ce chapitre expose la nature et la composition de ces biofilms, ainsi que leurs modes de développement. Trois phase sont mises en évidence : amorçage, croissance et stabilisation. La phase d'amorçage conditionne les suivantes, et à ce stade le rôle des micro-organismes, les paramètres liés au fluide, l'influence de la surface du matériau, et la cinétique de l'adhésion des micro-organismes sont examinés plus en détail.

### I. Introduction

Corrosion can be regarded as an interfacial process. It is governed by physicochemical parameters at the interface of the corroding material such as pH value, redox potential, oxygen, salt and complexing substances concentration, conductivity. All these parameters influence the kinetics of corrosion. Most textbooks restrict their interpretation of the corrosion process to chemical and physical mechanisms. However, microorganisms can deeply be involved into this process, and they do so in the form of biofilms (Geesey et al., 1994). Microbial deterioration of materials is a biofilm problem. Thus, it is useful to understand the details of biofilm processes and properties.

Biofilms are the result of adhesion and growth of microorganisms at interfaces. The cells embed themselves in a slimy, highly hydrated matrix consisting of polysaccharides and proteins. Immobilized locally in that matrix, metabolites can be accumulated locally and directly at the surface where a corrosion process takes place. Thus, microorganisms do not introduce a new corrosion mechanism but they influence otherwise abiotically occurring corrosion processes. Therefore, this mechanism is called "microbially influenced corrosion" (MIC).

This in mind, biofilms gain strong interest, as they may lead to quite unexpected but nevertheless dramatical and costly damages (Flemming, 1996). The following short review is supposed to give some insight into biofilm processes and properties.

The requirements for the formation of biofilms are simple enough : surface, humidity, nutrients and microorganisms. As microorganisms are also ubiquitous, most of them live in immobilized form in various kinds of biofilms (Costerton et al., 1987). The adhesion to surfaces is a general microbial strategy for survival, especially in low nutrient environments (Marshall, 1985). The colonization sequence in such a habitat can be hypothesized as follows : there are pioneer bacteria which can multiply in water with less than  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  glucose equivalents (Morita, 1985). If they form biofilms, they can sequester nutrients from the flowing water phase and accumulate them in the EPS matrix. Thus, they can live with an even lower concentration of biodegradable material ; this is why biofilm formation is considered an ecological strategy even in extremely oligotrophic environments such as ultrapure water (Mittelman, 1991). The pioneers convert the organic materials into biomass which represents spots of high organic material. This offers a suitable habitat to other organisms which may have invaded the system and multiply on the expense of the pioneers.

Biofilms represent the oldest form of life on this planet (Schopf et al., 1983) and can be found in an extreme range of environments (Table 1). From an ecological point of view, life in a biofilm may offer important advantages to the cells (Marshall, 1985). Among these are: (i) the possibility to form microconsortia; (ii) the facilitated exchange of genetic material; (iii) the accumulation of nutrients from the bulk water phase (Decho, 1990); (iv) protection against toxic substances (Exner et al., 1983) and protection against desiccation.

*Table 1 : Range of biofilm existence (compiled by Flemming, 1991)*

**Temperature**

from -12 °C (cold saline waters)  
to + 115 °C (hot sulfuric vents at the seafloor)

**pH range**

from 0 (*Thiobacillus ferrooxidans* in acid leachate of sulfur ores)  
to 13 (*Plectonema nostocorum* in sodium lakes)

**Salinity**

from 0 (bacteria in ultrapure water)  
to almost saturated salt solutions (bacteria in the Dead Sea)

**Redox potential**

complete range of stability of water  
growth on electrodes

**Hydrostatic pressure**

from below 0,01 bar (various bacteria in vacuum systems)  
to > 1.400 bar ("barophilic" bacteria at the deep seafloor)

**Nutrient concentration**

from 10 µg L<sup>-1</sup> (bacteria in ultrapure water)  
to growth right at nutrient surfaces such as food

**Surface materials**

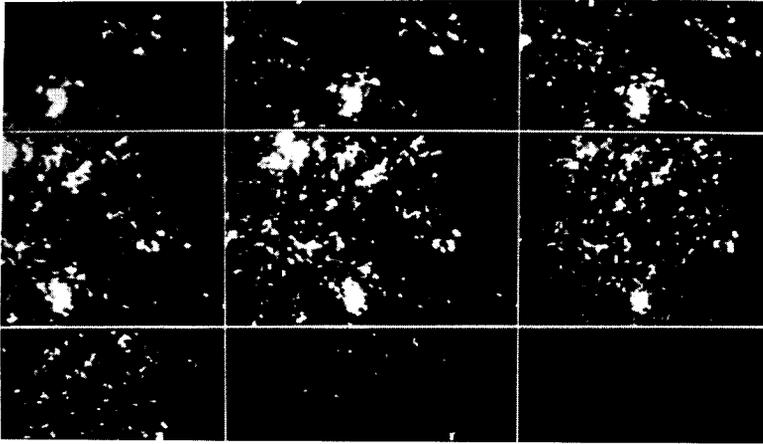
Metals, glass, concrete, bricks, natural stone, plastics, mineral oil, wax, living materials of all kind, bones – there is virtually no material which cannot be colonized by biofilms (with the remarkable exception of some marine sea weeds and sponges with "antifouling" properties)

**Biocide concentration**

> 2 mg L<sup>-1</sup> free chlorine  
growth in disinfectant pipelines

**Radiation**

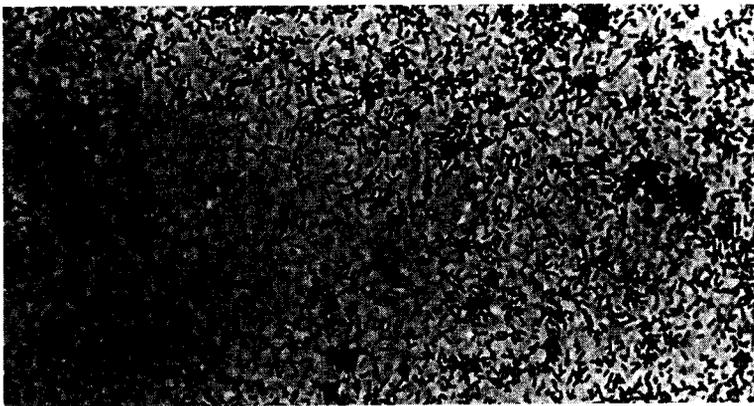
growth on quartz shields around UV lamps  
growth on radioactive sources (> 400 krad)



**Fig. 1** : Confocal laser scanning micrograph of a biofilm (Kühn, Schindler and Flemming, unpubl.). The distance between the sections is 5  $\mu\text{m}$ .



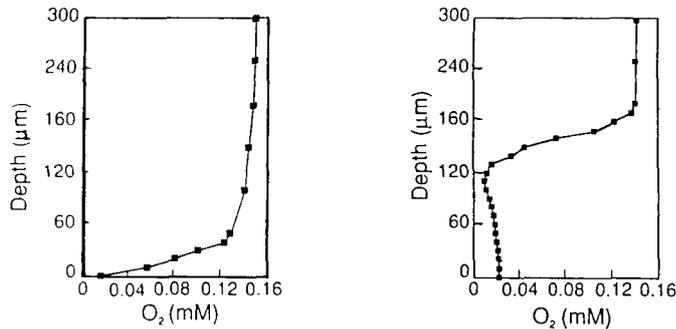
**Fig. 2** : TEM of biofilm on plastic after exposure to river water. Two bacteria embedded in EPS (courtesy of G. Geesey, Bozeman, MT), magnification 10,000 fold



**Fig. 3** : an impression of a biofilm of *Pseudomonas putida* on a mineral surface (Schmitt and Flemming, unpubl.). The EPS have shrunk due to the dewatering which is necessary for scanning electron microscopy (SEM) preparation. (magnification 1.200 fold)

## II. Biofilm composition and structure

A biofilm is mainly composed by water (80–95 %), extracellular polymer substances ("EPS") which contribute 85–98 % of the organic matter, the microorganisms, entrapped organic and inorganic particles (e.g.: humic substances, debris, clay, silica, gypsum etc.), substances sorbed to EPS, cells or particles and substances dissolved in the interstitial water. Thus, a chemical biofilm analysis can be quite misleading if a biofilm contains a lot of inorganic particles and the indicative character of the water content is neglected. Fig. 1 shows a confocal laser scanning microscope (CLSM) picture of a biofilm. The distance between the cells can be substantial; it is predominantly filled with EPS. These, again, can surround void spaces such as pores, holes and channels (de Beer et al., 1994). The picture demonstrates that bacteria do not represent the majority of biofilm volume. Fig. 2 is a transmission electromicrograph of a 3 weeks old biofilm on plastic surface, exposed to river water.



**Fig. 4 :** Oxygen concentration profile across a pore (left) and a microcolony (right) in a biofilm (after de Beer et al., 1994)

**Table 2 :** Examples for diffusion coefficients  $D$  [ $\text{cm}^2 \text{sec}^{-1}$ ] in biofilms (BSA = bovine serum albumin, IgG = G class of human immunoglobulins, HK = hexokinase, MW = molecular weight)

Molecule	MW	$D_{\text{water}}$	$D_{\text{biofilm}}$	$D_{\text{biofilm}} / D_{\text{water}}$
Fluorescein	332	55.5	54.0	0.91
Dextran	10 000	2.2	1.96	0.89
Dextran	70 000	1.7	1.44	0.85
BSA	68 000	6.9	5.9	0.86
IgG	146 000	3.8	-	-
HK	102 000	5.9	4.1	0.69
Catalase	225 000	4.1	2.78	0.67
DNA	$3.2 \times 10^6$	0.008	0.005	0.63

The detailed structure of biofilms and of their matrix in particular has been investigated with the use of microelectrodes. Figs. 4 a and b give two profiles of the oxygen concentration, across a pore and a microcolony (de Beer et al., 1994).

In the surface biofilm, aerobic organisms consume the oxygen. Due to the diffusion gradient which results, deeper layers of the biofilm can turn anaerobic. Thus, a habitat is provided for anaerobic organisms which otherwise could not multiply in a system with an aerobic bulk water phase and which would not be expected there. This is due to the EPS matrix, acting as a molecular sieve barrier in which diffusive transport prevails, although the pores and channels in a biofilm allow limited convective transport. The diffusion coefficients of various molecules have been measured in biofilm pores, microcolonies and compared to the bulk water phase. The diffusion coefficients within a biofilm differ not too profoundly from those in free water; only large molecules diffuse significantly slower in a biofilm (de Beer et al., 1994). The data are given in Table 2.

The EPS are of paramount importance for all biofilm processes. They consist of polysaccharides (Sutherland, 1984), proteins, glycoproteins and lipoproteins (Costerton et al., 1987). In contrary to microbial capsules, EPS are exudates which are not firmly bound to the cell surface. The presence of charged groups such as pyruvate or uronic acids influence their physical properties (stability, viscosity) and provide ion exchange sites (Geesey, 1982); thus, EPS can act as complexing agents. EPS are hydrophilic. If a hydrophobic surface is colonized, the EPS represent a hydrophilic interface, thus, masking the original surface properties. The thickness of biofilms can vary greatly according to the environmental conditions. In systems with high shear forces, biofilms may grow only up to a few micrometres while in microbial mats or in sewage systems biofilms can reach the thickness of many centimeters. In most natural flowing systems, the average biofilm thickness ranges between 50 and 500  $\mu\text{m}$  (Costerton and Boivin, 1991). Strong shear forces will not prevent biofilm formation but lead to thinner and firmer biofilms (Characklis, 1990). Mechanical removal of biofilms may lead to the selection of organisms which form extremely firm EPS, as it has been shown in ocean thermal energy conversion (Nickels et al., 1981), where biofilms on heat exchanger surfaces seriously interfere with the efficacy of the process.

As a gel, a biofilm is viscoelastic. Thus, by flowing water it is moved, consuming kinetic energy and substantially increasing friction resistance. This has been observed in water pipes, where the transport capacity had been reduced up to 50 % (Seiferth and Krüger, 1950). The pipe diameter was only decreased by 3 %, but the biofilm displayed a rippled elastic structure which caused the friction loss. On ship hulls, this effect is known since centuries. A biofilm of only 100  $\mu\text{m}$  can reduce the speed of a ship to 8–15 % (Characklis, 1990).

The heat transfer conductivity of biofilms is similar to that of water but about 27 times lower than that of stainless steel. By forming an insulating layer at a stainless steel heat exchanger surface, a biofilm can significantly reduce heat transfer (Christensen and Characklis, 1990) and, thus, lead to a dramatic decrease of performance.

### III. Biofilm processes

The development of biofilms can be divided into three steps:

- (i) primary adhesion in induction phase,
- (ii) logarithmic accumulation at the surface,
- (iii) plateau phase, limited grossly by shear forces and nutrients.

This is schematically represented in Fig. 5 (after Characklis, 1990, modified).

Important parameters in biofilm development are expected :

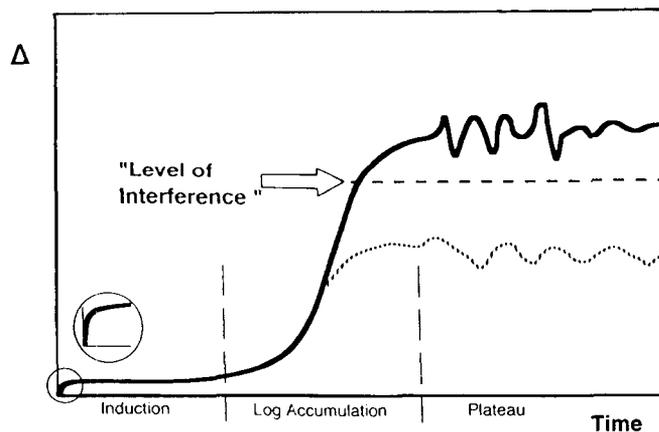
- (i) the length of the induction phase: it determines how long it takes until the logarithmic phase has to be expected

- (ii) the velocity of the logarithmic phase: it determines the steepness of biofilm accumulation and, thus, the time between the biofilm is usually noticed (which is usually the case when it starts accumulating logarithmically) until this biofilm may cause a problem
- (iii) the level of the plateau phase: not every biofilm causes problems; if the plateau rests below a threshold of interference, the biofilm will develop but it will not bother the process, while it will if the level is above the threshold of interference

### III.1 The conditioning film

The first step in biofilm formation, prior to microbial adhesion, is the irreversible adsorption of macromolecules, which leads to a "conditioning film" (e.g., humic substances, lipopolysaccharides and other products of microbial turnover) on the membrane surface, which can mask the original surface properties (Baier, 1980; Little and Jacobus, 1984; Ishida and Griffiths, 1990), normally leading to a slightly negative overall charge. This phase is completed within seconds to minutes after immersion of a surface into an aqueous system.

A macromolecular conditioning film on a solid substratum presents a new set of surface characteristics to the bulk liquid phase. Thus, the electrostatic charge, and the critical surface tension (an indication of surface free energy; Baier, 1980) may change with the accumulation of a conditioning layer. Accordingly, a variety of protein conditioning layers, on surfaces such as polystyrene and glass, may both increase and inhibit the attachment of different bacterial species (Pringle and Fletcher, 1986).



*Fig. 5 : Biofilm development. Inset: magnification of primary adhesion process. Dotted line: "threshold of interference", where the extent of biofilm development will cause problems.*

### III.2 Primary microbial adhesion of microorganisms to surfaces

Bacteria are transported to the membrane surface due to :

- hydrodynamic forces (flow, turbulence, flux)
- motility, i.e. autonomous movement (chemotaxis)
- Brownian motion and diffusion

Under non-static conditions, a laminar boundary layer builds up of a thickness which depends upon flow velocity, viscosity and wall roughness. It can be assessed between 10 and 50  $\mu\text{m}$  under normal flow conditions in technical systems, which exceeds the thickness of individual

bacteria significantly. This explains why biofilms can exist also in high flow velocity systems (Characklis, 1990), because the shear forces of the turbulent flow do not reach through the viscous sublayer and affect a bacterial monolayer.

The microbial cell has to penetrate this sublayer before attaining contact to the surface. Hydrodynamic forces are considered to be responsible for transporting the cells to the boundary layer, while Brownian motion, motility and/or diffusion seem to be the mechanisms to cross the boundary layer (Characklis, 1990). The "sticking efficiency" of microbial cells, however, decreases with increasing flow velocities, as it has been shown in experiments on biofouling of heat exchanger surfaces, thus, slowing down the primary adhesion rate (Characklis and Zilver, 1986).

In separation membrane processes such as reverse osmosis (RO), the **flux** as a transport vector vertical to the membrane must be considered to be a strong force supporting the cell to penetrate the viscous sublayer (Flemming et al., 1994).

However, there has not yet been established a clear relationship between the flow velocity, the flux and the deposition of bacteria.

Primary adhesion is a heterogeneous process, including three phases :

- (i) **The microorganisms** (semi-solid phase), governed by factors such as: species composition of microflora, cell number in the bulk, viability, nutrient status, growth phase, hydrophobicity, surface charge, extracellular polymeric substances (EPS).
- (ii) **The fluid** (liquid phase), with factors such as: temperature, pH, dissolved organic and inorganic substances, viscosity, surface tension and hydrodynamic parameters (shear forces, flux, turbulence).
- (iii) **The surface** (solid phase), influencing adhesion via : chemical composition, hydrophobicity, surface charge, conditioning film, "Biological affinity"

### III.2.1. Role of Microorganisms

The **cell number in suspension** influences the number of adhering cells. Bryers and Characklis (1992) described the rate of initial biofilm formation in flowing systems using a first order expression.

The rate constant is shown to be a linear function of the biomass concentration, the Reynolds number (Re) and the biomass growth rate. In this theory particle flux from the bulk fluid is expected to increase with increasing Reynolds number but experimental results show that the rate of biofilm accumulation decreases as turbulence increases, suggesting that particle flux from the bulk solution is only one of the mechanisms contributing to biofilm accumulation. Flemming and Schaule (1988) found a linear correlation between the number of *P. diminuta* cells in suspension and on a polysulfone membrane surface until the surface was completely covered, depending on the nutrient situation. However, this was true only in a concentration range from above  $10^6$  cells/ml. Below this limit, the adsorption rate was significantly lower. Ridgway (1988) found a linear correlation from zero up to  $10^6$  cells/ml with mycobacteria adhering to cellulose acetate membranes in a similar assay, when the slope turned into a plateau below complete covering of the surface.

The **growth phase** of the bacteria may influence their adhesion behaviour as well (Little et al., 1986). Experiments with *P. diminuta* and *Staph. warneri* adhering to polysulfone membranes, however, showed similar adhesion rates in both log. and stationary phase (Flemming and Schaule, unpubl.). The **nutrient status** of the cells has been reported to be of major influence. Starvation is considered to alter the cell surface and to impede the

adhesiveness of marine microorganisms (Little et al., 1986). Adhesion experiments with *P. fluorescens* on various membrane materials consistently showed much higher adhesion rates of the starving cells (Flemming, 1995). However, the same experiments with *P. vesicularis* resulted in a significantly slower adhesion rate of starving cells (Flemming and Schaule, 1988). Thus, various organisms respond with different surface alterations to starvation, leading either to a more or to a less adhesive cell surface. It is probable that under nutrient-limited other species tend to adhere more rapidly than under nutrient-rich conditions.

The **surface charge** is very likely to influence primary microbial adhesion. Most bacteria are slightly negatively charged. Therefore they have to overcome a repulsion barrier when they attach to slightly negatively charged membrane surfaces. The surface charge of a cell may show a wide range under different physiological conditions, as indicated by adhesion to anion-exchange resins (Hogt et al., 1985). Localized positively charged groups on the cell surface may play a more essential role than the overall negatively charged surface (Stenström, 1989). In nature, surfaces of quite different charges are colonized by bacteria, indicating that there will always be some colonizing species among the bulk microflora in touch with that surface. The role of microbial surface charge in RO biofouling has not yet been investigated.

**Microbial cell hydrophobicity** plays an important role in hypotheses on bacterial adhesion (Loosdrecht et al., 1989). Hydrophobic interactions are considered to be the driving force for the primary adhesion of mycobacteria to cellulose acetate membranes (Ridgway, 1988). Nutrient conditions could change the hydrophobicity of fast adhering bacterial strains considerably (Little et al., 1986). Experiments with differently hydrophobic mutants of fast adhering *P. diminuta* (between 15 and 73 %), compared to strongly hydrophobic *Rhodococcus* and strongly hydrophilic *P. fluorescens* showed, that cell hydrophobicity does not play a crucial role for the adhesion to the relatively hydrophobic polysulfone membrane materials.

**Extracellular polymer substances (EPS)** are the first cell envelope structures to encounter a solid surface in primary contact. Thus, they are of great interest for the understanding of the adhesion process. Many but not all of the EPS consist of polysaccharides, built up by oligosaccharide repeating units which frequently contain sugar acids, giving an anionic character to the whole molecule (Sutherland, 1984). Proteins, glycoproteins and glycolipids can also be among the EPS. It is proposed that additional EPS production in response to the adsorption is involved in the development of the surface films but possibly not in the initial adhesion process. In those strains which do produce polysaccharides, the cells which attach develop into microcolonies (Allison and Sutherland, 1984).

However, it is safe to assume that EPS may play an important role in adhesion by

1. Determining the potential adhesive interactions, of the cell surface
2. Interacting with the surface and its conditioning film
3. Eventually acting as "polymer bridge" between cell and surface

Clearly, the potential for adhesive interactions varies with different organisms and their environmental conditions, and accordingly attachment ability differs enormously. However, not only do various bacterial strains differ in their ability to attach to solid surfaces, but also the attachment of a given bacterium may vary with environmental conditions, as illustrated.

### III.2.2 Fluid Parameters

Primary adhesion has been reported to be influenced by **temperature** in several adhesion systems. As expected, rising temperatures (within a physiological range) result in increasing adhesion rates. However, primary adhesion experiments with *P. diminuta* and *Staph. warneri* to various membranes showed almost no temperature dependance in a range between 10 and 30°C (Flemming, 1994). These results indicate that temperature may not always be a

significantly influencing factor in primary adhesion systems. This may mean, that even from cold water many bacteria may adhere to a surface. They may grow rapidly once temperature is rising.

Electrochemical considerations let expect a clear influence of **the pH**, because it changes the electrostatic double layers of both bacterial cells and substratum, thus, affecting both membrane and cell surface potential. McEldowney and Fletcher (1986) and Applegate and Erkenbrecher (1987) report significant influence of the pH on bacterial attachment. However, other authors found, that pH changes in a range between 4 and 9 were not correlated with alterations of the adhesion behaviour (Stenström, 1989).

The **electrolyte concentration** influences the electrostatic double layer too, and it has been found to influence the initial adhesion, leading to a higher rate with increasing concentrations from zero to 0.1 M (Marshall et al., 1971; Loosdrecht et al., 1990). Again, this may not be true for all systems, probably depending on the individual adhesion mechanism. In other experiments, Ridgway (1988). Stenström (1989) and Flemming and Schaule (in prep.) found no significant correlation between electrolyte concentration and initial adhesion rate.

The **dissolved organic substances** can be expected to influence initial adhesion in two ways: (i) via adsorption to the surface of the membrane and formation of a conditioning film and (ii) via adsorption to the microbial cell surface. Polycations from pretreatment have been reported to enhance biofouling (Winters, 1987), which can be expected because of electrostatic attraction to the slightly negative overall charge of microbial cells. Adsorbed organic substances can be utilized as a nutrient source, e.g. humic acid degradation products after chlorine treatment of raw seawater, which can induce a chemotactic response of the cells. Precoating of surfaces with various proteins led to enhanced and reduced adhesion rates (Pringle and Fletcher, 1986). Thus, not surprisingly, the nature of the preadsorbed substances governs the adhesion process. Ridgway (1988) reported that the effect of quarternary amines on bacterial adhesion is depending upon the chain length of the aliphatic part, thus, indicating that the molecular basis of the detergent might be more important than the surface active properties.

### III.2.3 Influence of the surface material

Some few marine organisms are known to excrete small molecules which prevent microbial adhesion (Steinberg et al., in press). However, no abiotic material is known up to now which can resist colonization by microorganisms on a long term : nevertheless there are differences in the "**biological affinity**" notably.

Experiments on the colonization rate of different materials used as piping materials showed different biological affinities (Schoenen, 1990). This could also be observed with membrane materials by Ridgway (1988), who found a prefouled cellulose acetate membrane yielding the lowest amount of bacteria. Other overall surface properties such as **hydrophobicity** and, derived from measurement of surface hydrophobicity, **surface energy**, have been widely accepted as important for bacterial adhesion. It is generally recognized that the majority of microorganisms show a preference for hydrophobic (low-energy) surfaces (Baier, 1980 ; Pringle and Fletcher, 1986). Stenström (1989) proposed an assay of the measurement of hydrophobic interaction to measure the adhesion potential to low-energy surfaces.

The results obtained with various membrane materials, however, showed only marginal differences in the hydrophobicity of the membrane materials, while significant differences in biological affinity could be observed (Flemming and Schaule, 1991). Thus, hydrophobicity of the membrane surface cannot be the factor discriminating high or low biological affinity. Thus, efforts to change the membrane surface hydrophobicity in order to prevent microbial adhesion are very likely to be ineffective.

The **surface roughness** is acknowledged to be an important factor in biofouling of heat exchanger surfaces (Characklis, 1990). It significantly influences transport rate and microbial cell attachment for several reasons :

- i) it increases the convective transport (mass transport) near the surface,
- ii) it provides more "shelter" from shear forces for small particles and
- iii) it increases the surface area for attachment.

However, if the dimension of the roughness is much smaller than the dimension of the microorganisms, this factor tends to be neglectable. Vanhaecke et al. (1990) report that even electropolished metal surfaces were colonized after only 30 sec of contact to *Pseudomonas* strains. Membrane surfaces usually are very smooth and have been showed to be colonized within very few minutes (Flemming and Schaule, 1988). Biofilms can be expected to display a rougher surface than the original membranes.

Ridgway (1988) assumed the existence of a limited number of **adhesion sites** because of an adhesion kinetic of saturation type which conformed closely to the Langmuir adsorption isotherm. He calculated a cell number per  $\text{cm}^2$  of  $3 \times 10^6$ , which was substantially less than the theoretical adsorption capacity of the RO membrane surface based on geometric and spacial considerations. Similar binding site numbers and adsorption kinetics have been reported for the adhesion of other kinds of bacteria to a wide variety of solid substrates.

However, no information is currently available concerning the physico-chemical nature, distribution or specificity of these adsorption sites on surface materials. Flemming and Schaule (1988) observed complete covering of the surface of non-starving cells, while starving cells covered only 10–15 % of the available membrane surface. This indicates that the adhesion pattern may be due rather to cell surface properties than to the substratum.

### III.3. Kinetics and Models for the Mechanism of Primary Adhesion

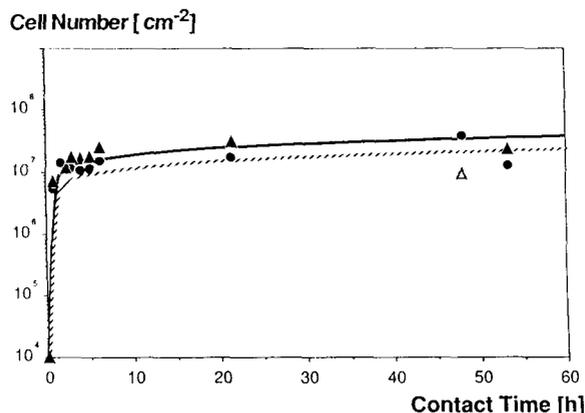
Primary adhesion of microorganisms to RO membrane materials occurs within a short time (Fig. 6). The highest rate of attachment is during the first hour, slowly turning into a plateau phase after 4–6 hours. Thus, the primary biofilm development which may lead to biofouling begins very early in the module's lifetime. Interestingly, dead cells adhere as fast as living cells. Fletcher (1980) discriminates between "active" and "passive" adhesion. Active adhesion requires physiological activity of the cell in response to contact to a surface. One can conclude that mixed populations always will contain strains that adhere as well as living cells (Fletcher, 1980; Flemming and Schaule, 1988).

This means in practice, that it is not enough to kill bacteria but they have also to be removed, otherwise many of them attach to the surfaces to be cleaned, providing both substrate and substratum for subsequently following bacteria from the feedwater.

A two-step model for the initial bacterial adhesion was proposed (Marshall et al., 1971). The first step includes reversible adhesion. Reversible adhesion is an instantaneous attraction by long-range forces holding bacteria near a surface, so that they continue to exhibit Brownian motion and can be readily removed from the surface by the shearing effect of a water jet or by violent rotational movements of motile bacteria. Some motile bacteria are able to overcome the attractive forces, often becoming reversibly attached at other sites and utilize nutrients adsorbed to the surface. Irreversible adhesion was defined as a time-dependent firm adhesion whereby the bacteria no longer exhibited Brownian motion and could not be removed by washing.

Using some simplifications, the DLVO theory, dealing with the interactions among suspended colloids and with solid surfaces, can be applied on the initial adhesion of microorganisms as well (Marshall et al., 1971; Rutter and Vincent, 1984). The DLVO theory

proposes that the interaction between two particles is made up of two additive components. These are (1) an attractive component due to van der Waals forces and (2) a repulsive component (if both particles bear the same charge sign), which is due to the overlap between the electrical double layers associated with the charge groups on the two particles. There are two particle separation distances at which attraction may occur. These are called the "primary minimum", at small interparticle distances where attraction forces are strong and governed by short-range forces, and the "secondary minimum" at relatively large interparticle distances and where attraction forces are weaker. These are separated by a repulsion barrier at intermediate distances.



*Fig. 6 : Adhesion rate of living and dead Pseudomonas diminuta cells to polysulfone membrane material during the first hours (Flemming and Schaule, 1988, modif.)*

This theory fits for a number of combinations of microorganisms and surfaces (Marshall et al., 1971), but it includes simplifications such as the absence of interactions between the particles ("stickiness"), a perfect round shape and the total reversibility of the process. Thus, it is not surprising that in spite of its merits in understanding and quantifying the adhesion process, it only describes special cases.

**The thermodynamic approach** bases on the assumption that bacterial adhesion will occur when the thermodynamic function, i.e. the free energy of adhesion, is minimized (van Loosdrecht et al., 1990). Unlike the DLVO theory, this approach assumes that the effect of the electrical charges and receptor ligand interactions may be neglected. The thermodynamic model may be expressed as:

$$\Delta F_{adh} = \gamma_{BS} - \gamma_{BL} - \gamma_{SL}$$

where  $\Delta F_{adh}$  is the change in free energy associated with bacterial adhesion, and  $\gamma_{BS}$ ,  $\gamma_{BL}$  and  $\gamma_{SL}$  are the bacterium-substratum, bacterium-liquid, and substratum-liquid interfacial tensions, respectively. Values for the parameters can be derived from contact angle measurements and from an equation-of-state approach. The adhesion is predicted to be correlated to the surface tension of the bacteria in a way which depends on the relative value of the bacteria surface tension to the surface tension of the suspending medium (Fig. 7).

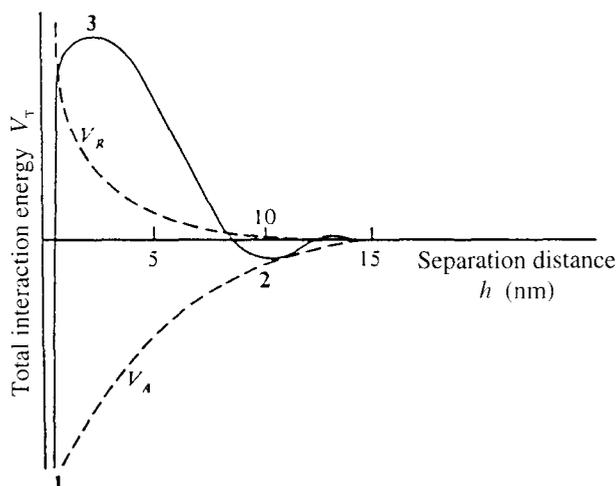
However, discrepancies between the theoretical model and observed adhesion exist and may arise due to the fact that the electrostatic interactions are neglected. Indeed, when the bacterial surface tension is equal to the surface tension of the suspending liquid, zero adhesion is predicted but this is not the case. It is shown that in this case the level of adhesion was constant because of electrostatic interactions.

The thread-like structure of the EPS may help to bridge the repulsion barrier ("polymer bridging", Loosdrecht et al., 1989) and change the microenvironment drastically. They are

probably the main reason for divergences of experimental results from the predictions out of these models. When EPS are located at or near to the primary attraction minimum they become subjected to the short range forces.

For any particular EPS, it is likely that different combinations of these short-range forces will operate at different substratum surfaces.

However, EPS are not "sticky per se". Brown et al. (1977) report enhanced production of EPS without enhanced adhesion. Thus, Marshall (1985) states that the actual modes of interaction of different EPS and various substrata are very poorly understood.



**Fig. 7 :** Model of secondary minimum for reversible adhesion of microorganisms, after Rutter and Vincent (1984). 1, primary minimum; 2, secondary minimum; 3, electrostatic repulsive energy barrier;  $V_A$ , van der Waal's attraction energy;  $V_R$ , electrostatic repulsive energy barrier.

Many microbial cells have surface appendages such as flagellae, fimbriae and pili. They will influence processes occurring at the first contact of cell with the substratum. Present evidence supports the importance of projections in the adsorption process and suggests that cells may "probe" the substratum in some cases, searching for a local inhomogeneity suitable for colonization (Characklis, 1990). Fast adhering *P. diminuta* has a flagella, while fast adhering *Staph. warneri* has no cellular appendages (Flemming and Schaule, unpubl.).

The above summarized results of various investigations indicate clearly, that microbial adhesion cannot be adequately explained in terms of a single parameter, but depends upon a complex mixture of factors that will vary with the microorganism involved, its surrounding environment and surface of attachment. McEldowney and Fletcher (1986) found no particular species combinations or conditions, i.e. surface composition, sequence of attachment, which consistently influenced attachment or detachment. Adhesion varied with bacterial species, substratum, and electrolyte type and concentration, with no apparent correlation between adhesion and electrolyte valence or concentration. Moreover, there is evidence that a given microorganism can use different adhesion strategies, depending upon the surface to be colonized (Paul and Jeffrey, 1985).

Thus, it must be considered that microbial adhesion occurs in a very wide variety of conditions, for example, ionic strengths ranging from nearly pure water to saline solutions in excess of 3M-NaCl, pH from low to fairly high values, temperatures from supercooled to more than 120°C, with adhesion sometimes in media of relatively low or high dielectric constant and with many undefined chemicals present in occasion. Various organisms adhere

to various surfaces under various conditions, while overall parameters such as hydrophobicity, surface charge, surface energy, do not give a consistent pattern. It is unlikely that a single mechanism can explain microbial adhesion. Hydrophobicity, for example, can be caused by very different molecular structures. Some of them seem to act adhesive and some do not.

Considering this situation, the molecular basis for various adhesion systems seems to be the key to an understanding of the adhesion process, differing from one adhesion system to another. In addition, we still do not know exactly the cell surface component and the partner on the membrane surface – be it the membrane material itself or some conditioning material. More fundamental research on this area is definitely needed.

### III.4 Logarithmical growth phase

Once a primary biofilm is established, the cells will sooner or later start to multiply at the expense of nutrients. These may arise from material adsorbed to the surface (Power and Marshall, 1988), or from biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) or even by lithoautotrophic growth. In this phase, microconsortia develop in which different species may aggregate to synergistic communities.

Gradients develop in the concentration of oxygen, substrates, products and other dissolved substances and redox potential.

The steepness of the logarithmical growth curve depends rather on the concentration of biodegradable material than on the concentration of cells in the water phase. Thus, when the logarithmical phase is reached, disinfection of the water does not help to prevent further biofilm growth.

### III.5 Plateau phase

Biofilms grow not indefinitely but at a certain point, a pseudo equilibrium is reached which is called "plateau phase". In technical systems, biofilms are in that phase after a few weeks ("active thickness", Characklis, 1990). Here, biofilm accumulation and detachment balance each other. As in the logarithmic growth phase, growth of biofilm organisms at the expense of dissolved nutrients, sequestered from the water phase, prevails over the accumulation of newly adhering cells. Thus, the main factors governing the plateau are: biofilm growth by chemical energy of biodegradable matter in the medium and shear forces, exerted by the physical energy of the medium. Bott (1990) showed that the biofilm thickness was unaffected by the number of cells in the bulk liquid phase but was significantly reduced when the nutrient concentration was decreased. As well as in the logarithmic phase, disinfection of the water will not prevent biofilm accumulation.

High flow velocities will limit the extent of biofilm growth, however, they will not completely prevent it. In oligotrophic systems, high flow velocity can even increase biofilm growth because the overall nutrient load is increased, and if the biofilm was nutrient limited, it will accumulate until shear force limitation is reached. Biofilms under such conditions tend to be more dense and mechanically resistant (Rittmann, 1989; Characklis, 1990). The nature of the detachment processes is not yet completely understood. Different mechanisms can be distinguished :

- => Erosion (detachment of single cells by shear force)
- => Abrasion (detachment of biofilm parts by friction of suspended particles)
- => Swarming (active detachment of cells)
- => Sloughing off (large biofilm parts are released from the substratum)
- => Grazing (higher organisms such as protozoa, metazoa, nematods etc.)
- => Chemical weakening of the biofilm matrix (oxidants, biodegradants)

Biofilms in the plateau phase can vary significantly in thickness and the level of the plateau can only be defined as a tendency, not as a constant.

The release of biofilm organisms to the water phase is not continuous. As a consequence, cell numbers in the water phase do not reflect location or extent of biofilm growth in a system. This aspect may be almost trivial, but in cases of biofouling and biocorrosion, water phase cell numbers are usually measured, leading to piles of data which never can be interpreted.

### III.6 Concluding remarks

Biofilms are a complex agglomerate of microorganisms. They are embedded in a matrix of EPS and represent a very heterogeneous system (Costerton et al., 1994). They belong to the oldest and successful forms of life on this planet and colonize habitats which can be adverse to life of single species or other organisms. In terms of evolution, biofilms have developed a kind of horizontal differentiation, in which the whole system is interdependent: the exchange of substrates, the creation of gradients and different habitats and of microconsortia suggests that biofilms can be regarded as "tissue" (Costerton et al., 1994). However, it can be divided mechanically without death of the whole system. This is not the case in vertical evolution. The most characteristic features of biofilms are summarized in Table 3.

*Table 3 : Biofilm characteristics (compiled by Flemming, 1991)*

<ul style="list-style-type: none"> <li>* Cells are mostly immobilized and remain for a long time in juxtaposition</li> <li>* High cell density</li> <li>* Development of stable microconsortia consisting of various species</li> <li>* Closeness to substratum</li> <li>* Spatial heterogeneity</li> </ul>
<p><b>GRADIENTS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- pH-value (local acidification 2-3 pH units),</li> <li>- concentration of oxygen, substrate, metabolites, dissolved salts</li> <li>- redox potential</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>* Succession of various species and consortia composition according to changes in environmental conditions in biofilm</li> <li>* Metabolic activity controlled by transport processes</li> <li>* Different population structure, cell size, substrate uptake, respiration, product formation compared to suspended cells</li> <li>* Product formation compared to suspended cells</li> <li>* Enhanced ability for adaptation and regeneration</li> <li>* Resistance against toxic substances</li> <li>* Surface properties</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Biofilm surface frequently rougher than substratum</li> <li>- Soft, viscoelastic surface which absorbs kinetic energy</li> <li>- EPS matrix traps and accumulates particles</li> <li>- Original substratum surface properties masked ; hydrophobic surfaces can be turned into hydrophilic</li> </ul>

Biofilms offer an unique setting for horizontal gene exchange: several layers of closely packed cells adhering to a solid surface enable potential mating partners to make extended contact and exchange genetic information. Of the four types of gene transfer, transformation, transduction, conjugation and retrotransfer, only conjugation has begun to be investigated in biofilms. The observation of motile cells in biofilms, combined with reports of higher numbers of transconjugants than in suspension, suggest that gene transfer plays a significant role in multicellular communication and cooperation. Since there are far fewer potential mating partners when cells are attached to a surface it is proposed that a growing and dividing transconjugant population is responsible for the spread of new genetic information (Wuertz et al., in press). Consequently, both horizontal and vertical dissemination account for the establishment of new genes and novel metabolic capacities. Similar scenarios can be applied to gene transfer via transduction or transformation.

#### IV. References

- Allison, D.G. and I.W. Sutherland (1984): A staining technique for attached bacteria and its correlation to extracellular carbohydrate production. *J. Microb. Meth.* 2, 93–99
- Applegate, L.E. and C.W. Erkenbrecher (1987): Monitoring and control of biological activity in Permasep seawater RO plants. *Desalination*, 65, 331–359
- Baier, R.E. (1980): Substrata influences on adhesion of microorganisms and their resultant new surface properties. In: G. Bitton u. K.C. Marshall (Hrsg.): Adsorption of microorganisms to surfaces. John Wiley, New York; 59–104
- Bott, T.R. (1990): Bio-Fouling. In: M. Bohnet (Hrsg.): Fouling von Wärmeübertragungsflächen. VDI, Düsseldorf; 5.1–5.20
- Brown, C.M., D.C. Ellwood and J.R. Hunter (1977): Growth of bacteria at surfaces: Influence of nutrient limitation. *FEMS Microbiol. Lett.* 1, 163–166
- Bryers, J.D. and W.G. Characklis (1992): Biofilm accumulation and activity: a process analysis approach. In: L.F. Melo, M.M. Fletche, T.R. Bott and B. Capdeville (eds.): *Biofilms – science and technology*. Kluwer Acad. Publ., 221–239
- Characklis, W.G. (1990): Microbial fouling and microbial biofouling control. In: W.G. Characklis u. K.C. Marshall (Hrsg.): *Biofilms*. John Wiley, New York; 523–634
- Characklis, W.G., N. Zilver and F.L. Roe (1986): Continuous on-line monitoring of microbial deposition on surfaces. *Biodeterioration* VI, 427–433
- Christensen, B.E. u. W.G. Characklis (1990): Physical and chemical properties of biofilms. In: W.G. Characklis u. K.C. Marshall (Hrsg.): *Biofilms*. John Wiley, New York; 93–130
- Costerton, J.W., K.-J. Cheng, G.G. Geesey, T.I. Ladd, J.C. Nickel, M. Dasgupta u. T.J. Marrie (1987): Bacterial biofilms in nature and disease. *Ann. Rev. Microbiol.* 41, 435–464
- Costerton, J.W. and J. Boivin (1991): Biofilms and Corrosion. In: H.-C. Flemming and G.G. Geesey (eds.): *Biofouling and biocorrosion in industrial water systems*. Springer, Berlin, Heidelberg; 195–204
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., deBeer, D., Caldwell, D., Korber, D. and James, G. (1994): Biofilms, the customized microniche. *J. Bact.* 176, 2137–2142

- de Beer, D., Stoodley, P., Roe, F. and Lewandowski, Z. (1994): Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport. *Biotechnol. Bioeng.* 43, 1131–1138
- Decho, A.W. (1990): Microbial exopolymer secretions in ocean environments: their role(s) in food webs and marine processes. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 28, 73–153
- Exner, M., G.-J. Tuschewitzki u. E. Thofern (1983): Untersuchungen zur Wandbesiedlung der Kupferrohrleitung einer zentralen Desinfektionsmitteldosieranlage. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B* 177, 170–181
- Flemming, H.-C. (1991): Biofilms as a particular form of microbial life. In: Flemming, H.-C. and Geesey, G.G. (eds.): *Biofouling and biocorrosion in industrial water systems*. Springer, Heidelberg; 1–9
- Flemming, H.C. u. G. Schaule (1988): Untersuchungen zum Biofouling an Umkehrosiose- und Ultrafiltrationsmembranen. Teil I: Entstehungsstadium des Biofouling. *Vom Wasser* 71, 207–233
- Flemming, H.-C. and G. Schaule (1991): Biofouling on membranes – role of hydrophobicity. In: N. Dowling, M.W. Mittelman and J.C. Danco (eds.): *Microbially Induced Corrosion*. Knoxville, TN; 5.101 – 5.109
- Flemming, H.-C., G. Schaule, R. McDonogh and H.F. Ridgway (1994): Mechanism and extent of membrane biofouling. In: G.G. Geesey, Z. Lewandowski and H.-C. Flemming (eds.): *Biofouling and Biocorrosion*. Lewis Publishers, New York; 63–89
- Flemming, H.-C. (1995): *Biofouling bei Membranprozessen*. Springer, Heidelberg; 278 pp
- Flemming, (1996): Economical and technical overview. In: Heitz, E., Sand, W. and Flemming, H.-C. (eds.): *Microbially influenced corrosion of metals*. Springer, Heidelberg; 5–14
- Fletcher, M.M. (1980): The question of passive versus active attachment mechanisms in nonspecific bacterial adhesion. In: R.C.W. Berkeley, J.M. Lynch, J. Melling, P.P. Rutter u. B. Vincent (Hrsg.): *Microbial adhesion to surfaces*. Ellis Horwood, Chichester; 197–210
- Geesey, G.G. (1982): Microbial exopolymers: Ecological and economical considerations. *ASM News* 48, 9–14
- Geesey, G.G., Lewandowski, Z. and Flemming, H.-C. (eds.)(1994): *Biofouling and Biocorrosion in industrial water systems*. Lewis Publishers, Chelsea, Michigan; 297 pp
- Ishida, K.T. and Griffiths, P.R. (1990): Adsorption of proteins and polysaccharides at aqueous–solid interfaces by infrared internal reflection spectrometry. *Acc. Symp. Ser.* 447, 208–224
- Little, B. and Jacobus, J. (1984): A comparison of two techniques for the isolation of adsorbed dissolved organic material from seawater. *Org. Geochem.* 5, 1–6
- Little, B.J., P. Wagner, J.S. Maki, M. Walch and R. Mitchell (1986): Factors influencing the adhesion of microorganisms to surfaces. *J. Adhesion* 20, 187–210
- Marshall, K.C., R. Stout u. R. Mitchell (1971): Mechanism of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. *J. Gen. Microbiol.* 68, 337–348
- Marshall, K.C. (1985): Bacterial adhesion in oligotrophic habitats. *Microb. Sci.* 2, 321–326

McEldowney, S. and M. Fletcher (1986): Variability of the influence of physicochemical factors affecting bacterial adhesion to polystyrene substrata. *Appl. Environ. Microbiol.* 52, 460–465

Mittelman, M.C. (1991): Bacterial growth and biofouling control in purified water systems. In: H.-C. Flemming and G.G. Geesey (eds.): *Biofouling and biocorrosion in industrial water systems*. Springer, Heidelberg, 113–134

Morita, R.Y. (1985): Starvation and miniaturisation of heterotrophs with specialempphasis on maintenance of the starved viable state. In: M. Fletcher u. G. Floodgate (Hrsg.): *Bacteria in their natural environments: the effect of nutrient conditions*. *Soc. Gen. Microbiol., U.K.*, 1985; 111–130

Nickels, J., R.J. Bobbie, D.F. Lott, R.F. Maritz, P.H. Benson and D.C. White (1981): Effect of manual brush cleaning on biomass and community structure of microfouling film formed on aluminium and titanium surfaces exposed to rapidly flowing seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* 41, 1442–1453

Paul, J.H. u. W.H. Jeffrey (1985): Evidence for separate adhesion mechanisms for hydrophilic and hydrophobic surfaces in *Vibrio proteolytica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 50, 431–437

Power, K. u. K.C. Marshall (1988): Cellular growth and reproduction of marine bacteria on surface-bound substrate. *Biofouling* 1, 163–174

Pringle, J.H. and M.M. Fletcher (1986): Influence of substratum hydration and adsorbed macromolecules on bacterial attachment to surfaces. *Appl. Envir. Microb.* 51, 1321–1325

Ridgway, H.F. (1988): Microbial adhesion and biofouling of reverse osmosis membranes. In: Parekh, B.S. (ed.): *Reverse osmosis technology*. Marcel Dekker, New York, Basel; 429–481

Rittmann, B.E. (1989): Detachment from biofilms. In: W.G. Characklis and P. Wilderer (eds.): *Structure and function of biofilms*. John Wiley, New York; 49–58

Rutter, P.R. and B. Vincent (1984): Physicochemical interactions of the substratum, microorganisms and the fluid phase. In: K.C. Marshall (ed.): *Microbial adhesion and aggregation*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo; 21–38

Schoenen, D. (1990): Influence of materials on the microbiological colonization of drinking water. In: P. Howsam (ed.): *Microbiology in civil engineering*. Chapman & Hall, London; 121–145

Schopf, J.W., J.M. Hayes u. M.R. Walter (1983): Evolution on earth's earliest ecosystems: recent progress and unsolved problems. In: J.W. Schopf (Hrsg.): *Earth's earliest biosphere*, Princeton Univ. Press, New Jersey; 361–384

Seiferth, R. u. Krüger, W. (1950): Überraschend hohe Reibungsziffer einer Fernwasserleitung. *VDI-Zeitschr.* 92, 189–191

Steinberg, P., Schneider, R. and Kjelleberg, S. (1997): Chemical defenses of seaweeds against microbial colonization. *Biodegradation*, in press

Stenström, T.A. (1989): Bacterial hydrophobicity, an overall parameter for the measurement of adhesion potential to soil particles. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 142–147

Sutherland, I.W. (1984): Microbial exopolysaccharides – their role in microbial adhesion in aqueous systems. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* 10, 173–201

Vanhaecke, E., J.P. Remon, M. Moors, F. Raes, D. de Rudder and A. van Petegheim (1990): Kinetics of *Pseudomonas aeruginosa* adhesion to 304 and 316–L stainless steel: role of cell surface hydrophobicity. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 788–795

v.d. Wende, E. u. W.G. Characklis (1989): Biofilms in potable water distribution Systems. In: G.A. McFeters (Hrsg.): *Drinking water microbiology*. Springer, Heidelberg; 249–267

v. Loosdrecht, M.C.M., J. Lyklema, W. Norde u. A.J.B. Zehnder (1989): Bacterial adhesion – a physicochemical approach. *Microb. Ecol.* 17, 1–15

Winters, H. (1987): Control of organic fouling at two seawater reverse–osmosis plants. *Desalination*, 66, 319–325

## Chapitre 6

### Corrosion bactérienne des métaux

Damien FÉRON et Dominique THIERRY

**Résumé.** Il existe deux approches pour aborder les questions relatives à la corrosion bactérienne des métaux : la première met en évidence les effets microbiologiques des corrosions bactériennes, et la seconde cherche à déterminer le mécanisme d'action lié à telle ou telle classe d'alliage métallique. C'est cette seconde approche qui est développée, en examinant les cas des aciers au carbone, des aciers inoxydables, des alliages cuivreux et des alliages légers.

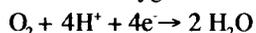
#### I. Introduction

« La corrosion bactérienne rassemble tous les phénomènes de corrosion où les bactéries agissent directement, ou par l'intermédiaire de leur métabolisme, jouant un rôle primordial, soit en accélérant un processus déjà établi, soit en créant les conditions favorables à son établissement » [1]. Trois groupes d'acteurs ou de paramètres principaux sont identifiés dans cette définition donnée par Chantereau : les milieux, les matériaux et les bactéries.

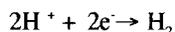
La corrosion des matériaux métalliques en milieu aqueux est de nature électrochimique : cela inclut la corrosion en solutions aqueuses mais également la corrosion atmosphérique qui est liée à la présence d'un film d'humidité à la surface du métal, ainsi que la corrosion dans les sols liée également à la présence d'humidité dans les sols. Les microorganismes ne viennent pas modifier ce caractère électrochimique de la corrosion aqueuse qui a été discuté en détail précédemment (« Généralités sur la corrosion »). Rappelons simplement que la réaction partielle anodique est l'oxydation du métal :



alors que la réaction partielle cathodique implique la réduction d'un composé du milieu aqueux ; en milieu naturel, il s'agit le plus souvent de l'oxygène dissous s'il est présent :



ou dans les solutions désaérées :



Les vitesses des réactions partielles anodique et cathodique doivent être égales afin de préserver l'électroneutralité. C'est la réaction partielle la plus lente qui impose donc sa cinétique. On distingue ainsi les réactions de corrosion sous contrôle anodique et sous contrôle cathodique, l'étape limitante pouvant être liée :

- au transport de masse de l'oxydant ou des produits de la réaction (contrôle anodique ou cathodique)
- au transfert de charge anodique ou cathodique
- aux propriétés du film passif (contrôle anodique en général).

Lorsque cette étape limitante est accélérée, le terme « dépoliarisation » est parfois utilisé, dépoliarisation anodique ou cathodique suivant la réaction partielle considérée. Il convient de souligner que cette terminologie n'est plus conseillée en corrosion aqueuse classique.

La présence de microorganismes vient donc modifier ou accélérer une de ces réactions anodique ou cathodique. Le mécanisme de base de l'action des bactéries est donc de nature électrochimique. Dans ce sens, la corrosion bactérienne des métaux ne repose pas sur une «nouvelle forme» de corrosion.

Deux approches, plus complémentaires que contradictoires, sont utilisées pour mettre en évidence le rôle des bactéries et leur manière de modifier la réaction anodique ou cathodique :

1. la première approche ne considère pas les matériaux métalliques comme paramètres, mais uniquement les modifications que peuvent apporter les bactéries ; elle est souvent utilisée par les microbiologistes ; elle met en évidence ce que nous appellerons les effets microbiologiques (ou «biomécanismes» pour certains) des corrosions bactériennes.
2. la seconde approche consiste à déterminer le mécanisme spécifique de chaque cas, de chaque matériau ou alliage : nous parlerons alors des corrosions bactériennes de l'acier au carbone, des aciers inoxydables, du cuivre et de ses alliages, de l'aluminium. Cette seconde approche qui s'appuie essentiellement sur les propriétés corrosives du milieu et sur les caractéristiques du matériau, a plutôt la faveur des personnes impliquées dans les études de corrosion.

Les effets microbiologiques sont constitués des moyens par lesquels les bactéries peuvent accélérer la vitesse de corrosion ou déclencher des corrosions localisées. On distingue le plus souvent [2, 3, 4, 5, 6] :

1. **La production de composés corrosifs** (métabolites). De nombreuses bactéries peuvent produire des métabolites qui s'avèrent corrosifs pour les matériaux métalliques : acides minéraux ou organiques, amoniaque, sulfures. Par exemple, les *Thiobacillus thiooxidans* génèrent de l'acide sulfurique à partir des sulfures, d'où des dégradations rapides des matériaux métalliques en présence de  $H_2SO_4$  (pH~ 1).
2. **La formation de cellules de concentration** à la surface des matériaux et en particulier, de cellules d'aération différentielles. Ceci se produit principalement lorsqu'un biofilm se développe à la surface du matériau. Le caractère hétérogène du biofilm, tel que mis en évidence dans le chapitre précédent, conduit à des hétérogénéités à la surface du matériau. En milieu aérobie, c'est la présence simultanée de zones avec et sans oxygène à la surface du matériau sur lequel le biofilm se développe, qui est le plus souvent rencontrée : d'où la formation de cellules d'aération différentielle.
3. **La formation de dépôts** à la surface des matériaux. Les microorganismes peuvent former des dépôts denses (en eau de mer par exemple) qui conduisent à des corrosions par effet de crevasse, sur les aciers inoxydables, notamment.
4. **La modification d'inhibiteur** de corrosion ou de revêtements protecteurs. Un certain nombre de bactéries peuvent utiliser dans leur métabolisme, des inhibiteurs de corrosion et ainsi les détruire. C'est le cas par exemple de celles qui transforment les nitrates (inhibiteurs de corrosion pour l'aluminium) en nitrite ou amoniaque.
5. **La fragilisation par l'hydrogène**. De nombreux microorganismes génèrent au niveau de leur métabolisme de l'hydrogène, d'où un certain nombre d'études qui concernent leur influence éventuelle sur la fragilisation par l'hydrogène.
6. **La stimulation directe des réactions anodiques ou cathodiques**. Il s'agit alors de l'utilisation par les bactéries des produits de la réaction anodique ( $M^{n+}$ ) ou cathodique ( $H_2$  par exemple). Si cette action directe des bactéries a, ou a eu, la faveur de nombreux microbiologistes (dépoliarisation cathodique par les bactéries sulfatoréductrices), elle est loin d'avoir convaincu les corrosionnistes, car souvent en contradiction avec les observations ou les mesures électrochimiques.

Il serait possible de donner pour chacun de ces effets microbiologiques des exemples relatifs à plusieurs couples bactéries/matériaux. Cependant, pour la clarté de l'exposé, nous avons préféré discuter matériau par matériau des mécanismes le plus souvent rencontrés dans la littérature passée ou présente et souvent encore en cours de discussion, en insistant particulièrement sur le cas de l'acier au carbone.

## II. Les aciers au carbone et peu alliés

En ce qui concerne les aciers au carbone ou faiblement alliés, il convient de distinguer trois cas principaux dans lesquels une dégradation peut se produire, et qui se différencient par la présence d'oxygène :

- conditions aérobies strictes, donc milieu totalement aéré ;
- conditions anaérobies strictes, donc milieu totalement désaéré, sans oxygène ;
- conditions mixtes d'aérobiose et d'anaérobiose, le plus souvent rencontrées lorsqu'il y a formation d'un biofilm.

### II.1. Conditions aérobies strictes

Outre le cas de la corrosion des aciers due à la production d'acide sulfurique par les bactéries sulfo-oxydantes du genre *Thiobacillus* [22], déjà mentionné, il faut signaler également le cas classique de la corrosion interne des tuyauteries en acier par les ferrobactéries, qui est schématisé en figure 1. Ces ferrobactéries (*Gallionella ferruginae*, *Crenothrix sp*, *Leptothrix sp*) sont aérobies et tirent leur énergie de l'oxydation des ions ferreux en ions ferriques, ce qui se traduit par la formation d'un dépôt plus ou moins gélatineux (vésicule) d'hydroxyde ferrique sous lequel peut se former une zone d'anaérobiose [1].

Ainsi, dès qu'il y a formation d'un biofilm, des hétérogénéités apparaissent dans la répartition de l'oxygène à la surface du matériau et, même si le milieu est totalement aéré, il s'agit en réalité, à la surface du matériau, de conditions mixtes d'aérobiose et d'anaérobiose partielles (paragraphe 2.3).

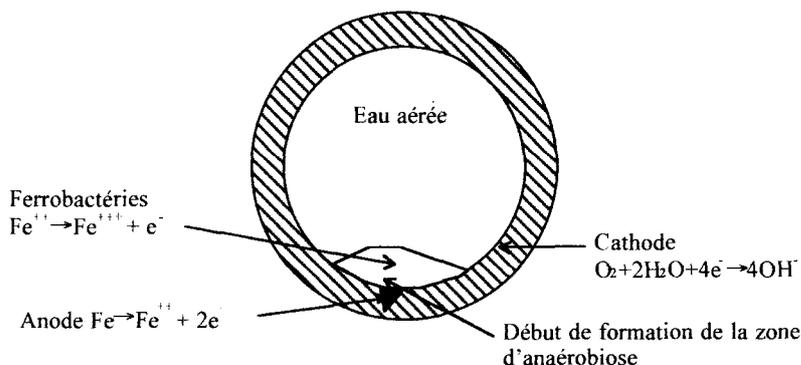
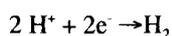


Figure 1 : Action des ferrobactéries

### II.2. Anaérobiose stricte

Le lecteur se reportera avec avantage aux deux chapitres qui traitent en détail et illustrent le comportement des aciers au carbone en conditions d'anaérobiose (chapitres « géothermie » et « pétrole »). Les lignes qui suivent constituent un récapitulatif des principaux mécanismes évoqués dans la littérature sur le sujet.

En absence d'oxygène, la vitesse de corrosion de l'acier au carbone est faible dans un milieu aqueux proche de la neutralité ou basique. Cette vitesse est limitée par celle de la réaction cathodique :



Cependant, des attaques sévères ont plusieurs fois été mises en évidence en milieux désaérés, que ce soit sur des tuyauteries enterrées, des circuits de refroidissement d'eau désaérée ou des canalisations de transport de pétrole (eau + pétrole). Il s'agit de corrosion localisée dont les vitesses sont supérieures de plusieurs ordres de grandeur à celles attendues et qui atteignent le millimètre ou la dizaine de millimètres par an.

Il est admis [1 à 10] que ces attaques sévères sont attribuables aux bactéries sulfatoréductrices (BSR). Il faut cependant souligner que les BSR sont présentes dans presque tous les environnements anaérobies, mais que ces dégradations sévères ne surviennent heureusement que dans un nombre limité de cas.

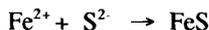
Le tableau I rassemble les différents mécanismes proposés pour expliquer ces corrosions en absence d'oxygène et en présence de BSR. Les quatre premiers mécanismes (théorie de la dépolarisation cathodique, mécanisme d'Iverson, dépolarisation anodique par FeS et cathodique par  $H_2SO_4$ ) permettent d'expliquer une augmentation de la corrosion généralisée en présence de BSR, mais ne tiennent pas compte du caractère localisé de cette corrosion.

La théorie de la **dépolarisation cathodique** [14] a été émise dès 1934 par Von Wolgazen Khür et Van der Vlugt pour expliquer le rôle des BSR dans la corrosion du fer en milieu anaérobie : elle repose sur la consommation de l'hydrogène, produit par la réaction cathodique, selon la réaction enzymatique de réduction des sulfates :



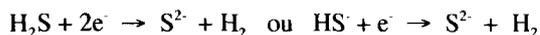
Elle suppose donc que seules les BSR ayant une hydrogénase positive (donc capable de réaliser cette réaction à partir de  $H_2$  ou de H absorbé) sont responsables de la corrosion en anaérobiose de l'acier. Il a été démontré dans les années 70/80 que plusieurs espèces de BSR à hydrogénase négative peuvent également conduire à des vitesses de corrosion importantes. De plus, elle est en contradiction avec de nombreuses mesures électrochimiques qui mettent en évidence une diminution du potentiel de corrosion libre de l'acier au carbone liée à une augmentation de sa vitesse de corrosion, ce qui ne peut s'expliquer que par une augmentation de la réaction anodique ou un changement complet du système redox. D'autres considérations sur les équilibres conduisent également à abandonner cette théorie [10].

La **dépolarisation anodique** peut s'expliquer par la présence de sulfures produits par les BSR et qui accélèrent la réaction anodique par la formation de sulfure de fer [23] :

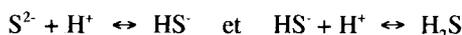


En milieu désaéré, c'est en général la réaction cathodique qui limite la corrosion. cette dépolarisation anodique par formation de FeS ne peut conduire à une augmentation de la vitesse de corrosion que si une nouvelle réaction cathodique se produit.

La présence d'hydrogène sulfuré, liée à l'activité des BSR, a conduit d'autres auteurs à proposer une nouvelle réaction cathodique liée à la présence de  $H_2S$  conduisant à la **dépolarisation cathodique par  $H_2S$**  [16]. La réaction cathodique serait alors, suivant le pH



Aux pH le plus souvent considérés, 7 à 8, l'espèce prédominante est  $HS^-$ . Il faut cependant souligner que les BSR produisent des sulfures  $S^{2-}$  qui doivent auparavant s'équilibrer suivant les réactions :



avant de pouvoir être utilisées à la cathode.

NOM (donné dans la littérature)	MÉCANISME
Théorie de la dépolarisation cathodique, 1934 [14]	Consommation de l'hydrogène cathodique par l'hydrogénase des BSR
Dépolarisation anodique par formation de FeS, 1952 [23]	Augmentation de la vitesse de la réaction anodique par la réaction $\text{Fe}^{2+} + \text{S}^{2-} \rightarrow \text{FeS}$
Mécanisme d'Iverson, 1966 [17]	Production par les BSR d'un composé phosphoré volatil et corrosif
Corrosion galvanique Fe/FeS, 1973 [15]	FeS étant plus noble que Fe, les zones où l'acier est à nu se corrodent plus que celles où il est recouvert par FeS
Dépolarisation cathodique par H <sub>2</sub> S, 1974 [11]	Nouvelle réaction cathodique : $\text{H}_2\text{S} + \text{e}^- \rightarrow \text{HS} + \text{H}_2$
Cellule de concentration de soufre, 1980 [24]	En présence d'un biofilm, hétérogénéités à la surface du matériau dans les concentrations en espèces soufrées non complètement réduites
Acidification locale, 1993 [18]	Régulation par les BSR de leur pH optimal de croissance, acide pour certaines espèces

**Tableau I :**

*Récapitulatif historique des principaux mécanismes de la corrosion en anaérobiose des aciers au carbone en présence de bactéries sulfato-réductrices (BSR)*

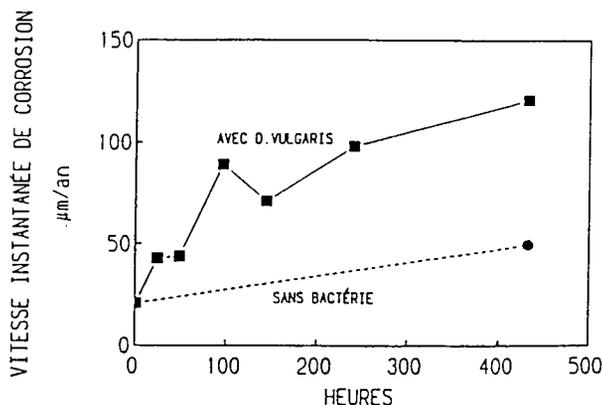
L'utilisation réelle des phosphates dans le métabolisme des BSR, a conduit Iverson à supposer que l'action des BSR est liée à la présence d'un composé phosphoré très réactif avec le fer. Cependant, aucun composé phosphoré lié au fer (phosphorure de fer, FeP<sub>2</sub>) n'a été mis en évidence par analyse et ce **mécanisme d'Iverson** [17] est plutôt cité ici à titre d'information.

Ces trois mécanismes (dépolarisation anodique par formation de FeS, dépolarisation cathodique par H<sub>2</sub>S ou mécanisme d'Iverson) peuvent éventuellement expliquer une augmentation de la corrosion généralisée de l'acier au carbone en présence de BSR (figure 2) ; dans ce cas, l'action des sulfures est prépondérante et concerne probablement à la fois la réaction anodique et la réaction cathodique (figure 3). Cependant, ces mécanismes ne permettent pas d'expliquer le caractère localisé de la corrosion de l'acier au carbone en présence de BSR. De plus, les mesures expérimentales réalisées avec des cultures de BSR ne mettent pas en évidence des vitesses de corrosion généralisée très importantes, comme celles relevées sur site (plusieurs mm par an).

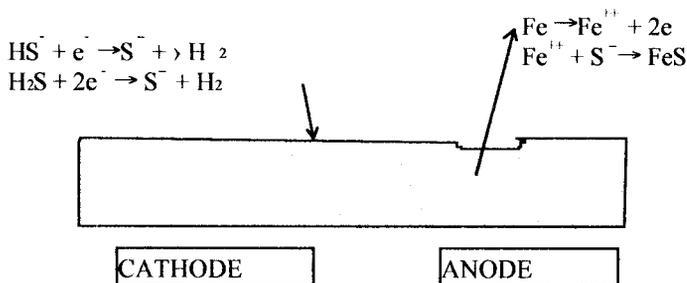
Les trois derniers mécanismes du tableau I tiennent compte de cet aspect localisé des dégradations en présence de BSR. Parmi ceux-ci, deux sont liés à la présence des sulfures :

- **corrosion galvanique Fe/FeS** [15] : le sulfure de fer FeS est plus noble que le fer lui-même en milieu sulfuré. Il peut donc se produire une corrosion galvanique entre une zone où l'acier se retrouve à nu (anode) et la surface recouverte de FeS (cathode). Cette hétérogénéité de surface pourrait être liée au sulfure de fer lui-même : la mackinawite (Fe S<sub>1-x</sub>) étant réputée protectrice, alors que la pyrrhotite (Fe<sub>1-x</sub>S) le serait beaucoup moins.

- **cellule de concentration de soufre** : la réduction incomplète des sulfates ou l'oxydation des sulfures par voie chimique ou biochimique conduirait à la présence de soufre ; les zones enrichies en soufre deviennent cathodes et la corrosion se développe sur les zones sans soufre [24].



**Figure 2** : Influence des bactéries sulfato-réductrices sur la vitesse de corrosion généralisée d'un acier non allié (*Desulfovibrio vulgaris*, 32°C)



**Figure 3** : Réactions anodiques et cathodiques possibles en présence de sulfures produits par les bactéries sulfatoréductrices

Sans être en contradiction avec les deux précédents mécanismes, Guezennec [25] a démontré expérimentalement qu'en présence d'un biofilm constitué de BSR, si une zone devient anodique (par polarisation dans ses expériences), elle le reste ensuite, alors que sans biofilm, elle ne le reste pas (figure 4). Il y a donc **stabilisation de la zone anodique** et corrosion localisée du matériau. Ceci met en évidence un aspect aléatoire dans la corrosion anaérobie de l'acier par les BSR : le matériau tiendra en présence de BSR tant qu'un événement plus ou moins aléatoire ne viendra créer une zone anodique.

Enfin, Crolet, Daumas et Magot [18] ont démontré que les BSR étaient capables de produire une **acidification locale** qui conduirait à une corrosion localisée du matériau. Dans ce mécanisme, la corrosion localisée de l'acier au carbone en présence de BSR ne se produirait que si certaines espèces de BSR sont présentes. Il serait alors possible de les identifier et de prévenir ainsi cette corrosion par un choix judicieux du matériau.

Ces derniers mécanismes liés à la mise en évidence de la stabilisation des zones anodiques ont l'avantage d'expliquer à la fois le caractère localisé de la corrosion de l'acier au carbone en anaérobiose et en présence de BSR, et le fait que ces dégradations sévères ne surviennent que dans un nombre de cas limité.

Pour être complet, mentionnons que des corrosions localisées ont été reproduites en laboratoire [26] sur de l'acier non allié et en milieu anaérobie sans BSR. Les bactéries utilisées, du genre *Clostridia*, produisent principalement de l'acide acétique. Le mécanisme invoqué est une acidification locale.

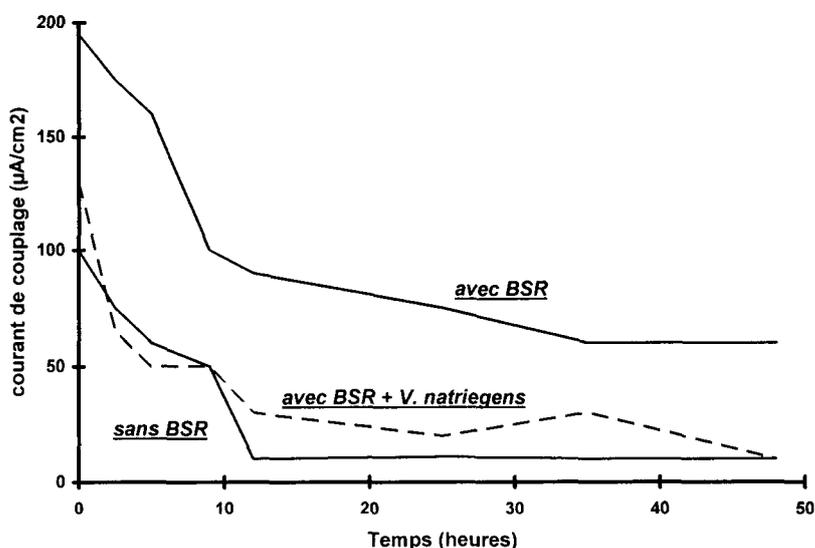
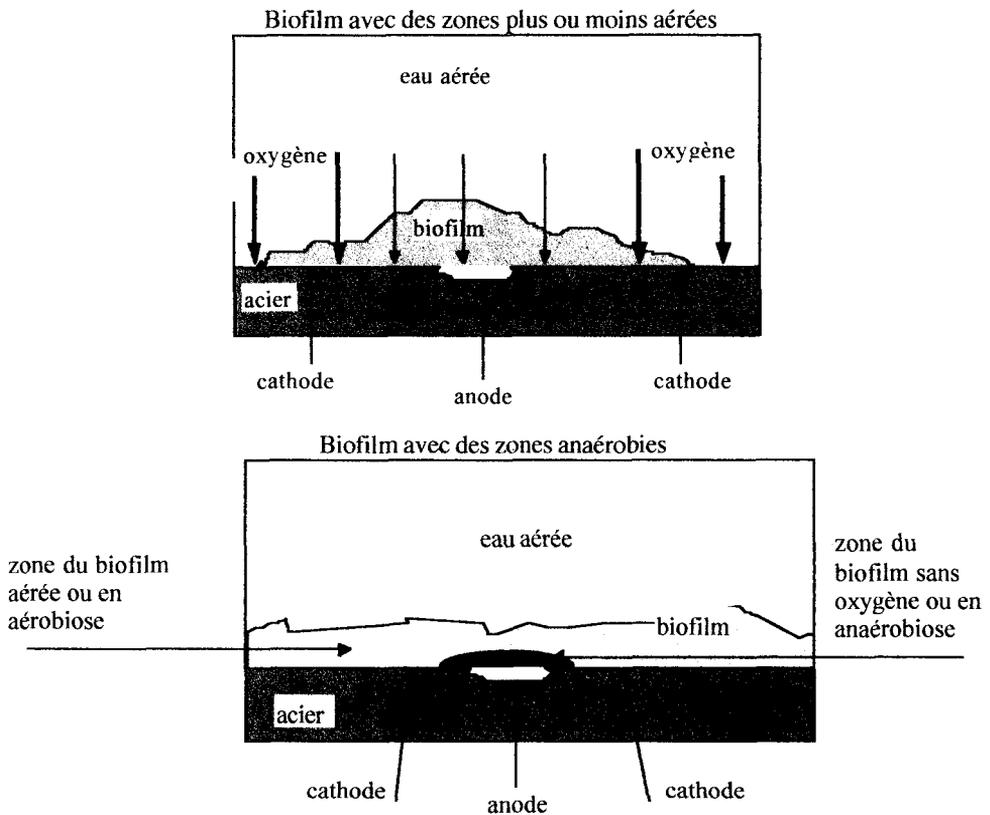


Figure 4 : Évolution du courant entre une anode et une cathode après leur polarisation en présence ou non de BSR

### II.3. Conditions mixtes d'aérobiose et d'anaérobiose

En milieu naturel, le biofilm qui se forme sur l'acier au carbone est hétérogène que ce soit au niveau chimique (présence de zones aérobies et anaérobies) ou microbiologiques (croissance de microcolonies interdépendantes : les bactéries en utilisant l'oxygène rendent possible le développement de bactéries anaérobies). Ce sont donc des conditions favorables à l'établissement des cellules de concentration, en particulier d'aération différentielle (figure 5).

De plus, les mécanismes mis en évidence dans les cas d'aérobiose et d'anaérobiose strictes peuvent également s'appliquer aux zones correspondantes dans le biofilm ou créer une synergie. C'est ainsi que dans un biofilm initialement aérobie contenant des BSR, l'accélération de la corrosion de l'acier non allié serait attribuable à la formation de cellules galvaniques Fe/FeS [19].



Réactions à la cathode :  $O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2 H_2O$  ou  $O_2 + 2H_2O + 4e^- \rightarrow 4OH^-$

Réactions à l'anode :  $Fe \rightarrow Fe^{++} + 2e^-$  puis  $Fe^{++} + H_2O \rightarrow Fe(OH)_2 + 2H^+$

*Figure 5 : Cellules d'aération différentielle sous un biofilm avec ou sans zone anaérobie*

Si de nombreux auteurs ont mis en évidence ces effets de cellules de concentration, il convient cependant de rappeler que la plupart des structures en acier au carbone utilisées en milieu naturel ont une durée de vie normale. A cet égard, l'étude [20] réalisée sur les palplanches utilisées dans les ports pour la réalisation de quais ou de jetées, a montré que seulement 2 à 3 % de ces palplanches présentaient des corrosions anormales dans des emplacements géographiques bien précis. Cette étude montre également que les bactéries sulfatoréductrices sont présentes sous l'ensemble des biofilms qui recouvrent toutes les palplanches. Les zones corrodées correspondent uniquement à celles où un pH acide est relevé dans ou sous le biofilm (pH~3). Les auteurs concluent à un effet synergique entre les BSR et les bactéries aérobies qui conduit à la présence de zones à bas pH, sans oxygène et avec beaucoup de sulfures ; dans ces conditions, ces zones se corrodent rapidement. Plus de détails sont données dans le chapitre « structures métalliques dans les ports ».

#### II.4. Influence des éléments d'alliage

La présence d'éléments comme le molybdène (1 à 2 %) ou le chrome (3 à 9 %) dans des aciers peu alliés conduit à une diminution significative des vitesses de corrosion en présence de BSR.

Les courbes anodiques de la figure 6 illustrent ce phénomène : plus la teneur en chrome est élevée, plus l'acier présente un palier de pseudo-passivité important [21]. Ce résultat est en accord avec les données toxicologiques : suivant leur degré d'oxydation, le molybdène et le chrome peuvent être toxiques pour les bactéries. Il montre également que les données générales de la corrosion aqueuse, notamment en ce qui concerne les éléments d'alliage, sont conservées en présence de BSR en particulier et de bactéries de façon plus générale.

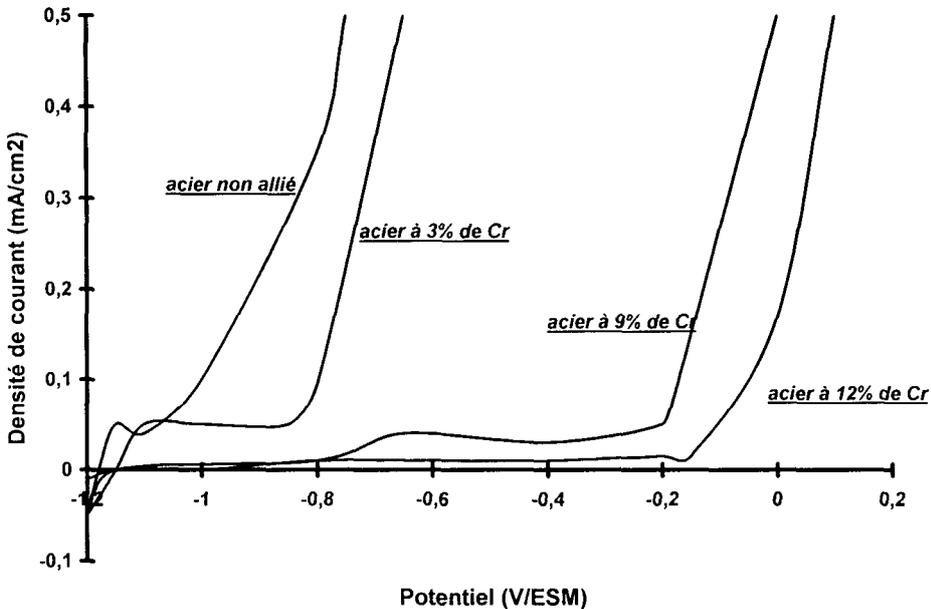


Figure 6 : Influence de la teneur en chrome dans les aciers  
courbes de polarisation anodiques (*Desulfovibrio vulgaris*, 32°C, 1,80V/h)

### III. Les aciers inoxydables

De nombreux cas de dégradations inattendues d'aciers inoxydables ont été décrits dans la littérature et attribués à la présence de bactéries. Ils concernent principalement les aciers austénitiques de type AISI 304, 316 et 308 ou même plus alliés lorsque les eaux sont chargées en sels, comme l'eau de mer.

Avec des eaux peu chargées (eau potable, eau de rivière,...) les attaques sont le plus souvent localisées au niveau des soudures elles-mêmes ou des zones affectées thermiquement. Cette plus grande sensibilité des soudures peut être expliquée par une colonisation rapide de ces surfaces par les bactéries. La formation préférentielle du biofilm au niveau des soudures est liée à la rugosité plus importante de ces surfaces comparée à celle des surfaces libres du métal de base. De plus, il faut préciser que les soudures et les zones affectées thermiquement sont, d'une façon générale, plus sensibles à la corrosion localisée que le métal de base.

Parmi les mécanismes décrits dans la littérature (tableau II), deux mécanismes sont le plus souvent évoqués :

- corrosion par effet de crevasse : la formation du biofilm conduit à la présence de dépôts à la surface du matériau et donc de crevasses entre les dépôts et l'acier inoxydable (figure7). L'acidification de la crevasse peut être accélérée par la présence de bactéries acidifiantes.

- piqûration liée à la présence de bactéries oxydantes : les ferrobactéries (*Gallionella*, *Siderocapsa*) oxydant le fer  $Fe^{2+}$  ou les manganobactéries qui oxydent le manganèse (*Leptothrix* ou *Caulobacter*) provoquent une localisation des zones anodiques et conduisent à la présence d'ions métalliques ayant un degré d'oxydation plus élevé qu'en absence de bactéries. La présence de chlorures conduit à la formation de  $FeCl_3$  et  $MnCl_4$ , ce qui accélère l'initiation et la propagation de la piqûration.

Dans les deux cas, la présence de zones sans oxygène conduit à des colonies de bactéries sulfatoréductrices qui peuvent également accélérer le phénomène de corrosion localisée, mais ne semblent pas jouer un rôle direct.

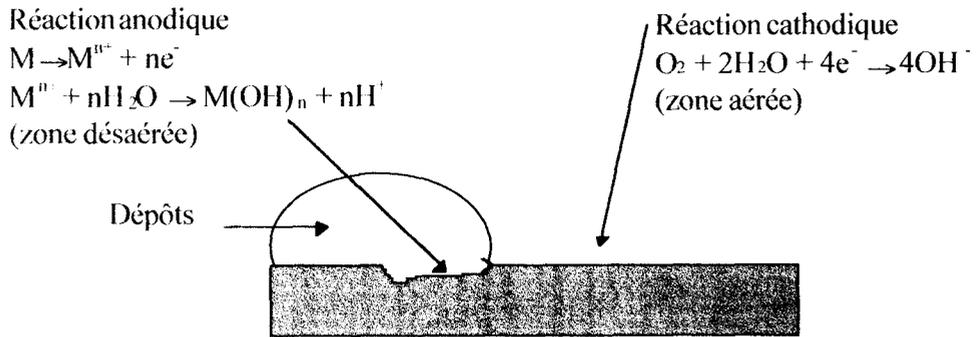


Figure 7 : Corrosion par effet de crevasse

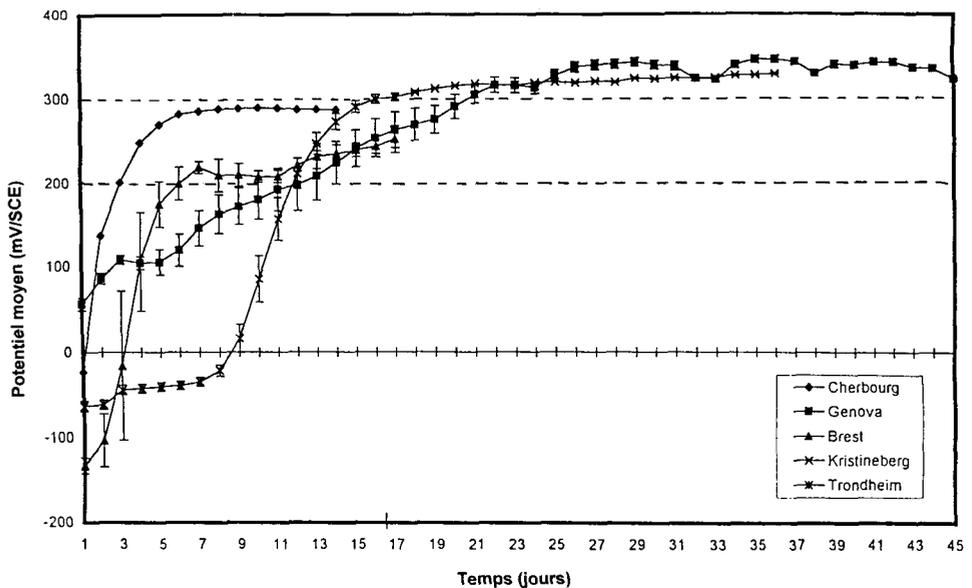


Figure 8 : Evolution du potentiel de corrosion d'un acier inoxydable en eau de mer (température ambiante)

En eau de mer naturelle, et dans certaines eaux douces, une augmentation importante du potentiel de corrosion est observée. Cet effet, appelé « anoblissement » du potentiel de corrosion des aciers inoxydables, est illustré en figure 8 pour un suprausténitique à 6 % de molybdène exposé dans cinq stations différentes en Europe. Cet « anoblissement » jusqu'à environ 350 mV/ECS, conduit à une augmentation du risque de corrosion localisée, en particulier pour les nuances les moins alliées [22]. La raison de cet accroissement du potentiel n'est pas encore totalement élucidée ; il est cependant démontré que cet accroissement de potentiel est lié à la formation du biofilm et à une augmentation de la vitesse de la réaction cathodique, probablement en relation avec des réactions enzymatiques comme la production de  $H_2O_2$ .

**Tableau II : Mécanismes bactériens pouvant affecter la corrosion des aciers inoxydables**

NOM (donné dans la littérature)	MÉCANISME
« Carie dentaire »	Acidification locale liée à la présence de bactéries acidifiantes
Attaque sélective	Prédisposition de certaines bactéries pour une phase (austénite ou ferrite)
Cellules de concentration (oxygène et sulfure)	Bactéries sulfatoréductrices (cf. tableau I)
Corrosion par effet de crevasse	Formation de dépôts due au biofilm
Piqûration	Initiation et propagation de piqûres liées à des bactéries oxydant le fer ou le manganèse
« Anoblissement »	Élévation du potentiel due au biofilm (changement du pouvoir oxydant ou/et du pH)

#### IV. Le cuivre et ses alliages

Les dégradations du cuivre ou de ses alliages attribuées à la présence de bactéries sont moins nombreuses que pour les aciers inoxydables. Ceci est certainement en relation avec l'idée selon laquelle le cuivre est toxique pour les microorganismes et que en conséquence, il inhibe la formation du biofilm. Cependant, de nombreuses bactéries résistent aux ions cuivreux et cuivriques et les surfaces du cuivre ou de ses alliages peuvent se recouvrir d'un biofilm.

En eau de mer, les bactéries peuvent produire, du fait de leur métabolisme, des substances chimiques très corrosives pour le cuivre et ses alliages :

- les cupro-nickel (90/10 et 70/30) et le laiton amirauté sont très sensibles à la présence de sulfures, même à de faibles concentrations (0,01 mg/kg). Les BSR sont donc particulièrement dangereuses pour ces matériaux (figure 9).
- en présence d'ammoniaque, c'est principalement la corrosion sous contrainte qui est à craindre avec les cuivreux. Plusieurs cas de fissurations ont été attribués aux bactéries qui produisent de l'ammoniaque (réduction des nitrates par des bactéries dénitrifiantes).

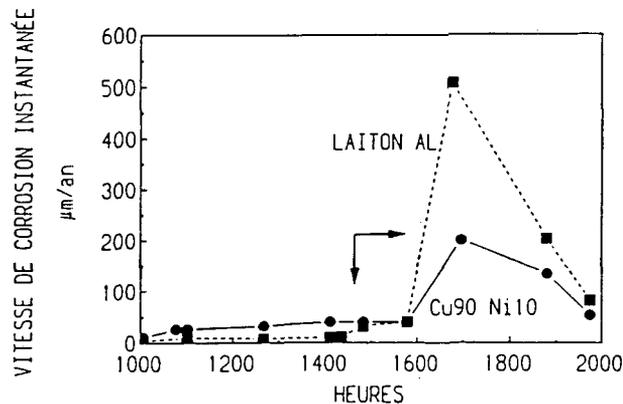


Figure 9 : Influence d'une pollution en sulfures sur la corrosion généralisée du laiton amirauté et du cupro-nickel en eau de mer

Dans des installations d'eau potable, la corrosion localisée de tubes en cuivre a été clairement attribuée à la présence d'un biofilm dont le rôle serait de complexer les ions  $\text{Cu}^+$  et  $\text{Cu}^{++}$ , et surtout d'oxyder  $\text{Cu}^+$  en  $\text{Cu}^{++}$  (présence de dépôts noirs de  $\text{CuO}$ ).

## V. L'aluminium et ses alliages

Des dégradations sévères et inattendues ont été obtenues sur de l'aluminium ou ses alliages et attribuées à la présence de bactéries : il s'agit surtout de réservoirs de carburant d'avions ou de tubes d'échangeurs de chaleur. Dans les réservoirs, la corrosion se produit lorsqu'une phase aqueuse se forme à l'interface carburant-eau et crée des zones anaérobies favorables au développement bactérien.

Les bactéries mises en cause dans ce cas sont du genre *Pseudomonas*, *Aérobacter* et *Desulfovibrio* ainsi que des champignons (*Cladosporium*).

Les mécanismes invoqués pour expliquer ces attaques localisées sont les suivants :

- production de métabolites corrosifs tels que des acides organiques ou l'hydrogène sulfuré,
- création de pile d'aération différentielle,
- utilisation de l'inhibiteur de corrosion par le métabolisme des bactéries : transformation des nitrates (inhibiteur de la corrosion de l'aluminium) en nitrites,
- complexation des ions métalliques par les polymères extracellulaires excrétés par les bactéries.

## VI. Conclusion

Les phénomènes de corrosion bactériennes résultent d'une synergie entre :

- le milieu aqueux apparemment peu agressif,
- le matériau qui semble compatible avec le milieu,
- les microorganismes dont la présence est souvent inattendue.

Chacun de ces trois facteurs pris séparément (milieu aqueux, matériau, bactérie) constitue en lui-même un vaste sujet d'étude : la chimie et l'électrochimie en milieu aqueux, la métallurgie et la résistance des matériaux, la microbiologie et la biochimie. C'est au carrefour de ces disciplines que peuvent être élucidés les mécanismes mis en jeu.

Ces mécanismes sont divers et variés. Ils dépendent à la fois du milieu, du matériau et des bactéries comme nous pensons l'avoir montré précédemment. Il convient encore de préciser que si certains mécanismes sont bien acceptés (acidification du milieu par les sulfobactéries, par exemple), d'autres sont encore âprement discutés dans la communauté scientifique (rôle des bactéries sulfatoréductrices, par exemple). Cependant, fondamentalement, l'action des bactéries ne consiste qu'à modifier ou accélérer une des réactions électrochimiques mises en jeu dans la corrosion aqueuse des matériaux métalliques.

## Références

### Livres

- [1] J. Chantereau (1980), «Corrosion bactérienne - bactéries de la corrosion», Technique et Documentation, Paris.
- [2] Matériaux et Techniques, spécial biocorrosion, numéro spécial, ISSN 0032-6895, décembre 1990.
- [3] « La corrosion induite par les micro-organismes en milieu naturel », Océanis, volume 19, Fascicule 3, 1993, Institut océanographique, Paris.
- [4] « Microbially influenced corrosion and Biodeterioration », Dowling, Mittleman, Danko eds., ISBN 0-9629856-0-0, University of Tennessee, Knoxville, USA, 1990
- [5] « Microbial Corrosion », Sequeira & Tiller eds, ISBN 0-901716-08-1, The Institut of Materials, Londres, 1992
- [6] « 1995 International conference on microbially influenced corrosion », Nouvelle-Orléans, ISBN 1-877914-90-8, NACE International, USA

### Articles

- [7] D. Thierry, W. Sand (1995), « Microbial Influenced Corrosion », Corrosion mechanisms in theory and practice, P. Marcus & J. Oudar, Marcel Decker, New York., pp 457-499
- [8] J. Guezennec (1990), « La biocorrosion, processus caractéristiques et moyens d'études ». dans [2] pp 3-8.
- [9] B. Little, P. Wagner, F. Manofeld (1992), « An overview of microbiologically influenced corrosion » - *Electrochemical Acta*, vol. 37, n° 12, pp. 2185 - 2194.
- [10] J.L. Crolet « De biologie et corrosion à biocorrosion », dans [2] pp 9-14
- [11] Tiller, A.K. (1983). Aspects of microbial corrosion, *Corrosion Processes* (Parkins, R.N., ed.), Applied Science, London, pp. 115-159.
- [12] Hamilton, W.A. (1985). « Sulphate-reducing bacteria and anaerobic corrosion », *Annu. Rev. Microbiol.* 39: 195-217.
- [13] Videla, H.A. (1990). « Sulphate reducing bacteria and anaerobic corrosion », *Corros. Rev.* 9: 103-141.
- [14] von Wolzogen Kühr, G.A.H., van der Vlugt, L.R. (1934). « De graphiteering van gietijzer als electrobiochemisch proces in anaerobe gronden », *Water 18*: 147-165.
- [15] King, R.A., Miller, J.D.A., Wakerley, D.S. (1973). « Corrosion of mild steel in cultures of sulphate reducing bacteria : effect of changing the soluble iron concentration during growth », *Br. Corros. J.* 8: 89-93.
- [16] Costello, J.A. (1974). « Cathodic depolarization by sulphate reducing bacteria », *S. Af. J. Sci.* 70: 202-204.
- [17] Iverson, W.P. (1966). « Direct evidence for the cathodic depolarization theory of bacterial corrosion », *Science 151*: 986-988.
- [18] Crolet, J.L., Dumas, S. Magot, M. (1993). « pH regulation by sulphate-reducing bacteria », *CORROSION 93*, New Orleans, paper 303, NACE.
- [19] W. LEE et coll. (1993). « Corrosion of mild steel underneath aerobic biofilms containing sulfate - reducing bacteria - Part II : at high dissolved concentration » - *Biofouling*, vol 7, pp 217-239.

- [20] J.M. Moulin et Coll. (1995) « Special corrosion of steel sheet piles in temperate seawater » dans [6], papier n° 53.
- [21] V. Ferrante, D. Féron (1990) « Microbially influenced corrosion of steels containing molybdenum and chromium : a biological and electrochemical study « ., dans [4] pp. 355-365.
- [22] G. Cragolino, O.H. Tuovivien (1984) « The role of sulphate reducing and sulfure oxidizing bacteria in the localized corrosion of iron base alloys - a review « , *Int. Biodeterioration* 20 : 9-26.
- [23] J.N. Wanklyn, C.J.P. Spruit (1952), « Influence of sulphate reducing bacteria on the corrosion potential of iron « *Nature*, 169, 928 - 929.
- [24] E. Schaschl (1980), « Elemental sulfur as a corrodent in deaerated neutral aqueous solutions « . *Mat. Performance*, 19, 9-12.
- [25] J. Guezennec, M.W. Mittelman, J. Bullen, D.L. White, J.L. Crolet (1992) « Stabilisation of localized corrosion on carbon steel by sulphate-reducing bacteria « , U.K. Corrosion, 1992.
- [26] D.H. Hope, T.P. Zintel, A.K. Kuruvilla, O.W. Siebert (1988). « Organic acid corrosion of carbon steel : a mechanism of microbiologically influenced corrosion « , CORROSION 88, St Louis, paper 79, Nace.
- [27] J.P. Audouart & Co. « Effect of marine biofilms on stainless steels : results from a European exposure program « dans [6] pp 3/1-3/19

## Chapitre 7

### Biodétérioration des polymères

Didier HILAIRE

**Résumé.** Les polymères sont des matériaux régulièrement considérés comme inertes à l'action des agents biologiques. Cependant des phénomènes de biodétérioration sont parfois observés, le plus souvent occasionnés par des micro-organismes en particulier des champignons filamenteux. Différents paramètres environnementaux et propres aux polymères (groupements chimiques du polymère, adjuvant, état de surface) favorisent l'apparition de ces détériorations d'origine biologique. Des essais *in vitro* permettent d'évaluer la sensibilité des polymères, l'action des micro-organismes et de déterminer l'incident des attaques microbiennes sur les caractéristiques du matériau.

#### I. Introduction

La biodétérioration peut être définie comme l'ensemble des modifications des propriétés physico-chimiques, mécaniques,... d'un matériau ou matériel par l'action d'organismes vivants. Ces modifications sont inopportunes et préjudiciables à l'utilisation et/ou au bon fonctionnement du matériau ou du matériel. Les polymères ont la réputation de présenter une grande inertie vis-à-vis de l'action de microorganismes mais des biodétériorations sont parfois observées. Ces détériorations peuvent présenter différentes formes, à savoir :

- modifications d'aspect qui se matérialisent par l'apparition de:
  - taches dues à la migration dans la structure du polymère de produits générés par l'activité métabolique ou à la présence physique de microorganismes. Ces taches le plus souvent n'altèrent pas la solidité du matériau mais sont particulièrement gênantes lorsque le polymère a une vocation esthétique (cas des peintures, huisseries en PVC)
  - cloquage dû à l'action conjointe de microorganismes et d'humidité (cas des vernis, peintures). Le cloquage d'un vernis sur une carte électronique peut entraîner entre autre des défauts d'isolement.
- modifications des propriétés mécaniques et physico-chimiques (diminution de la résistance à la traction, perméabilité, élasticité, souplesse). Le polymère suite à ces altérations risque ne plus pouvoir remplir sa fonction (joint d'étanchéité par exemple).
- La présence physique de microorganismes peut être gênante sur des marquages ou autres références. Enfin il ne faut pas négliger les réflexes de rejet et de dégoût qu'éprouve toute personne devant utiliser un matériau sur lequel se sont développés des microorganismes (cas des matériaux moisissés par exemple).

La biodétérioration ne doit pas être confondue avec la biodégradation qui se définit comme l'ensemble des réactions de transformation ou de destruction des éléments constitutifs d'un matériau dues à l'action d'une ou plusieurs entités biologiques. La biodégradation est un phénomène souhaitable (élimination par exemple des déchets plastiques générés par l'activité humaine).

La biodégradation et la biodétérioration mettent donc en jeu les mêmes processus mais ont des finalités totalement opposées ; la biodégradation est un phénomène

positif alors que la biodétérioration est un phénomène négatif. Il est enfin, important de garder à l'esprit qu'un matériau détériorable n'est pas pour autant biodégradable. Tout au long de cette présentation nous évoquerons les acteurs biologiques de la biodétérioration, les facteurs qui au niveau du polymère peuvent l'influencer, les méthodes d'évaluation de l'action des microorganismes sur les polymères et les mesures préventives.

## II. Acteurs de la biodétérioration

Les agents biologiques mis en jeu dans les processus de biodégradation sont variables. On peut rencontrer :

- des animaux supérieurs (rongeurs en particulier),
- des insectes (mites pour les tissus, termites pour le bois sont les plus connus),
- des salissures marines (algues, balanes, mollusques, ...),
- des microorganismes (bactéries, champignons filamenteux ou moisissures).

Les polymères (plastomères, élastomères, peintures etc...) peuvent être biodétériorés par des rongeurs, des salissures marines, des microorganismes. Nous nous intéresserons plus particulièrement à l'action des microorganismes.

Les microorganismes sont présents pratiquement dans tous les milieux environnementaux. Ils sont véhiculés par différents vecteurs (eau, insectes, vent, hommes...). Ils peuvent atteindre n'importe quel matériau, éventuellement s'y fixer et se développer si les conditions environnementales et nutritives sont favorables. Nous examinerons les conditions qui favorisent l'adhésion et le développement des microorganismes

### II.1 Adhésion des microorganismes

L'adhésion des microorganismes sur les polymères peut être favorisée par différents paramètres comme l'existence de forces de type Van der Waals qui exercent une attraction des microorganismes par le polymère, et les interactions électrostatiques. Les bactéries chargées négativement seront attirées par les polymères portant des charges positives et repoussées lorsque les polymères seront chargés négativement. L'attraction due aux forces de Van der Waals est assez constante alors que les interactions électrostatiques de répulsion ou d'attraction sont aléatoires, réversibles car sujettes aux modifications environnementales (pH, force ionique en milieu liquide...). Ces deux mécanismes sont dans la plupart des cas insuffisants pour permettre une adhésion définitive des microorganismes sur le matériau.

Lors d'essais *in vitro* avec des moisissures, il est souvent constaté que l'hydrophobicité des polymères gêne la fixation des moisissures lors de l'ensemencement. La fixation *in vitro* peut être artificiellement favorisée par l'ajout d'un surfactant. *In vivo*, les microorganismes capables de synthétiser des exo-polymères (polysaccharides) voient leur adhésion sur le polymère facilitée. Le polysaccharide joue le rôle de "colle" ou "d'adhésine" qui permet la fixation des microorganismes. La fixation par ce mode d'action est pratiquement irréversible et peut entraîner une biodétérioration ultérieure.

### II.2 Conditions environnementales

La température, l'humidité relative sont des facteurs importants. Les microorganismes ont des températures optimales de croissance et se développent en général entre 5 et 40°C. En dehors de cette plage de température les risques de biodétérioration seront limités car les

microorganismes se développeront mal ou pas du tout. L'humidité relative (HR) joue aussi un rôle très important en particulier au niveau de la croissance des moisissures qui pour se développer ont besoin d'une HR supérieure à 70%. L'action biodétériogène des moisissures sera donc favorisée par la présence d'humidité, par exemple dans des locaux mal aérés ou pendant des stockages en atmosphère non conditionnée. L'exemple classique est le développement dans les salles de bain de moisissures sur les joints en silicone et les peintures. De même un matériau polymère ou autre utilisé en conditions extérieures aura plus de chance de se biodétériorer en Guyane qu'en Terre Adélie car les conditions environnementales en Guyane seront plus propices au développement microbien. Il est évident qu'un certain nombre de polymères biodétériorables ne seront pas biodétériorés ou très peu *in vivo* car les conditions environnementales (température et humidité) ne permettront pas le développement des microorganismes.

### II.3 Conditions nutritives

Pour que des microorganismes se développent sur un matériau polymère il est nécessaire qu'ils y trouvent une situation avantageuse du point de vue nutritif. D'une part le matériau peut être utilisé comme source nutritive, la biodétérioration est dite dans ce cas directe. D'autre part le matériau polymère peut être un support fort intéressant sur lequel les microorganismes se fixeront et n'auront plus qu'à attendre que les flux d'air ou d'eau leur apportent les substances nutritives nécessaires à la croissance. La fixation peut être particulièrement intéressante en cas de pénurie alimentaire car le flux permet un apport régulier de substances nutritives. Dans ce cas, le matériau n'est pas utilisé comme source nutritive mais comme support. Les microorganismes le biodétériorent par voie chimique par l'intermédiaire des produits générés par les réactions métaboliques associées à l'activité cellulaire. L'attaque est dite indirecte.

Pour se développer les microorganismes ont besoin de différents éléments, en particulier carbone, azote, phosphore, soufre, oxygène pour les organismes aérobies. Un polymère peut-il apporter ces éléments ? Les polymères sont constitués d'enchaînements de monomères renfermant le plus souvent des atomes de carbone, d'hydrogène, d'oxygène, parfois d'azote (exemple des polyuréthanes). Donc a priori les polymères pourraient constituer une source de carbone organique, d'azote... donc permettre le développement de microorganismes chimioorganotrophes hétérotrophes (c'est-à-dire des microorganismes qui tirent leur source de carbone et d'énergie de composés organiques). La question est de savoir si les microorganismes sont capables d'utiliser un matériau polymère comme source nutritive et quel intérêt ils y trouveraient ? Les microorganismes utilisent préférentiellement les substrats sur lesquels ils se développent le mieux ou qui sont les plus intéressants énergétiquement. Dans la nature les microorganismes sont en contact de substrats beaucoup plus "alléchants" que les polymères. Il est donc possible que les microorganismes *in vivo* n'utilisent les polymères comme source nutritive qu'en ultime extrémité lorsqu'il n'y a rien d'autres à consommer. C'est peut-être pour cela que les cas de biodétérioration en dehors d'environnements bien ciblés ne sont pas très fréquents. Lors d'essai *in vitro* par contre il est souvent observé des biodétériorations de polymères de natures diverses. Le polymère représente la seule source nutritive, les microorganismes sont obligés de l'utiliser, s'ils veulent se développer.

## III. Facteurs influençant la biodétérioration

La sensibilité d'un polymère à la biodétérioration dépend de différents facteurs :

- nature du polymère,
- nature des adjuvants et additifs de formulation,

- état du matériau (neuf, vieilli...),
- présentation du matériau.

### III.1 Nature du polymère

Les polymères naturels polysaccharides (amidon, cellulose...), caoutchouc, protéines sont utilisés comme source nutritive par les microorganismes. Ces derniers possèdent des enzymes spécifiques des groupements chimiques de ces polymères naturels qui sont présents dans la nature depuis la nuit des temps. Vraisemblablement les microorganismes capables de les dégrader ont été naturellement sélectionnées.

Concernant les polymères synthétiques qui "existent" seulement depuis quelques dizaines d'années cette sélection de microorganismes ne s'est pas encore effectuée. Malgré tout, certains polymères synthétiques sont utilisés comme source nutritive et biodétériorés par attaque directe. La biodétérioration dépend de certains groupements chimiques, de la longueur des chaînes et des ramifications inter-chaînes. En effet pour être utilisée, toute substance nutritive doit pénétrer dans la cellule et au préalable traverser les parois et enveloppes qui assurent la protection de la cellule contre le milieu extérieur.

Les macromolécules ne peuvent traverser cette barrière, par contre les petites molécules pénètrent soit par perméabilité, soit par l'intermédiaire de transporteurs. Il est clair que les macromolécules à haut poids moléculaire que sont les polymères ne peuvent pas pénétrer dans les cellules sans subir des transformations dont l'objectif est de réduire leur taille. Pour "découper" les macromolécules les microorganismes devront posséder un arsenal d'enzymes extra-cellulaires (ou exo-enzymes) capables de casser les fonctions chimiques du polymère. Des microorganismes présentent souvent naturellement des exo-enzymes, (protéases, estérases...) qui sont capables d'agir sur un type donné de liaison chimique sans grande spécificité. Ce manque de spécificité peut permettre de catalyser la rupture d'un groupement chimique d'un polymère présentant des similitudes avec les groupements chimiques d'un composé naturel. A titre d'exemple des polymères (polyester, polyuréthane, polyamides...) présentant des groupements chimiques de type liaisons esters ou amides sont souvent biodétériorés. Cependant, la capacité d'un enzyme à catalyser l'hydrolyse d'une liaison chimique n'est pas toujours suffisante pour détériorer le polymère car il est nécessaire que l'enzyme puisse atteindre sa cible. Le problème de la diffusibilité des enzymes dans le polymère se pose donc lorsqu'un polymère a une structure tridimensionnelle très ramifiée, rigide, les enzymes ne peuvent pas diffuser. L'action biodétériorogène des microorganismes est mécaniquement empêchée.

Voyons au travers de quelques exemples le mode d'action des microorganismes.

#### III.1.1 Cas des matériaux polyesters

Des essais *in vitro* (1) ont montré que deux polymères polyesters insaturés constitués d'acide isophtalique, d'anhydride maléique, de propylène glycol (0,5/0,5/1) pour l'un (matériau PG) et d'acide isophtalique, d'anhydride maléique, de propylène glycol et de néopentylglycol pour l'autre (matériau NPG) étaient biodétériorés par des moisissures, le matériau NPG étant visuellement plus biodétérioré que le matériau PG. L'analyse infrarouge des matériaux montre une diminution du taux des fonctions esters aromatiques du matériau PG et une chute des fonctions esters aromatiques et aliphatiques du matériau NPG. L'essai de traction effectué sur le matériau PC montre une chute de la contrainte à la rupture de 30fJl par rapport au témoin abiotique. Il semble que les microorganismes ont agi sur ces deux matériaux en hydrolysant les fonctions esters. La présence du néopentylglycol pourrait être responsable des différences observées entre les deux matériaux.

Au contraire, un matériau vinylester présentant des groupements esters est apparu inerte *in vitro* vis-à-vis de différentes moisissures (1), la présence de groupements esters

dans un polymère ne doit pas conduire systématiquement à la conclusion que ce matériau est biodétériorable.

### III.1.2 Cas des polyuréthanes

Les polyuréthanes forment une famille de polymères hétéroclites dans laquelle des polymères biodétériorés sont souvent rencontrés *in vivo*. Des essais *in vitro* confirment la capacité de différents microorganismes de les détériorer (2). Le tableau n°1 montre la résistance de différentes formulations aux microorganismes.

Tableau n°1: Tenue aux microorganismes de divers matériaux polyuréthanes, après 3 mois d'exposition aux microorganismes (moisissures) à 30°C 90% HR.

Matériaux	Diisocyanate	Polyols	Diamine	sensibilité aux microorganismes
A	CHDI	Polycaprolactone Butanediol		Importante
B	TDI	PTMEG	MOCA	Faible
C	TDI	PTMEG; PPEG	MOCA	Faible
D*	MDI	PTMEG Butanediol		Faible
E*	MDI	PTMEG Butanediol		Faible
F	TDI	PTMEG	MOCA	Faible
G	TDI	PTMEG	MOCA	Faible
H*	MDI	Polyester Butanediol		Faible
I	MDI	Dérivé oléfinique de type polyester		Importante

\* présence d'un biocide.

La comparaison des formulations de ces différents polyuréthanes semble indiquer que la sensibilité aux microorganismes de deux matériaux (A et I) est due au polyol. L'analyse des propriétés physico-chimiques et mécaniques du matériau A en fonction du temps d'exposition aux microorganismes confirme cette hypothèse. En effet sont observées :

- une perte de masse de 10fl après 6 mois d'exposition aux microorganismes,
- une chute de la contrainte à la rupture de 47% après 3 mois d'exposition et de 65% après 6 mois,
- une diminution de l'allongement de 45 % après 3 mois et de 73% après 6 mois.

Les graphes contrainte à la rupture= $f(t)$  et allongement = $f(t)$  sont présentés figures 1 et 2, ci-après:

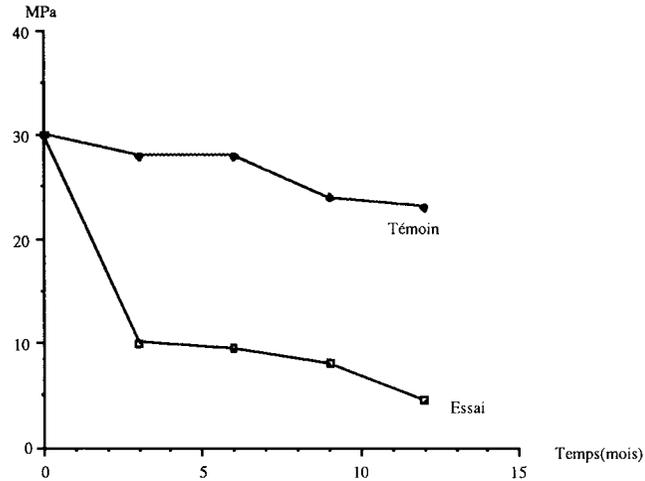


figure 1 : Contrainte à la rupture du matériau polyuréthane A en fonction du temps d'exposition à *Penicillium citrinum*

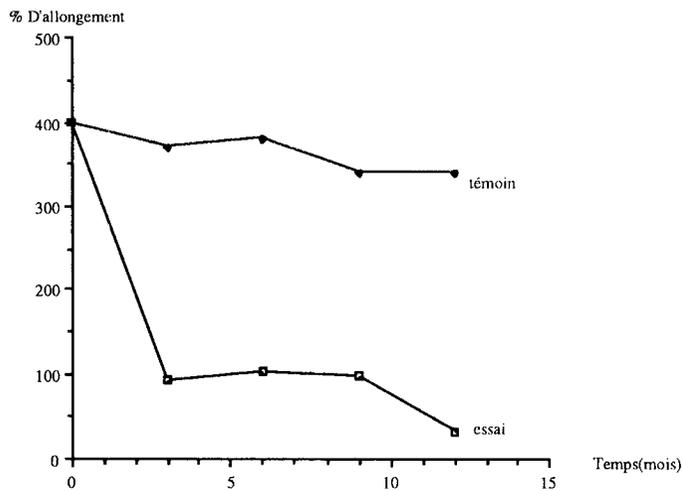


Figure 2 : Allongement (%) du matériau A en fonction du temps en présence de *Penicillium citrinum*

L'essai de contrainte à la rupture montre qu'il y a cassure de chaînes macromoléculaires. La chute de l'allongement indique une perte d'élasticité du matériau.

Le polyol constitué d'enchaînements  $\text{HO}-(\text{CH}_2)_5\text{-CO-O}^n\text{-H}$  assure l'élasticité du matériau il semble donc que l'action des microorganismes se situe à son niveau. L'analyse RMN du carbone 13 signale une diminution du taux des groupements esters du matériau. Il peut être conclu que les microorganismes biodétériorent le matériau A en catalysant l'hydrolyse des groupements esters du polyol (polycaprolactone). Pour en terminer avec ces résultats, il semble que la bonne tenue du polymère H (matériau avec un polyol polyester) à l'action des microorganismes soit due à la présence du biocide. Dans le cas de ce matériau, le biocide a un double intérêt car il sert aussi de catalyseur de la réaction de réticulation. Cette remarque nous amène à la constatation que des additifs de formulation peuvent jouer un rôle (favorable ou défavorable) non négligeable dans la biodétérioration des polymères. En régie générale les polyuréthanes polyester sont beaucoup plus sensible aux microorganismes que les polyuréthanes polyether (3).

### III.2 Additifs et adjuvants

Les adjuvants rencontrés dans les polymères sont les plastifiants, charges, lubrifiants, colorants, catalyseurs, stabilisants, agents de protection.... Leur présence est souvent prépondérante sur la résistance finale d'un polymère à l'action des microorganismes, d'autant plus que la quantité des divers additifs dans le matériau fini est loin d'être négligeable. Il n'est pas possible, évidemment, de passer en revue les différents adjuvants, leur liste étant pratiquement illimitée. Nous illustrerons donc leur influence sur la résistance des polymères à partir de trois exemples. Le tableau n°2 montre le rôle d'un plastifiant sur la résistance d'un polychlorure de vinyle (PVC) vis à vis de l'action des moisissures.

Tableau n°2 : Influence d'un plastifiant sur la résistance aux moisissures d' un polymère PVC (durée d'essai : 1 mois à 28°C et 90% HR)

Polymère	Plastifiant	Biodétérioration
PVC*	Phtalate de dioctyle	non
PVC*	Sebacate de dioctyle	oui

\* le polymère PVC est identique dans les 2 cas.

Les deux matériaux PVC constitués du même polymère se comportent de façon différente vis-à-vis des moisissures. La sensibilité à la biodétérioration semble due à la présence du sebacate de dioctyle qui pourrait être utilisé par les microorganismes. Il ne faut pas pour autant généraliser en affirmant que le phtalate de dioctyle garantit une inertie du polymère car il a été montré par Moriyama et al. (4) que ce plastifiant pouvait être utilisé comme source nutritive par différentes moisissures. Dans le cadre de l'exemple présenté il est possible que le phtalate de dioctyle n'ait pu être extrait qu'il ait été en proportion insuffisante pour permettre une croissance et entraîner un processus de biodétérioration.

Le tableau n°3 reprend les résultats obtenus avec un polymère polyuréthane polyéther en présence de différents additifs.

Tableau n°3 : Influence d'un antioxydant sur la résistance aux moisissures d' un polymère polyuréthane polyéther (durée d'essai : 2 mois à 30°C et 90% HR)

Agent de démoulage	Antioxydant	Anti-UV	Fongicide	Biodétérioration
oui	oui	oui	non	oui
oui	non	oui	non	légère
oui	oui	oui	oui	légère
oui	non	oui	oui	non

La présence de l'antioxydant favorise la biodétérioration du polymère polyuréthane polyéther. Il est à noter que l'incorporation d'un produit fongicide protège le matériau de la biodétérioration en inhibant le développement des moisissures.

Des résultats d'essais de biodétérioration (1) effectués *in vitro* sur des matériaux composites (verre/résine) obtenus à partir des polyesters PG et NPG sont présentés tableau n°4.

Tableau n°4 : Résistance à la biodétérioration de composites verre/résine (CVR) après 2 mois d'exposition aux moisissures à 30°C et 90% HR

Résine polyester	Support Verre	Biodétérioration
NPG	Mat de 480g/m <sup>2</sup>	Très importante
NPG	Tissu de verre sergé de 830 g/ m <sup>2</sup>	Importante
PG	Mat de 480 g/ m <sup>2</sup>	Importante
PG	Type marine Tissu de verre sergé de 830 g/m <sup>2</sup> de type marine	Peu importante

L'analyse des résultats présentés tableau n°4 confirme que les polymères PG et NPG sont biodétériorables. Nous remarquons que dans la configuration CVR le support verre influe sur la tenue finale du composite. Il est évident que pour ces deux polymères le support mat de verre aggrave le processus de biodétérioration. La biodétérioration se traduit par une "extraction" du polymère qui laisse à nu le support mat dont les irrégularités sont utilisées comme "niche" par les moisissures.

En conclusion de nombreux adjuvants peuvent être utilisés par les microorganismes comme source nutritive mais dans les faits, la réalité est plus complexe, pour au moins deux raisons :

- le taux d'adjuvant dans le matériau peut être suffisant pour permettre un développement de microorganismes capable d'entraîner une biodétérioration du polymère,
- la configuration du matériau ne permet pas aux microorganismes d'atteindre l'adjuvant, de l'extraire et de le métaboliser.

Les additifs peuvent dans certains cas favoriser la biodétérioration, dans d'autres cas ils protègent le matériau en limitant par exemple le vieillissement physico-chimique ou en entraînant une toxicité vis-à-vis des microorganismes.

### III. 3 Etat du matériau

Un même matériau risque de se comporter différemment selon qu'il est neuf ou vieilli. Au cours de sa vie un polymère va être confronté à différents facteurs physico-chimiques (chaleur, lumière solaire, humidité, vent, eau...) qui vont le détériorer. Ce vieillissement a souvent pour effet de " relâcher " la structure du polymère, de fragmenter des chaînes macromoléculaires, de modifier l'état de surface, donc de favoriser le passage d'éventuel agent biologique. Le vieillissement peut aussi entraîner la migration d'additifs à la surface du matériau et les rendre accessibles aux microorganismes. Le vieillissement peut de même conduire à l'élimination ou à la dilution de produits biocides ce qui favorisera le développement de microorganismes.

L'exemple présenté sur le (tableau n°5) illustre l'influence du rayonnement ultraviolet sur la biodétérioration *in vitro* d'un polyméthacrylate de méthyle.

Tableau n°5 : Biodétérioration après exposition 1 mois aux moisissures (30°C, 90%HR) d'un polymère polyméthacrylate de méthyle vieilli artificiellement aux Uv (éclairage 17W/m<sup>2</sup>, quantité d'énergie

Vieillissement UV préalable	Biodétérioration
oui	importante
non	légère

Le rôle initiateur de biodétérioration des rayonnements UV a été observé sur différents polymères autres que les polyméthacrylates de méthyle, comme les polyuréthanes, polycarbonates, PVC, polyéthylènes... En général le vieillissement facilite l'action des microorganismes et augmente les risques de biodétérioration.

### III.4 Présentation du matériau

Pour qu'un microorganisme puisse biodétériorer un polymère il faut d'abord qu'il "s'accroche" à la surface. Certains matériaux du fait de leur état de surface seront plus facilement colonisés que d'autres. Les matériaux à surface irrégulière, ceux présentant des cavités se prêteront plus facilement aux développements microbiens d'autant plus que ces irrégularités de surface seront sensibles à l'encrassement naturel (dépôts organiques par exemple) qui sera susceptible de favoriser l'adhésion des microorganismes et de leurs apporter une source nutritive. L'épaisseur du matériau n'a à priori pas d'influence sur le développement des microorganismes ; un matériau fin sera simplement, en cas de biodétérioration, plus fragile qu'un matériau épais.

## IV. Méthodes d'évaluation de la biodétérioration

La présence d'un biofilm surtout mycélien peut être observée sur des polymères *in vivo* ou *in vitro*. Il est important d'évaluer les conséquences sur le polymère de la présence de ce biofilm. *In vivo* il est souvent difficile de déterminer avec certitude l'origine biologique des détériorations observées ainsi que l'impact des microorganismes sur les propriétés physico-chimiques du matériau car d'autres facteurs (humidité, lumière...) ont pu précéder les microorganismes et occasionner des détériorations. Des essais *in vitro* permettent par contre de relier un développement microbien et son incidence sur le matériau. Lors d'essais de biodétérioration différentes caractéristiques du polymère peuvent être suivies et comparées aux caractéristiques du même polymère vieilli en absence de microorganismes. En premier lieu il convient d'examiner l'aspect du polymère (couleur, fissures, teinte...). Des essais gravimétriques facilement mis en oeuvre sans appareillage onéreux permettent de suivre l'évolution de la masse du matériau qui normalement doit chuter si les microorganismes utilisent le polymère ou un de ses additifs comme source nutritive. Dans la réalité cependant une biodétérioration ne se traduit pas toujours par une chute de masse car l'hydrolyse de groupements chimiques s'accompagne de capture d'eau dont la conséquence est d'augmenter la masse du matériau. Les autres essais applicables nécessitent pour la plupart un appareillage onéreux qui peut limiter leur utilisation. Parmi ces essais nous pouvons citer les essais de traction (5) dont l'avantage est de suivre à la fois la rupture à la contrainte et l'allongement, ce qui permet de mettre en évidence la rupture de chaînes et des modifications d'élasticité. La température de transition vitreuse ( $T_g$ ), dont la valeur est liée à la rigidité du squelette du polymère, peut être mesurée et montrer une action des microorganismes sur la structure moléculaire. Du point de vue de l'analyse chimique, l'analyse spectrale infrarouge peut permettre de déterminer les groupements chimiques qui sont attaqués par les microorganismes. Cette méthode est cependant d'un emploi limité car tous les polymères ne permettent pas de préparer des échantillons analysables. Les états de surface des polymères peuvent être suivis par microscopie électronique et par analyse tridimensionnelle. Il existe bien-sûr d'autres essais d'évaluation de la biodétérioration. Leur choix doit tenir compte de la nature du polymère et de sa fonction.

## V. Mesures préventives

La prévention face à la biodétérioration peut s'exprimer à deux niveaux :

- en testant *in vitro* au laboratoire ou *in vivo* en station de vieillissement le comportement du matériau vis-à-vis des microorganismes. Il est possible de déterminer le constituant qui "fragilise" le matériau et de le remplacer par un constituant intrinsèquement insensible aux microorganismes,

- en incorporant systématiquement dans la formulation un biocide dont la fonction sera de tuer ou d'inhiber le développement des germes qui se fixeront à la surface du matériau. Cette protection n'est cependant pas définitive car l'efficacité s'estompe avec le vieillissement du matériau.

La sensibilité d'un polymère vis-à-vis du risque de biodétérioration peut être estimée par des essais *in vitro*. Ces essais sont normalisés (norme AFNOR, ISO, MIL par exemple) et ont pour objet de déterminer si le polymère est utilisable comme source nutritive et/ou si le polymère sera envahi par des microorganismes disposant d'une source nutritive extérieure. La durée d'essai est le plus souvent de 28 jours à 30°C, 90%HR mais peut être prolongée. Il est important de prévoir un témoin abiotique (mêmes conditions opératoires sauf microorganismes). Les microorganismes régulièrement employés sont des moisissures ou bactéries de collection utilisées en culture mixte. Il faut garder à l'esprit que ces microorganismes sont représentatifs d'un petit nombre de microorganismes et ne permettent pas de recréer totalement la réalité.

Le résultat des essais indique seulement une tendance ou une possibilité du polymère à se biodétériorer. Un polymère peut ne pas permettre la croissance des microorganismes d'essai mais peut par malchance dans la nature rencontrer un germe alpha qui possèdera les enzymes adéquats à sa biodétérioration. A l'inverse un polymère détériorable en laboratoire peut ne jamais se biodétériorer dans la nature s'il est toujours utilisé dans des conditions environnementales non compatibles avec les développements microbiens. Les essais *in vitro* par contre, permettent d'évaluer l'incidence du développement des microorganismes sur les propriétés et caractéristiques du polymères.

La norme NF X 41-514 (6) offre les essais normalisés les mieux adaptés pour évaluer la tenue d'un polymère à l'action des microorganismes.

## VI. Conclusions

Il apparaît au vu de la diversité des polymères et des adjuvants, difficile de généraliser en matière de résistance des matériaux polymères vis-à-vis de la biodétérioration. Bien que souvent considérés comme résistants vis-à-vis des microorganismes, de nombreux polymères s'avèrent sensibles lorsqu'ils se trouvent dans des conditions environnementales très favorables aux microorganismes. Cette sensibilité est plus marquée lorsque le matériau par ailleurs résiste mal au vieillissement. Les essais de biodétérioration *in vitro* permettent d'évaluer le comportement futur du polymère en présence de microorganismes, l'évaluation peut être optimisée lorsque les essais d'exposition aux microorganismes sont précédés d'essais de vieillissement.

## Références

- (1)N.Regnier; J.Dufay; D-Hilaire; Dégradation thermique et biodétérioration des polyesters insaturés et des vinylesters; Rapport ETCA n°R(027-1993.
- (2)D.Hilaire; Tenue des polyuréthanes à l'action des microorganismes; Rapport ETCA n°R036-1992.
- (3)M.J Kay et al., Chemical and physical changes occurring in polyester polyurethane during biodégradation; IBB, 31 (1993)209-225.
- (4)Y.Moriyama et al., Examination of fungal deterioration on plasticized polyvinyl chloride by cryo-scanning electron microscopy; IBB,31(1993)231-239.
- (5)R.Dale, D.J. Squirrell, A rapid method for assessing the resistance of polyurethanes to biodeterioration; IBB, 26(1990)355-367.
- (6)Norme AFNOR NF X 41-514, Protection des matières plastiques 2ème partie, « Détermination du comportement sous l'action des champignons et des bactéries », 1981.



## Chapitre 8

### Corrosion bactérienne des bétons

Guy TACHÉ

**Résumé.** La dégradation bactérienne des bétons se retrouve fréquemment dans les réseaux d'assainissement, où cela est préoccupant. Elle a pour origine l'hydrogène sulfuré humide, qui est réoxydé par des bactéries du type Thiobacilles, en acide sulfuriques. Ce dernier, dont la concentration dans le biofilm peut être importante, provoque la transformation en gypse de la chaux issue de l'hydratation du ciment, mais aussi des hydrates eux-mêmes. Cela se traduit par des pertes d'épaisseur (de l'ordre de 2 à 3 mm par an) pouvant mettre en danger l'intégrité de la structure.

Des méthodes de prévention (action sur le milieu, sur la conception et l'exploitation du réseau) et de protection (ciments alumineux, résines époxydiques) existent.

#### I. Introduction

Le béton est unanimement reconnu comme un matériau facile à façonner, économique et durable et son utilisation dans le monde ne fait que croître tant dans les domaines du bâtiment que dans ceux des ouvrages d'art, du génie civil et des équipements industriels. Durable ne veut pas dire pour autant invulnérable dans n'importe quelle condition comme cela a été trop souvent pensé à tort par association d'idée entre la pierre naturelle et la pierre artificielle que constitue le béton.

Le béton en réalité peut être extrêmement sensible aux effets du vieillissement et des agressions externes et, si certaines précautions ne sont pas prises, des déboires importants peuvent survenir, quelquefois à très court terme. C'est un matériau évolutif, siège permanent de réactions internes d'hydratation et d'échanges avec le milieu externe. De plus, ses caractéristiques dépendent étroitement de facteurs liés à sa formulation, au choix approprié des matériaux qui le constituent, à leur qualité, et aux conditions de sa mise en œuvre.

Sa durabilité dépendra donc dans une très large mesure, de ces différents facteurs et de la bonne adéquation entre ses caractéristiques finales et les sollicitations auxquelles il est soumis, qu'il s'agisse des sollicitations de service (physiques, mécaniques, thermiques, etc.) ou des sollicitations d'environnement.

Les principales causes de désordres des ouvrages en béton peuvent être liées à :

- *La conception.* C'est le cas bien entendu des erreurs de dimensionnement lors du calcul des ouvrages mais aussi de façon plus pernicieuse de la sous-estimation des sollicitations d'environnement tant en milieu naturel qu'en milieu industriel.
- *L'exécution.* Quel que soit le soin apporté à la conception des ouvrages, la durabilité sera étroitement dépendante de la formulation du béton et du bon respect des dispositions constructives notamment en matière de :
  - Respect du choix du ciment et de son dosage
  - Nature minéralogique des granulats

- Mise en place (teneur en eau, vibration, serrage)
  - Cure
  - Respect de l'épaisseur d'enrobage des aciers, et d'une façon générale, tous les éléments pouvant influencer sur la compacité du béton qui gouverne sa capacité d'échange avec le milieu externe.
- *Les effets à long terme de l'environnement.* Ce sont les phénomènes de fatigue, d'altération ou d'évolution à long terme des bétons, dont certains possèdent un caractère inéluctable, comme la carbonatation.

Parfois, certaines conditions particulières du milieu environnant entraînent des désordres. C'est le cas des structures et des équipements des stations de traitement d'eau potable et d'eau résiduaire qui posent quelques problèmes ne se retrouvant pas dans les autres utilisations traditionnelles du béton, dont les phénomènes bactériens sont à l'origine.

Dans ces structures, le béton devra avoir les propriétés globales suivantes :

- être très dense et imperméable pour minimiser les contaminations vers l'environnement,
- avoir le maximum de résistance vis à vis des agents chimiques naturels ou provenant des différents traitements.

Dans ce chapitre consacré à l'étude de l'influence des phénomènes bactériens sur le béton, nous effectuerons tout d'abord quelques rappels sur les grands principes qui régissent la durabilité du béton, puis nous aborderons les mécanismes des phénomènes

## II. Durabilité du béton armé

### II.1 Caractéristiques physico-chimiques du béton

#### II.1.1 Le béton

Le béton est un milieu non homogène, composé de nombreuses *phases solides*, d'une *phase liquide*, d'une *phase gazeuse*. On peut le considérer comme une roche artificielle résultant des propriétés de prise et de durcissement du ciment en présence d'eau.

En regard des phénomènes de durabilité, toutes les phases ont une importance :

- *les phases solides* comprennent les granulats, les minéraux provenant de l'hydratation des grains de ciment qui, en s'enchevêtrant ou en s'empilant forment la structure de la pâte de ciment et contribuent à la résistance mécanique du béton, et des particules de clinker non hydratées. Les principaux minéraux hydratés sont : des silicates de calcium, des aluminates de calcium, de la chaux, et des composés secondaires comme l'ettringite (sulfoaluminat de calcium),
- *la phase liquide*, ou solution interstitielle, joue un rôle direct vis à vis de l'attaque chimique (pratiquement toutes les réactions chimiques se font en solution). Elle contient essentiellement des ions sodium, potassium, et hydroxyles, conduisant à un pH compris entre 12,5 et 13,5.
- *la phase gazeuse* (air contenu dans les pores), dépend de la porosité et de la perméabilité du béton. La porosité totale se distribue dans une très grande gamme de dimensions depuis des pores d'environ  $10^{-3} \mu\text{m}$  jusqu'à des vides millimétriques. Elle est variable dans une gamme de moins de 12% (bétons très compacts), à plus de 23 % (bétons caverneux). Les plus petits pores sont le siège d'une intense activité d'adsorption et de désorption, notamment vis-à-vis de la vapeur d'eau. La porosité est créée par l'air occlus entraîné lors du malaxage du béton, par l'évaporation de l'eau de gâchage excédentaire pour l'hydratation du ciment, et par les vides liés à la formation des hydrates.

### II.1.2 Phénomènes de transport

Les transferts dans le béton durci s'établissent par l'intermédiaire :

- du réseau poreux,
- du réseau de fissures qui résulte du fonctionnement normal du béton armé.

Il n'existe naturellement que deux natures de processus de transport de matière dans la porosité du béton :

- *Écoulement sous gradient hydraulique* : Ce type de transport intervient dans plusieurs situations : dans le cas de l'existence d'un gradient de pression (cas par exemple d'un béton de barrage), s'il est exposé à l'état saturé à une dessiccation, ou au contraire, à l'état sec, s'il subit une ascension capillaire d'eau d'origine externe (cas du béton en zone de marnage par exemple). Il est caractérisé par la perméabilité.
- *Transport par diffusion* : La diffusion désigne le processus de transport d'un constituant sous l'effet d'un gradient de concentration. Les transports par diffusion peuvent intervenir sous deux formes : en phase liquide ou en phase gazeuse. Ce sont les processus de transport les plus couramment rencontrés dans les bétons.

## II.2 Principaux mécanismes d'altération

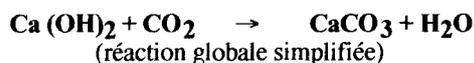
Correctement confectionné et mis en place, un bon béton est résistant à toute une variété d'attaques chimiques courantes, notamment à celles provenant des sols et des eaux. D'un certain point de vue, son altération peut alors être considérée comme une exception. Toutefois, la présence d'un milieu agressif et humide rend les risques plus importants.

Les mécanismes sont parfois complexes. Ils sont contrôlés par les propriétés du béton lui-même (C'est un matériau métastable, ses caractéristiques sont évolutives dans le temps), et par celles du milieu environnant. L'attaque chimique du béton peut être classée selon plusieurs mécanismes :

- *Attaque par lessivage* : ce type d'attaque est causé par l'action directe de l'eau pure ou légèrement acide sur la pâte de ciment, qui dissout les sels solubles et notamment la chaux. Cela entraîne une déstructuration progressive de la surface du béton.

- *Attaque sous forme de réactions d'échange* : l'attaque chimique apparaît comme le résultat d'un échange entre les composés de la pâte de ciment et de la solution agressive. C'est le cas de la carbonatation, qui est le résultat de la neutralisation de la chaux par le gaz carbonique, avec formation de carbonate de calcium. Elle ne se traduit pas par une altération physicochimique proprement dite, comme par exemple, une diminution des propriétés mécaniques du béton. Toutefois, le pH de la solution interstitielle décroît, et cela peut engendrer des phénomènes de corrosion des armatures. C'est le principal paramètre de vieillissement du béton armé.

Le composé le plus sensible à l'action du gaz carbonique est bien entendu l'hydroxyde de calcium.



La vitesse de carbonatation dépend de très nombreux paramètres, dont les plus importants sont :

- la pression partielle de gaz carbonique contenu dans l'atmosphère,
  - la perméabilité du béton (fonction du rapport eau/ciment, de la teneur en ciment, de la taille des pores et de leur distribution, de l'humidité du béton, des conditions de cure initiales...),
  - la quantité de matière susceptible de réagir (nature du ciment, dosage).
- *Attaque avec expansion* : C'est le résultat de l'attaque de certains composés de la pâte de ciment par des ions spécifiques. L'exemple type est relatif à l'attaque des *sulfates*. C'est d'ailleurs, l'un des phénomènes les plus décrits dans la littérature. Elle concerne principalement les phases aluminates de calcium. Celles-ci réagissent avec les ions sulfate pour former de l'ettringite aux propriétés expansives.
- *Le gel* : La période hivernale accroît le degré d'agressivité du milieu ambiant vis à vis des ouvrages en béton : leur durabilité s'en trouve diminuée si aucune précaution particulière n'est prise. Les cycles de gel-dégel ont une action qui s'étend à la masse de l'ouvrage, provoque une légère expansion de l'ensemble et peut aller, si le béton n'est pas de bonne qualité, jusqu'à fissurer le matériau. *Les risques de dégradation par le gel n'existent que lorsque le béton est au contact de l'eau, dans un état saturé ou voisin de la saturation*. Ils sont liés à la microstructure du béton, et notamment à la distribution et la dimension des pores. Les principaux paramètres sont le nombre de cycles de gel-dégel, la vitesse de refroidissement, la température minimale atteinte, la durée de la phase de gel.
- *L'alcali-réaction* : Certains types de granulats contenant des minéraux sensibles en milieu alcalin, sont susceptibles de relarguer de la silice qui, en réagissant avec les éléments de la solution interstitielle, provoque la formation de gels, aux propriétés expansives, conduisant à des désordres structurels sous la forme de faïençage, fissures, éclats.

La réaction alcali-granulats ne se produit que si les conditions nécessaires à son développement sont réunies à savoir :

- des granulats réactifs
- une teneur en alcalins suffisante dans la phase interstitielle du béton
- un milieu ambiant favorable (humidité - température).

### II.3 Corrosion des armatures

La protection des armatures est liée à deux processus :

- *chimique*, par l'alcalinité produite lors de l'hydratation du ciment. En effet, dans le milieu alcalin constitué par la solution interstitielle, l'acier a un comportement électrochimique appelé "passivité" qui résulte de la présence à sa surface d'un film protecteur constitué d'oxydes ou d'hydroxydes.
- *physique*, par l'enrobage, agissant comme une barrière vis à vis de l'environnement.

Le mécanisme de la corrosion des armatures peut être décrit globalement en deux phases successives.

⇒ **Phase d'incubation** : c'est la période pendant laquelle les éléments agressifs pénètrent jusqu'à l'armature au travers de la couverture de béton et induisent la corrosion.

Les deux principaux agents agressifs susceptibles d'amorcer la corrosion des armatures sont:

- *Le gaz carbonique* (carbonatation) : la corrosion s'amorce lorsque les armatures se trouvent placées dans la zone carbonatée (pH<9).

- *Les chlorures* : l'action spécifique des **ions chlorures** sur la corrosion de l'acier (corrosion par piqûres) a depuis très longtemps attiré l'attention des spécialistes. Le problème est en fait assez complexe, mais on peut le concevoir globalement comme une rupture du film passif. Il est nécessaire d'atteindre une certaine concentration en chlorures dans la solution interstitielle, au droit de l'armature, pour amorcer la corrosion.

⇒ **Phase de croissance** : c'est la période pendant laquelle la corrosion se poursuit avec une certaine vitesse, conduisant à la formation de rouille et aux stades ultimes de dégradation (formation de fissures, d'épaufrures, etc.)

## III. Attaque bactérienne des bétons

### III.1 Comportement des réseaux d'assainissement

Bien que des cas aient été décrits dans quelques milieux spécifiques, les principaux problèmes de dégradation bactérienne des bétons se situent dans les ouvrages d'assainissement, du fait de la présence d'H<sub>2</sub>S. Les problèmes ont principalement été analysés aux États Unis, et en Allemagne, mais ils se retrouvent dans de nombreux pays. L'action agressive de l'acide sulfurique sur les bétons est connue de longue date. Toutefois, le mécanisme de transformation de l'hydrogène sulfuré en acide sulfurique n'était pas bien compris. Des recherches ont permis de mettre en évidence le fait que des bactéries en étaient à l'origine.

Dans les ouvrages d'assainissement autonomes, les investigations menées en France ont permis de montrer la nature et la localisation des désordres. Le béton dégradé est humide, d'apparence blanchâtre, recouvert par un film visqueux, avec effritement. Le pH de surface est voisin de 1. Ces phénomènes se produisent dans les compartiments les moins ventilés des fosses.

#### III.1.1 Origine de la présence d'hydrogène sulfuré

Le développement d'importantes stations d'épuration d'eaux usées, les grandes longueurs des canalisations de refoulement font que les temps de séjour des effluents sont plus importants, et entraînent des émanations d'hydrogène sulfuré, à l'origine de nuisances : mauvaises odeurs, toxicité, corrosion des matériaux métalliques et altération du béton.

Les eaux résiduaires contiennent de nombreux composés soufrés, sous forme organique (protéines animales ou végétales), ou inorganique (sulfates) apportés essentiellement par les détergents et les lessives.

Elles véhiculent également des quantités importantes de bactéries. En milieu anaérobie, les bactéries du type sulfatoréductrices sont prédominantes. On peut en dénombrer de 10<sup>3</sup> à 10<sup>10</sup> pour 100 ml d'effluent. Ces bactéries sont résistantes à de nombreux agents tels que les antibiotiques ou les métaux toxiques par exemple. Elles se développent dans des effluents de pH compris entre 5 et 9,5 et à des températures s'échelonnant de - 5 à + 75°C. Ces bactéries croissent dans des milieux chimiques caractérisés par un potentiel d'oxydo-réduction assez bas.

En milieu anaérobie, de nombreux groupes de bactéries sont capables de réduire les sulfates. La plupart sont à **Gram-**, dont les principaux genres sont : *Desulfovibrio*, *Desulfomonas*, *Desulfococcus*, *Desulfobacter*, *Desulfobalbus*. Ce sont des anaérobies strictes, qui dépendent obligatoirement des conditions anaérobies. Il existe d'autres bactéries capables de minéraliser les molécules organiques soufrées en des composés volatils comme l'hydrogène sulfuré ou les méthylmercaptans.

On peut expliquer la formation de sulfures solubles, qui entraîne un dégagement d'hydrogène sulfuré, en décrivant le rôle du biofilm.

Sur la paroi interne des canalisations apparaît très rapidement une masse gélatineuse adhérent à la surface, d'une épaisseur de 1 à 3 mm environ selon la vitesse de l'effluent, dénommée biofilm. La composition de ce biofilm dépend de la quantité d'oxygène dissous dans l'effluent. L'émanation d'hydrogène sulfuré est aussi liée à cette concentration en oxygène dissous. Si l'effluent contient de l'oxygène, celui-ci inhibe l'activité bactérienne et permet la réoxydation des sulfures en sulfates.

Effluent bien aéré ( $O_2 > 1 \text{ mg/l}$ ).

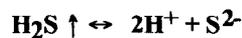
En présence d'une concentration d'oxygène suffisante, le biofilm se compose d'une zone aérobie qui abrite des bactéries se développant en présence d'oxygène.

Sous cette biomasse riche en bactéries aérobies se développent des bactéries anaérobies car cette couche est moins riche en oxygène. Au contact de la paroi le biofilm est constitué de bactéries anaérobies inactives car les éléments nutritifs ne peuvent pas diffuser jusqu'à cette couche pour entretenir l'activité bactérienne. Les composés soufrés (sulfates) présents dans l'effluent diffusent dans le biofilm. Au niveau de la couche du biofilm abritant les bactéries sulfatoréductrices, celles-ci réduisent les composés soufrés en sulfures. Ces sulfures diffusent à nouveau dans le biofilm et sont oxydés grâce à l'oxygène dissous contenu dans l'effluent. Ils sont maintenus alors en solution sous forme de sulfates et il n'y a pas de production d'hydrogène sulfuré.

Effluent pauvre en oxygène dissous ( $O_2 < 0,1 \text{ mg/l}$ .)

Lorsque la teneur en oxygène dissous est insuffisante, les bactéries aérobies disparaissent. Les sulfures provenant de la réduction des composés soufrés par les bactéries sulfatoréductrices ne sont pas tous oxydés. L'augmentation de la concentration en sulfures solubles conduit alors à la formation d'hydrogène sulfuré gazeux.

En solution aqueuse l'hydrogène sulfuré se dissocie selon les réactions :



Ces relations montrent que l'augmentation de  $H^+$  (soit une diminution du pH) se traduit par un dégagement de  $H_2S$  (déplacement vers la gauche des réactions).

Les facteurs influençant la formation d' $H_2S$  sont donc :

- la concentration en matières organiques,
- la concentration en sulfate,
- la concentration en oxygène dissous,
- le potentiel redox,
- le pH,
- la température,
- la vitesse de l'effluent,
- le temps de séjour dans le réseau,
- l'existence de dépôts et de biofilm.

Les turbulences, par ailleurs, favorisent le passage de l'hydrogène sulfuré dans l'atmosphère.

### III.1.2 Oxydation des sulfures.

Les composés réduits du soufre peuvent être oxydés par des bactéries très diverses. On peut en distinguer schématiquement trois catégories :

- Les chimiolithotrophes (*Thiobacillus*) non pigmentées. Ce sont des bactéries qui croissent en autotrophie (elles utilisent le CO<sub>2</sub> atmosphérique pour leur synthèse organique).
- Les bactéries photosynthétiques, pigmentées (bactéries pourpres sulfureuses). Ce sont des bactéries anaérobies strictes qui réalisent l'oxydation en anaérobiose et à la lumière.
- Des micro-organismes hétérotrophes capables d'oxyder les composés du soufre, sans en tirer d'énergie.

Ce sont principalement les bactéries chimiolithotrophes qui sont responsables de l'oxydation des sulfures dans les réseaux d'assainissement. Le genre *Thiobacillus* est le plus couramment rencontré. Au début du processus, la surface du béton est alcaline, et seules des bactéries comme *T.intermedius* ou *T.novellus*, peuvent croître. Au fur et à mesure de la neutralisation de la surface (par carbonatation), les bactéries *T.neapolitanus* apparaissent (jusqu'à pH 6). Si le pH descend au dessous de 5, *T.thiooxydans* commencent à croître. Ce sont des organismes particulièrement acidophiles, qui peuvent tolérer une solution d'acide sulfurique 1N, et qui produisent eux-mêmes cet acide en quantité abondante. L'énergie est habituellement obtenue par respiration, l'oxygène étant le principal oxydant. Dans quelques cas particuliers, les autres oxydants peuvent être les nitrates, les nitrites, ou les oxydes d'azote.

La source de carbone pour la synthèse de leurs constituants cellulaires est le CO<sub>2</sub>. Il est réduit selon des cycles métaboliques complexes (cycle de Calvin, etc).

Les principaux genres de bactéries du soufre lithotrophes sont rassemblées dans le tableau suivant :

Groupe 1 B. chimiolithotrophes	Groupe 2 B. mobiles par glissement	Groupe 3 Archaeobactéries	Groupe 4 B. appendiculées
<i>Thiobacillus</i> <i>Thiomicrospira</i> <i>Thiosphaera</i> <i>Thiospira</i> <i>Thiovulum</i> <i>Thiobacterium</i> <i>Macromonas</i> <i>Acidophilium</i> <i>Thermothrix</i>	<i>Beggiatoa</i> <i>Thiothrix</i> <i>Thioploca</i> <i>Thiospirillopsis</i> <i>Achromatium</i>	<i>Sulfolobus</i> <i>Acidianus</i>	<i>Thiodendron</i>

### III.1.3 Action des bactéries sur le béton

Ces bactéries emmagasinent dans un premier temps le soufre apporté par l'hydrogène sulfuré. Le soufre stocké est ensuite oxydé sous forme d'acide sulfurique. Cet acide fort produit par ces bactéries peut endommager le béton sur lequel elles se développent. Les analyses chimiques révèlent que ces réactions aboutissent essentiellement à la formation de gypse (sulfate de calcium).

Un tel comportement du béton a lieu uniquement sur les parties émergées des canalisations. Il est plus marqué à la voûte de la canalisation et au fil d'écoulement. Cette différence peut s'expliquer par la présence de courants de convection créés par l'écart de température entre l'effluent et les parois de la canalisation qui sont à l'origine de condensats.

Il est ainsi important de noter que l'agent corrosif doit être présent sous forme liquide à la surface du béton. C'est dire l'importance des conditions thermo-hygrométriques. La vitesse d'endommagement dépend donc des paramètres suivants :

- *La composition du milieu*, et notamment la teneur en H<sub>2</sub>S, qui influence la croissance des bactéries. En dessous d'une teneur en sulfures inférieure à 1 mg/l dans l'effluent, l'attaque du béton est faible. Elle ne devient importante qu'à partir de 5 mg/l.
- *L'humidité*, nécessaire à la fois pour la formation du biofilm, et pour le développement de l'attaque acide.
- *La température*, qui joue surtout un rôle sur la réactivité de la biomasse, produisant les sulfures.
- *La vitesse d'écoulement*, et notamment la formation de turbulences,

A un stade bien établi du processus, en présence d'H<sub>2</sub>S, c'est l'espèce de bactéries dénommées *Thiobacillus thiooxidans* (ou *Concretivorus*) qui prédomine, et le degré de corrosion est dépendant du nombre de bactéries à la surface du béton.

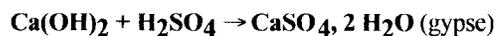
Quand le nutriment est chargé en thiosulfates, la flore est plus particulièrement dominée par *T.neapolitanus*, *T.intermedius*, *T.novellus*. Par contre, les méthylmercaptans et les autres sulfures organiques peuvent être exclus comme nutriments des thiobacilles. Un autre mécanisme de dégradation doit être proposé.

### III.1.4 Résistance du béton à l'acide sulfurique

L'attaque du béton par les sulfates a fait l'objet de nombreuses publications. L'attaque par l'acide sulfurique a été moins décrit. D'une façon générale, le mécanisme simplifié est le suivant :

⇒ La pâte de ciment est attaquée par l'acidité, et la chaux (Ca(OH)<sub>2</sub>) est dissoute

⇒ Les sulfates réagissent avec les ions calcium pour former du gypse (sulfate de calcium hydraté). En même temps se forment des gels de silice, provenant des silicates de calcium hydratés.



Le sulfate de calcium peut réagir ensuite avec l'aluminate tricalcique du ciment et former de l'ettringite, entraînant le gonflement puis l'éclatement du béton.

⇒ Le sulfate de calcium se dissout, par l'acidité, et l'attaque se poursuit.

Il est souvent décrit que la durabilité est améliorée avec un rapport Eau/Ciment faible, et une teneur en ciment élevée.

Le pH semble avoir des effets contradictoires. En effet, à pH 4 et 5, l'attaque est très faible. Elle semble passer maximale à pH 3, où elle est plus importante qu'à pH 2, sauf pour le béton à forte teneur en ciment. Des études récentes ont montré que la perte de poids s'accroît, lorsque la teneur en ciment est élevée. L'attaque présente alors la forme d'une érosion de la surface, alors que lors de faibles dosages, des fissures et une expansion peuvent apparaître. Ainsi, pour de fortes concentrations en acide sulfurique, il n'est pas recommandé d'utiliser de fortes teneurs en ciment.

Les ciments libérant moins de chaux lors de leur hydratation seront les plus résistants, comme les ciments alumineux. Les adjuvants réducteurs d'eau, quant à eux, ne semblent apporter que peu de modifications.

La première phase de l'attaque obéit à une cinétique suivant une loi linéaire, de *pente 1* : la profondeur d'altération est proportionnelle au temps. Par la suite, la cinétique obéit aux lois de la diffusion, avec une *pente 1/2*, à condition que la couche ne soit pas éliminée par un processus mécanique.

L'intensité de l'attaque dans les circuits d'assainissement ne peut bien-sûr être estimée avec une grande précision. Lorsque l'attaque est sévère, elle peut atteindre 2 à 2,8 mm de béton, par an. Les cycles d'immersion-séchage accroissent le degré d'altération.

### III.2 Autres cas

D'autres cas de dégradation bactérienne des bétons ou des pierres ont été décrits :

- A Brasilia, de nombreuses structures en béton se dégradent, principalement par éclatement en plaques, pouvant faire penser à des phénomènes d'alcali-réaction. En fait, la présence de nombreux micro-organismes en surface des bétons permet d'envisager une hypothèse d'activité biologique, associant des bactéries, des algues et des champignons.

- L'altération des pierres calcaires a été également étudiée. La surface externe des pierres est recouverte d'une couche appelée calcin, qui contient de 10 à 20 % de gypse. Une abondance de *Thiobacilles* a pu être montrée dans cette zone. Leur activité peut être importante (1000 germes par gramme de roche). Quant à l'origine du soufre, elle peut être diverse, mais provient essentiellement de la pollution atmosphérique. Les nitrates peuvent également être à l'origine de dégradations des matériaux pierreux, principalement dans la base des murs soumis à des remontées d'eau, avec l'intervention de bactéries du type *Nitrosomonas* ou *Nitrobacter*. Les *Nitrosomonas* transforment l'ion ammonium en nitrite, les bactéries nitrifiantes, dont *Nitrobacter*, les nitrites en nitrates. Leur développement en milieu minéral est lent et dépend étroitement du pH (neutre ou légèrement alcalin).

- Ces mêmes bactéries ont été décelés comme étant à l'origine de la dégradation de bétons de plaques de fibres d'amiante dans une tour de refroidissement dans laquelle circule une eau fortement chargée en ions ammonium. La surface poreuse du béton semble avoir été dans ce cas un paramètre déterminant pour le développement des bactéries entre les fibres d'amiante.

## IV. Conclusion

Correctement conçu et mis en oeuvre, le béton est capable de résister à un grand nombre d'agressions chimiques, dont celles induites par des bactéries. Ces dernières sont les sources principales des dégradations constatées dans les réseaux d'assainissement. L'hydrogène sulfuré, produit en milieu anaérobie par des bactéries du genre *Desulfovibrio*, est à l'origine de cette altération, sa formation dépendant principalement des conditions d'aération locales des effluents. Le mécanisme d'attaque du béton fait intervenir la production d'acide sulfurique en milieu aérobie par des bactéries du genre *Thiobacillus*. Cette altération se traduit presque essentiellement par la formation de gypse, sur des épaisseurs parfois importantes, pouvant mettre en danger l'intégrité de la structure.

En fait, les altérations sont plus prononcées lorsque l'environnement est favorable à la croissance des bactéries : accessibilité à la surface du béton (par formation d'un biofilm), humidité, température, concentration en H<sub>2</sub>S, teneur en oxygène, etc.

Les moyens de lutter contre ces altérations sont de deux ordres :

⇒ **Action sur la conception ou sur l'effluent lui-même.**

- Les investigations menées sur les fosses septiques toutes eaux en béton ont conduit à une nouvelle conception de la ventilation permettant de supprimer les zones à risque.

- L'enquête menée par l'AGHTM sur le territoire de la France métropolitaine a permis de mettre en évidence le fait que les ouvrages les plus touchés étaient essentiellement les postes de refoulement et les conduites gravitaires au débouché de certains refoulements. Des

recommandations sur la conception des réseaux (ventilation, pente...) ont pu être données, ainsi que des fiches relatives aux traitements possibles.

⇒ **Action sur la nature des matériaux**

Les matériaux peuvent également être choisis en conséquence, la nature notamment du ciment. Ainsi, les ciments aluminés, ne libérant pas de chaux lors de leur hydratation, sont particulièrement résistants dans ces milieux. Des revêtements peuvent également être employés, à base de liants hydrauliques modifiés, ou de résines synthétiques (époxy).

Par ailleurs, des techniques de réhabilitation ont récemment été développées. Elles consistent principalement dans le tubage (introduction d'un fourreau en PVC, PE, PP, ou PRV), les voussoirs, le chemisage, ou la projection de béton.

## Références

### Généralités

H. LECLERC, J. L. GAILLARD, M. SIMONET ; *Microbiologie générale*, Editions Doin (1995)

J. CHANTEREAU ; *Corrosion bactérienne*, Editions Technique et documentation (1977)

J. BARON, J. P. OLLIVIER ; *La durabilité des bétons*, Presses de l'école Nationale des Ponts et Chaussées

### Ouvrages d'assainissement

C. COCHET, D. DERANGERE ; *La dégradation du béton dans les ouvrages d'assainissement en présence d'hydrogène sulfuré. Le cas des ouvrages d'assainissement autonomes* Cahiers du CSTB N°2382 (1990)

AGHTM ; *Hydrogène sulfuré et réseaux d'assainissement* ; TSM L'eau N°6 Bis (1991)

F. COLIN ; *Formation de l'H<sub>2</sub>S dans les réseaux d'assainissement Conséquences et remèdes* Rapport Institut de Recherches Hydrologiques de Nancy (1987)

G. R.HALL ; *Control of microbiologically induced corrosion of concrete in waste water collection and treatment systems* ; Materials Performance (October 1989)

W. SAND ; *Importance of hydrogen sulfide, thiosulfate, and methylmercaptan for growth of thiobacilli during simulation of concrete corrosion*  
Applied and Environmental Microbiology Vol 53 N°7 p1645-1648 (1987)

M. POLDER, M. VAN MECHELEN ; *Assessment of biogenic sulfuric acid aggressivity of sewer environment.*  
Colloque Européen Corrosion Dégradation bâtiments CSTB-CEFRACOR (1990)

P. S. GORE, R. V. UNNITHAN ; *Thiobacilli from Cochin Backwaters and their Oxydative and Corrosive Activities* ; Indian J. MAR.SCI. Vol 6 pp170-172 (1977)

CERIB ; *Le point sur l'hydrogène sulfuré dans les eaux résiduaires.*  
Rapport technique RT 93/13 (1993)

W. SAND, T. DUMAS, S. MARCDARGENT ; *Tests for biogenic sulfuric acid corrosion in a simulation chamber* ; International Symposium on microbially Influenced Corrosion (MIC) Testing, USA Miami (1992)

W. SAND, T. DUMAS, S. MARCDARGENT  
*Accelerated Biogenic Sulfuric-Acid Corrosion Test for Evaluating the Performance of Calcium-Aluminate Based Concrete in sewage applications*  
Microbiologically Influenced Corrosion Testing ASTM STP 1232 pp 234-249 (1994)

W. SAND, E. BOCK, D. C. WHITE  
*Biotest for rapid evaluation of concrete resistance to sulfur-oxidizing bacteria*  
Materials Performance, N°26 pp 14-17 (1987)

K. MILDE, W. SAND, W. WOLFF, E. BOCK  
*Thiobacilli of the Corroded Concrete Walls of the Hamburg Sewer System*  
Journal of General Microbiology N°129 pp 1327-1333 (1983)

W. SAND, E. BOCK ; *Concrete Corrosion in the Hamburg Sewer System*  
Environmental Technology Letters Vol 5 pp. 517-528 (1984)

#### **Attaque acide des bétons**

N. I. FATTUHI, B. P. HUGHES  
*The performance of cement paste and concrete subjected to sulphuric attack*  
Cement and Concrete Research Vol 18 pp 545-553 (1988)

E. K. ATTIOGBE, S. H. RIZKALLA  
*Response of Concrete to Sulfuric Acid Attack*  
ACI Materials Journal Title 85-M46 pp 481-488 (1988)

P. S. N. RAJU, P. DAYARATNAM  
*Durability of Concrete Exposed to Dilute Sulphuric Acid*  
Building and Environnement Vol 19 N°2 pp 75-79 (1984)

E. REVERTEGAT, C. RICHEL, P. GEGOUT  
*Effect of pH on the durability of cement pastes*  
Cement and Concrete Research ; vol 22 pp 259-272 (1992)

#### **Autres cas**

M. RIBAS SILVA, F. X. DELOYE ; *Dégradation microbienne des bétons*  
Colloque International La détérioration des matériaux de construction La Rochelle (1991)

H. KALTWASSER ; *Destruction of Concrete by Nitrification*  
European Journal of Applied Microbiology 3, 185-192 (1976)

H. SARICIMEN, M. MASLEHUDDIN, M. SHAMIM, I. M. ALLAM  
*Case Study of Concrete in Sewage Environment in an Arabian Gulf Country*  
Durability of Building Materials N°5 pp 145-154 (1987)

#### **Action sur les pierres**

M. ARNOULD ; *Altération des pierres calcaires*  
Colloque Géologie de l'Ingénieur appliquée aux travaux anciens, monuments et sites historiques ; Rotterdam (1988)

X. (Auteur inconnu)

*Les altérations biologiques de la pierre*

La conservation de la pierre monumentale en France, Presses du CNRS (1992)

C. JATON

*Biologie, écologie, traitement des matériaux pierreux*

2<sup>èmes</sup> Rencontres internationales pour la protection du patrimoine culturel, Avignon (1986)

C. JATON, G. ORIAL, A. BRUNET ; *La conservation du portail de l'Eglise St-Trophime à Arles* ; Matériaux et Techniques Spécial Biocorrosion (1990)

### **Méthodes de prévention, curatif**

A. CAPMAS, T. DUMAS, J. P. LETOURNEUX

*Durabilité spécifique des bétons de ciment alumineux*

La Durabilité des Bétons, Presses de l'École Nationale des Ponts et Chaussées

J. L. COCHARD ; *Assainissement : la réhabilitation des réseaux*

CSTB Magazine N°35 (1990)

P. SALVAUDON ; *Protection des bétons contre les attaques bactériennes et chimiques*

Tunnels et Ouvrages souterrains N°101, Septembre-Octobre (1990)

*Troisième partie*

# **Approches expérimentales**

I.B. BEECH, R. TAPPER et CH. GAYLARDEL

M. MAGOT

C. DESLOUIS et C. MICHAUT

J.-P. DEVILLE



## Chapitre 9

### Microbiological methods for the study of biocorrosion

Iwona B. BEECH, Rudi TAPPER and Christine GAYLARDEL

**Abstract.** This chapter presents an overview of microbiological methods used to investigate biocorrosion phenomenon. Both classical and modern (rapid) techniques of microbiology applied to detect and enumerate micro-organisms in samples collected from sites experiencing metal deterioration problems are outlined and their usefulness briefly discussed.

#### I. Detection of biocorrosion

The suspicion that corrosion is biologically influenced (BIC) will begin when the predisposing environmental factors are noticed. If the surroundings of the metal are moist and contain even minute amounts of any suitable nutrient source, then BIC should be considered. In the absence of light, algal growth cannot occur and suspicion will turn to bacteria and fungi. If conditions are anaerobic, then it is likely that bacteria, including the sulphate-reducing bacteria (SRB), are the causative agents.

In most cases, bacterial corrosion is accompanied by the formation of slimes or deposits, beneath which anaerobic conditions will prevail. Hence it is possible that a highly aerobic environment may nevertheless encourage the growth of corrosion-causing anaerobes.

The appearance of the cleaned metal surface can also provide a clue to the nature of the cause of corrosion. Pitting is typical of bacteria attack, although some aerobic bacteria produce ; flask-shaped cavities below a pinhole penetration (Pope and Morris, 1995). A network of etch lines indicates fungal hyphae as the cause (Videla, 1995). Uniform corrosion indicates that the cause may be acid production by planktonic microorganisms, or may not be biological at all.

#### II. Sampling for analysis

In order to confirm BIC it is essential to document the presence of microorganisms. This is not possible without recourse to specialised microbiological techniques and, apart from a few exceptional tests, it is unlikely that these can be carried out on-site. Thus it is necessary to obtain samples of the natural environment surrounding the metal and, if at all possible, of the slime, deposit or other layers covering the corroded metal surface. It is well documented that, in order to carry out biocorrosion risk assessment, surface sampling is essential as the number of cells present in the bulk phase (known as planktonic cells) does not represent the existing level of microbial population associated with a surface (termed sessile or biofilm cells). Good sampling technique and correct handling of samples once obtained are of paramount importance.

## II.1 Liquid Samples

In the case of a metal immersed in or carrying water or other liquids, the sample should be representative of the bulk phase. Hence a relatively large volume (at least 100 ml) should be taken, and where samples are from lengthy or branching pipe systems, liquid should be allowed to flow from the sampling point for a minute or so before collecting the fluid for testing. The material may be placed into any suitable, clean, well-sealed container, preferably microbiologically sterile. This should be filled as nearly as possible to the rim and tightly capped, both to exclude air and to prevent contamination with microorganisms from the environment after sampling. If it is not possible to fill the vessel completely, a layer of sterile oil may be placed above the sample to help exclude oxygen. These conditions must be maintained during transport to the laboratory, during which the specimen should be kept cool. It is advisable to transport the sample to the laboratory as quickly as possible, as during transport a number of changes may occur in the container. If the liquid is non-nutritive, then microorganisms will die quite rapidly, whereas in a rich, nutritious environment cell multiplication will occur. At intermediate levels, such as in a seawater sample, the scarce nutrients in the water become concentrated onto the surfaces of the container promoting the attachment of microorganisms from the fluid phase. At first, this will artificially lower the planktonic count, but later, as the biofilm grows and sloughs off, the concentration in the surrounding medium will increase. These processes will be slowed, but not eradicated, by maintaining the sample at a low temperature during transport.

Sampling from high temperature environments may require a different approach. Many thermophilic microorganisms do not survive at low temperatures and, if stored for any time at +4°C or less, will not be detectable by culture thereafter. In such cases, it is advisable to transport samples to the laboratory in an insulated container to try to maintain the temperature as close as possible to the original.

## II.2 Solid Samples

Representative samples should be taken from a previously undisturbed site on or adjacent to the metal surface. Materials suitable for sampling are soil or other environmental substances, corrosion products, deposits and microbial slimes. These may be scraped from the metal surface using any suitable tool. As with liquid samples, it is important to use clean collection vessels, to fill them as much as possible and to keep them tightly closed and cool during transport. Disturbing the materials during collection is unavoidable, but as little mixing as possible should be attempted as some anaerobes are irreversibly inhibited by exposure to oxygen. The quantity of sample need not be as large as in the case of liquids, since it may be expected that the concentration of microorganisms will be higher. However, a reasonable amount of material (up to several grams) will ensure that anaerobic conditions are maintained within at least some parts of the sample. In some instances, introducing probes such as the Robbins Device (Mittelman and Geesey, 1987) would facilitate *in situ* sampling.

## II.3 Pre-Treatment of Samples

If large concentrations of cells are expected, then dilution in a suitable liquid, such as a buffer solution, will be required. Homogeneous dispersion of the sample in this diluent is an important factor, but this can be difficult to achieve, especially in the case of solid or particulate materials. The optimal process will vary from sample to sample (Table 1) and must be determined empirically.

In the case of liquid samples of low cell content, concentration may be necessary. Centrifugation or, perhaps more appropriately, filtration are available. Another advantage of these manipulations is that they allow the microbial cells to be removed from any masking or inhibitory materials in the surrounding fluid so that a true estimate of their numbers may be made.

**Table 1 : Examples of methods used per simple pre-treatment**

Diluents	Additives	Dispersion Methods
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Distilled water</li> <li>• Saline</li> <li>• Buffer (e.g. Phosphate, MOPS)</li> <li>• Liquid nutrient medium (e.g. nutrient broth, Postgate C)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Redox material (e.g. ascorbate)</li> <li>Isolation of anaerobes such as SRB</li> <li>• Surfactive agent (e.g. Tween 20, 80<sup>1,2</sup>)</li> <li>Dispersion of cells from clumps or aggregates in particulate samples</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Shaking by hand</li> <li>• Electrical mixing (vortex type)</li> <li>• Stomacher or electrical homogeniser for solid samples</li> <li>• Ultra-sonic treatment at low amplitude</li> </ul>

*MOPS* = 3-(*N*-morpholino) propanesulfonic acid; *Tween* = Polyoxymethylnesorbitan

<sup>1</sup>USA Environmental Protection Agency Manual. 1995. *ICR protozoan method for detecting Giardia cysts and Cryptosporidium oocysts in water by fluorescent antibody procedure.* EPA/814-B-95-003. Office of Ground Water & Drinking Water/TDS/WSTD, Cincinnati, OH.

<sup>2</sup>USA Environmental Protection Agency Manual. 1992. *Consensus method for determining ground waters under the direct influence of surface waters using microscopical particulate analyses (UPA).* EPA/910-9-92-029. Environmental Sciences Division, Manchester Environmental Laboratories Ford Orchard, WA.

If filtration is chosen as the method of concentration, it is important that the characteristics of the filter be considered. A pore size of 0.2 µm diameter is recommended for collecting all bacteria. However, this may rapidly become clogged, making the filtration process unacceptably lengthy. A pore size of 0.45 µm is probably sufficient for most samples. Polycarbonate filters are generally accepted as being superior to nitrocellulose, but the latter are of sufficient quality for the majority of uses. The chemical nature of the sample must be taken into account, in addition to the manipulations which are to be performed on the sample after filtration. Some nitrocellulose filters are unsuitable for use in a fluorescent antibody test, as the filter itself becomes fluorescent under ultra-violet light.

### III. Standard Microbiological Tests

In the testing laboratory a number of classical methods are available for the detection and enumeration of microorganisms which may be associated with corrosion.

#### III.1 Direct Microscopical Examination

Observation of the sample under the light microscope is often the simplest and quickest of the tests available. This method is suitable for the detection of algae, fungi and, in clean samples, bacteria. Indeed, together with the macroscopic appearance of a green colouration, it may be all that is necessary to determine the algal content of the sample.

Although direct microscopical examination of samples can indicate the presence of fungi and bacteria, it is not possible to make any identification of the genera of organisms present using this technique alone. Nevertheless, it may give a useful indication of the microbial content in quantitative terms.

Different types of light microscopy are used to facilitate sample examination. In addition to the bright-field microscopy which is the most commonly used technique, methods of phase contrast dark-field, fluorescence and, recently, confocal laser microscopy are widely employed (Walker and Keevü, 1994; Caldwell *et al.*, 1992).

If desired, cationic dyes such as methylene blue, crystal violet, safranin as well as fluorescent dyes such as acridine orange or 4,6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI) can be used to stain cells enabling their easier identification (Chamberlain *et al.*, 1988; Beech and Gaylarde, 1989; Wolfhaardt *et al.*, 1991). Flow cytometry allows differentially stained cells to be automatically counted and separated if required (Edwards *et al.*, 1992). The fluorescence microscopes needed for the direct examination technique are not available in all laboratories, but where the equipment is obtainable this method should be seriously considered. Epifluorescence allows the enumeration of total (viable and non viable) cells present in a sample, even where many would be unable to grow on the standard media used in a microbiology laboratory. Counts obtained using epifluorescence are typically two orders of magnitude higher than those obtained employing cultural methods. An alternative staining technique may be used where a fluorescence microscope is unavailable. After fixing the microbial cells to the filter (for instance, with 1% picric acid), 0.3% acid fuchsin may be used to stain the cells. Rinsing in distilled water should remove excess dye and the filter may then be viewed under the microscope.

Suspended cells and hyphal fragments may be quantified using one of the commercially available microscope counting chambers (Thoma chambers, Neubauer haemocytometers), which carry a calibrated grid and have a fixed volume. This is a rapid and simple technique, but it is prone to error, especially in unpractised hands, and gives no indication of the viability of the cells counted. However, the latter disadvantage may be overcome by the use of viable stains such as tetrazolium salts or fluorescein diacetate, which stain only living cells (Schaule *et al.*, 1993).

#### III.2 Culture Techniques

Microorganisms are routinely identified by their ability to grow in various liquids or on solid media. An exhaustive account of the available media is not possible here, but some of the more important ones are given in Table 2. In some instances, however, the microorganisms of interest may be non-cultivable. In this case fairly specific methods, based on the specificity of antibodies and nucleic acid sequences, are used to detect their presence. Such methods will be discussed later in this chapter. It is important to quantify the numbers of organisms present, even though the minimum concentration of cells necessary to cause a problem or potential problem has not been determined.

The standard methods of enumeration of viable microbial cells involve placing known volumes of diluted samples on solid growth media. If sufficiently few cells have been inoculated on to the medium, each cell will give rise to a separate colony of cells, macroscopically visible, and these colonies may be counted to indicate the cell numbers in the initial sample. For instance, if 0.1 cm<sup>3</sup> of a sample dilution of 1 in 10<sup>5</sup> gave rise to 82 bacterial colonies, then the concentration of bacterial cells in the sample can be seen to be 82 x 10<sup>5</sup> x 1 / 0.1 cells cm<sup>3</sup> which is 8.2 x 10<sup>7</sup> cells cm<sup>-3</sup>.

**TABLE 2 : Examples of media used routinely for fungal and bacterial isolation**

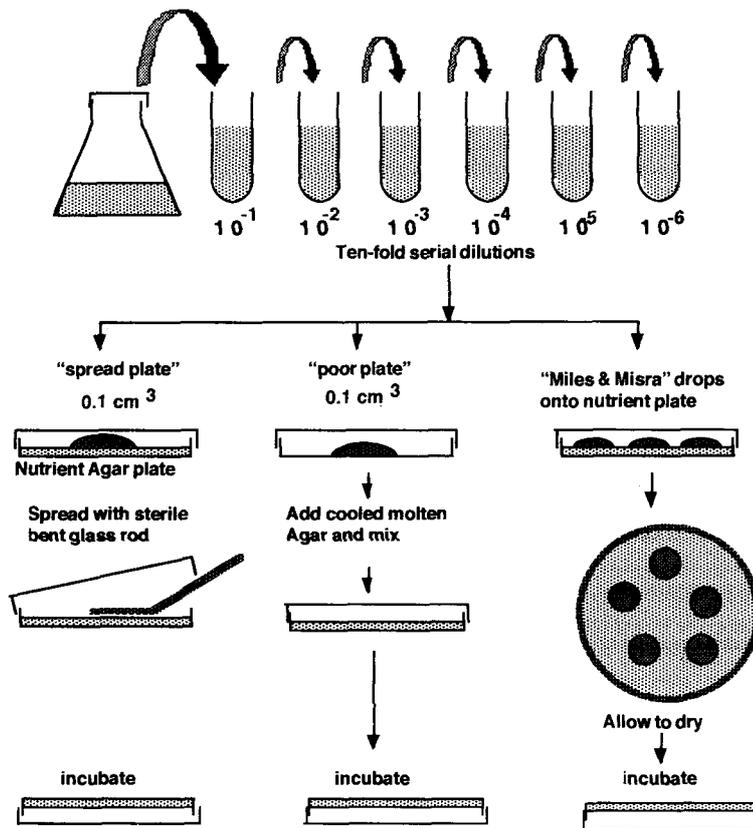
Organisms	Medium
Yeasts	Malt extract agar*
Filamentous fungi	Malt extract agar or potato dextrose agar* (antibiotics or rose bengal may be added to the above fungal media in order to inhibit bacterial growth)
Aerobic and anaerobic bacteria	Nutrient agar*
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> selective medium*
SRB:	
• Lactate utilising SRB	Postgate's medium B (liquid) <sup>1</sup> Postgate's medium E (solid) <sup>1</sup>
• Non-lactate utilising SRB	API RP-38 broth (liquid) <sup>2</sup> Widdell's medium <sup>1</sup>

\* These media are available in dehydrated form from manufactureres such as Oxoid or Difco.

<sup>1</sup>Postgate, 1984.

<sup>2</sup>API recommended practice for biological analysis of subsurface injection waters. American Petroleum Institute, Washington DC, March 1982.

Many different techniques are available for viable counting (Figure 1). The two standard methods are the "spread plate" and the "pour plate" techniques. In the spread plate method, 0.1 cm<sup>3</sup> of diluted samples are pipetted on to the surface of suitable solid media in Petri dishes and spread over the surface with a sterile spreader (usually a bent glass rod).



*Figure 1 : Standard method of serial dilution and culture technique for bacterial enumeration*

In the pour plate technique, the diluted sample is pipetted into an empty, sterile Petri dish and molten agar medium (cooled to a temperature which will not damage the microbial cells but at which the medium is still molten - say 50°C) poured into the plate. The sample is mixed into the medium by swirling before the agar is allowed to set. The second method is generally accepted to be the more accurate, but it can be difficult to count the very small (oxygen restricted) colonies of aerobic organisms growing within the agar.

Both these techniques are expensive in terms of Petri dishes, medium and incubator space. The Miles and Misra method, often referred to as the drop-plate method, overcomes these problems (Miles and Misra, 1938; Barbosa *et al.*, 1995). Here, the dilutions of sample are placed on the surface of an agar medium as single drops of known volume (20 µl is common) and the colonies developing within the spots counted. Using this variation, many (up to 8) sample dilutions can be placed on one Petri dish and replicates can be set up without extra expense.

Obligate anaerobes may be enumerated using these techniques if the plates are incubated in an anaerobic jar or cabinet in an oxygen-free atmosphere. An alternative method is the roll-tube, a modification of the pour plate technique in which test tubes are used in place of Petri dishes. The test tubes may be tightly sealed and oxygen excluded by a variety of means (degassing with an inert gas, or the use of plugs soaked in alkaline pyrogallol).

Agar is a seaweed extract and the form used for microbiological purposes usually contains a variety of organic contaminants. These may inhibit microbial growth and, in the case of some organisms, such as the SRB, the use of purified and washed agar will considerably improve the efficiency of plating. Alternatively, a different solidifying agent may be used. Gelatin is often not suitable, because of its low melting temperature, and the fact that many microorganisms produce gelatinases. Silica gel is a possible alternative, but plate pouring with this agent is a skill which requires some practice.

The viable counting techniques are difficult to apply to mycelial fungi, since a single colony may result from a spore, a group of spores, or a hyphal fragment of any length. Yeasts, however, may be enumerated by plating. Suitable media are those with a relatively low pH such as malt agar, and with a bacterial inhibitor, such as rose bengal or the antibiotics streptomycin and penicillin. Since bacteria are often more prevalent in a sample, and since their rate of growth is usually more rapid, some precautions against the overgrowth of fungi must be taken.

Even with bacterial and yeast suspensions the enumeration methods described above are far from perfect, since not all colonies will, in fact, have resulted from only one cell and since many microorganisms found in the environment will not grow on the commonly used microbiological media. In certain instances, highly selective media may be available for counting a specific microorganism and such counts are usually more reliable estimates than are total counts. However, unless a specific organism is being sought, the standard plate count will give a good indication of the level of microbial loading.

Counts may also be performed in liquid media. The most probable number (MPN) method uses statistical analyses to determine cell population from the pattern of growth in a series of dilutions of the sample in a growth medium (Jones, 1979). Three to ten replicates of each dilution are prepared and statistical tables used to determine the most probable number of viable organisms from the number of tubes of each dilution which show growth after incubation. This method is useful for organisms which do not grow well on solid media. It is the method of choice at the present time for the enumeration of SRB and in situations where the clean conditions needed for plating techniques are not available. However, it is a more laborious procedure and is less precise.

### **III.3 Relevance of total aerobic count methods to BIC**

Although this parameter may be useful as a general test of the possible presence of organisms, it can only be used in conjunction with the previous experience of the operator, which may tell one that a certain aerobic count in a sample from a previously studied environment indicates the likely presence of problem-causing microorganisms. A sudden increase in the count would likewise be cause for concern.

## **IV Modern methods - Rapid detection techniques**

Recent years have seen the development of a number of rapid methods for the specific identification and detection of environmentally important microorganisms (Sogaard *et al.*, 1986). Some of these are available in kit form (e.g., Analytical Profile Index - API or Biolog), but they often require a degree of expertise not normally encountered outside the specialist laboratory. It is necessary to determine priorities before electing to use any particular test. High sensitivity invariably goes hand-in-hand with complexity, whilst economy will often mean low sensitivity and sometimes slower results. Some examples of both simple and more complex rapid detection methods for a variety of microorganisms are given in the following paragraphe.

## IV.1 Viable Count

The "dip stick" (dip slide) technique is a simple viable counting method which allows rapid enumeration of aerobic organisms without the necessity for making dilutions of the sample fluid. A piece of flexible plastic, of approximately microscope slide size, coated on one or both sides with one or two different types of microbial growth media, e.g., agar containing triphenyltetrazolium chloride (TTC) and potato-dextrose agar, is dipped briefly into the liquid to be sampled and then placed inside its sterile plastic container for incubation. Sampling from the surface (biofilm sampling) can also be performed. Colonies developing following incubation, can be visualised more readily by the incorporation into the medium of a dye which develops a characteristic colour on microbial growth, and hence overall colouration, as well as number of colonies, will indicate the level of viable cells in the sample. Dip sticks cannot be applied for very dilute cell suspensions, but are a readily portable, easily used method with no special expertise needed for either application or interpretation. Several types of dip slides are commercially produced and available in packs of 10 including instruction and interpretation sheets (e.g., Cult-Dip combi from MERCK).

## IV.2 Measurements of Metabolic Activity

The fluorescein diacetate test enables either liquid or solid samples to be used without the need for dilution and for liquids to be filtered before testing if deemed necessary. The test relies on the ability of many organisms to remove the acetate groups from the substrate molecule, fluorescein diacetate, releasing the yellow fluorescent material, fluorescein (Swisher and Carroll, 1980). This may be seen by the naked eye, or may be measured in a fluorimeter if a more sensitive, but sophisticated, test is required. In its simplest form an indication of the number of microorganisms present in the sample may be given by the time required for the development of the yellow fluorescence.

Adenosine triphosphate (ATP) measurements give an indication of the total microbial biomass present in a sample. All organisms contain ATP and this may be extracted by a variety of methods and assayed using high performance liquid chromatography (HPLC) or the luciferin-luciferase reaction. (Geesey and Costerton, 1979; Davis and White, 1980; Tatnall *et al.*, 1988). In the latter, ATP provides the energy for the oxidation of luciferin by the enzyme luciferase. Light is released during this reaction and the amount will depend upon the level of ATP present. Special instruments devoted to this measurement may be purchased, or a scintillation counter may be used. Alternatively, ATP may be measured, after extraction by organic solvents or hot buffer solutions, by HPLC. The disadvantages of this technique are that sophisticated and expensive apparatus is required and the fact that the ATP content of microbial cells depends on their physiological condition, thus rendering the results difficult to interpret. In addition, as indicated earlier, ATP is present in all living organisms and hence steps must be taken to exclude non-microbial ATP from the system.

Other measurements of metabolic activity which may be used as indicators of cell counts are respiration rates. These may be assessed by the determination of oxygen uptake or carbon dioxide evolution, using Warburg or Gilson respirometers, but this is a specialised technique not recommended for routine use. Radiolabelled substrates may be added to a sample and the amount of radiolabelled product (such as carbon dioxide) measured using a scintillation counter. Inhibitors can be used to prevent substrates utilisation by either bacteria or fungi thus allowing some selectivity in the type of organisms assayed. Such techniques are rapid and can be very sensitive and accurate. However, the necessary facilities for the use of radioactive materials are not available to everyone. The radiorespirometric technique enables the sulphate-reducing activity of a sample to be assessed rapidly by accurately measuring the radioactive sulphide produced from  $^{35}\text{S}$ -sulphate (Rosser and Hamilton, 1983). The sample is incubated with radiolabelled sulphate in the presence of a carbon source for one hour. The radiolabelled sulphide formed as a result of the reducing activity of the bacteria is then converted to gaseous hydrogen sulphide by the addition of acid and the gas is trapped on a filter paper wick soaked in zinc acetate. The

wick is transferred to scintillant and the radioactivity monitored in a scintillation counter. This is an extremely rapid method for activity measurements and has been used for monitoring biocide activity against SRB in the field (Maxwell and Hamilton, 1986). However, its application and accuracy are limited by the hazards involved in the use of radioactive materials and by the existence of non-acid volatile sulphides.

Perhaps the most promising method of measuring microbial respiration is the use of an oxygen electrode to determine the rate of disappearance of oxygen. Micrometer sized probes have now been developed and these may be used for making *in situ* measurements within a biofilm (Lewandowski *et al.*, 1989; debeer *et al.*, 1994).

One of the commercially available tests which explore metabolic activity of bacteria such as SRB is the hydrogenase test marketed by CAPROCO. The test provides a measure of the activity of the enzyme hydrogenase and can be carried out in the laboratory or in the field without the need for expansive equipment or sophisticated analytical techniques (Caproco, 1987). The sample is placed in a solution which extracts and protects the enzyme, and placed into a hydrogen atmosphere (in an anaerobic jar) which causes a colour change by reaction with the enzyme. Detection of the SRB population in biofilm recovered from pipelines carrying crude oil has been reported by Bryant *et al.* (1991). However, the test is somewhat tedious and does not discriminate between SRB and other microbial hydrogenases.

#### IV. 3 Immunological Techniques

The reaction between antibodies and their corresponding antigens provides a rapid, highly specific and very sensitive method for quantifying and differentiating bacteria in environmental samples.

An antigen is a molecule which reacts with a specific antibody (protein) molecule. A wide variety of macromolecules can act as antigens, including intact bacterial cells, all proteins, most polysaccharides, nucleoproteins, lipoproteins, and small biochemicals attached to proteins or polypeptides. Bacterial surface antigens include those associated with surface lipopolysaccharides (LPS) of the cell wall.

Radioimmuno assay techniques detect the antigens using radioactivity, the ability to measure very low levels of which makes it a very sensitive method (Atlas, 1989)

Immunofluorescence is a similar technique employing a dye, attached to the antigen, which subsequently attaches itself to antibody molecules to form a conjugated fluorescent dye, each dye reacting specifically with microorganisms having different antigens (Figure 2). The technique provides a powerful tool for the visualization and identification of specific microorganisms within environmental samples. Various other assays based on a common theme exist, all of which require a microscope equipped with a fluorescent light source.

The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was developed as a safe alternative to radiolabelled methods. The assay designed in two forms: direct and indirect, is based on detection of the antigens produced by a specific bacterium (Nybroc *et al.*, 1990; Tayler and May, 1994). In some cases whole cells can be used as antigens. In the direct ELISA test, samples suspected of containing antigens of interest are incubated in a test vessel. The excess antigen is removed by washing the test vessel and a solution of enzyme-conjugated antibody added. The excess of the conjugate is removed by rinsing, and the activity of the bound enzyme determined by adding the enzyme substrats followed by measurement of coloured reaction products in a spectrophotometer. The detected light intensity is proportional to the level of antigen present in the sample and hence the amount of a particular bacterium can be determined.

Total SRB numbers may be estimated within a day using the ELISA method (Gaylarde & Cook 1990). The principle of indirect ELISA and the steps involved in its practical application are

outlined in Figure 3. Both ELISA and immunofluorescence may be applied to biofilm as well as planktonic bacteria. Unfortunately the method is not commercial available.

Techniques of immunology have been explored in developing a rapid test for detection of SRB (Rapid-Check H SRB detection System, CONOCO). This test is based on the immuno detection of the enzyme adenosine-5-phosphosulphate (APS)-reductase which is present in all SRB strains. The enzyme is used as a "marker" to indicate the presence of SRB in environmental samples (Odum and Ebersole, 1994). However, it can be argued that the test offers a relative low sensitivity of detection ( $16 \text{ cells cm}^{-3}$ ), hence is of limited use.

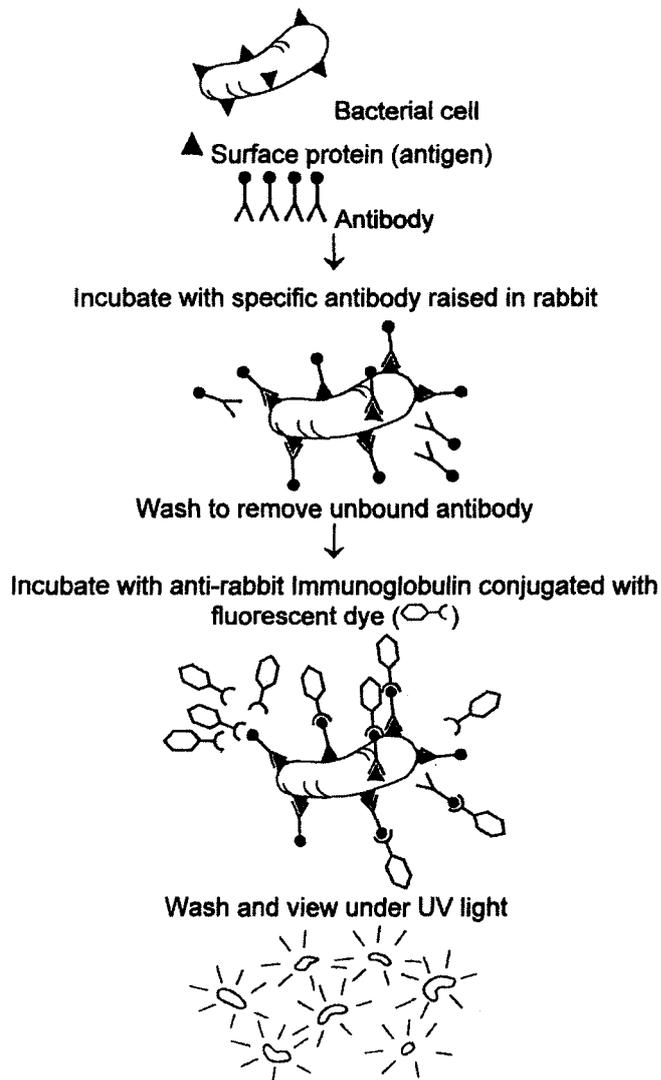


Figure 2 : The indirect fluorescent antibody test for bacterial detection

#### IV.4 Gene Probe Techniques

A very powerful approach to the identification and quantification of microorganisms in environmental samples is the use of nucleic acid probes (Ogram and Saylor, 1988). This is a particularly useful method for the detection of non-cultivable organisms, or those of low cell numbers in mixed populations, where the cells of interest may be masked by other organisms in routine detection techniques (Voordouw *et al.*, 1990). A nucleic acid probe is a short piece of DNA or RNA complementary in base sequence to part of a gene to which the probe can hybridise (Figure 4). Some probes that have been used employ 16S rRNA sequences as a tool for differentiating microorganisms in environmental samples. Because the number of available 16S rRNA sequences has increased greatly since the technique was first introduced, highly specific probes, capable of differentiating very closely related organisms (within a phylogenetic domain) can now be constructed. Using a collection of such probes, it is possible to identify different species in a single sample. Recently, denaturing gradient gel electrophoresis of polymerase chain reaction (PCR)-amplified gene fragments coding for 16S rRNA was applied to identify bacteria in biodegraded wall paintings (Rolleke *et al.*, 1996).

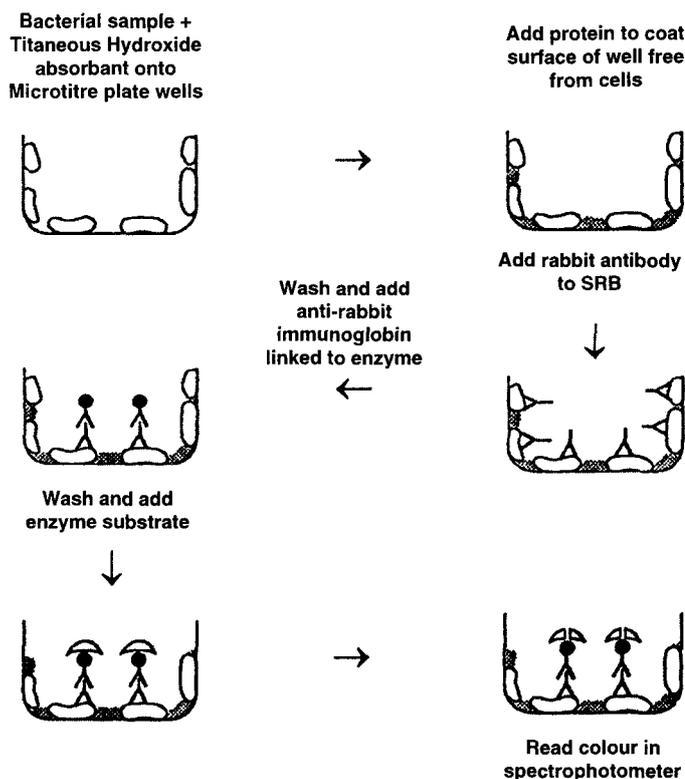


Figure 3 : Principle of the indirect ELISA test used for detection of SRB

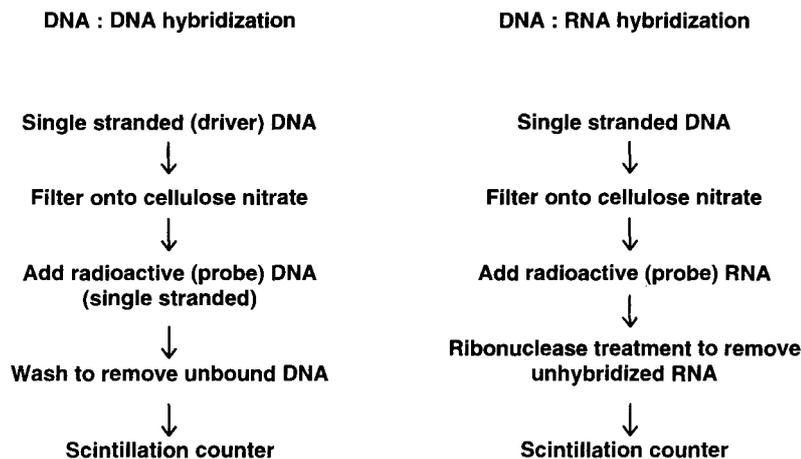


Figure 4 : Diagram showing the nucleic acid hybridization procedure

Three types of labelling systems have been used in nucleic acid probes, these being radioisotopes, fluorescent dyes and enzymes (Figure 5). The radioisotopic method employs  $^{35}\text{S}$ - or  $^{32}\text{P}$ -labelled probes added to formaldehyde-fixed cells immobilised on nitrocellulose membranes or glass-fibre filters. Prior to addition of a probe, the cells are treated to allow the hybridisation of the probe with a corresponding fragment of nucleic acid. Labelling of individual cells is then visualised with autoradiography : the exposure of a photosensitive emulsion by the radioactivity in the nucleic acid fragments to which the probe has bound. An alternative detection system employs fluorescent dyes. The latter are chemically attached to the probe and the cells visualised using fluorescent microscopy (Amman *et al.*, 1992). It is possible to treat a single sample with several different probes at once, applying probes labelled with various dyes that fluoresce at different wavelengths. Identification and quantitation of different cell types in the sample can take place following the use of the appropriate fluorescence filter.

The future of the use of nucleic acid probes in studying BIC is very promising, especially where standard culture methods are not successful or where the organisms of interest are present in numbers below the sensitivity of activity measurements. In addition to the detection and enumeration of the organisms in, *e.g.*, biofilms, recent advances in molecular biology research allow knowledge of metabolic activity within microbial consortia. The use of "reporter" genes such as *lac z* or *lux* should permit not only the identification of the location of « tagged » cells within a microbial community but also a description of the surrounding microenvironment (Keevil 1994; Robinson *et al.*, 1995). However, it should be noted that the molecular probes are yet to be developed for commercial applications.

## V. Summary

In conclusion, microbiological investigation of suspected BIC will involve the identification of microorganisms in samples taken from the problem site. If at all possible, these should include samples of biofilm or slimes covering the metal surface, and be processed on-site or as quickly as possible. The methods employed for identification will depend on many factors, not least of which is the speed of result required. Interpretation of the results will be aided immensely by previous experience and expert advice should always be sought.

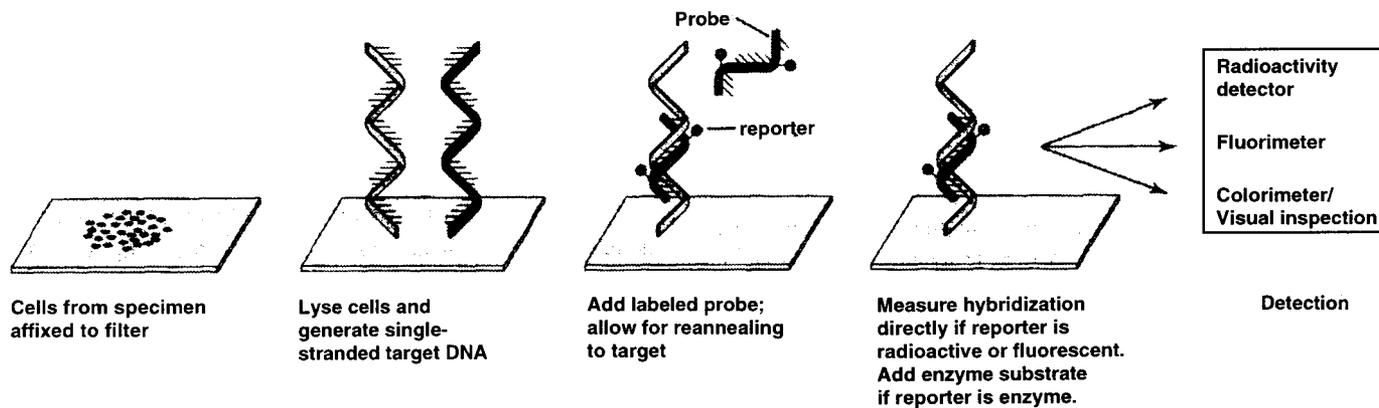


Figure 5. Nucleic acid membrane filter assay. The detecting system (reporter) can be a radioisotope, a fluorescent dye or an enzyme. (Reproduced from Madigan M.T., Martino J.M. and Parker J., *Biology of microorganisms*, 8th edition, Prentice-Hill International Inc., USA, p. 894.)

## References

- Amman R-L., Stromley J., Devereux R., Key R. and Stabt D.A., 1992. « Molecular and microscopy identification of sulphate-reducing bacteria in multispecies biofilms. » *Applied Environmental Microbiology* **58**: 614-623.
- Atlas R.M., 1989. « Microbiology, Fundamentals and Applications. » Macmillan Publishing Company, New York 2<sup>nd</sup> ed. pp: 583-584.
- Barbosa H.R., Rodriguez M.F., Campos C.C., Chaves M.E., Nunes I., Juliano Y., Novo N.F. 1995. « Counting of viable cluster-forming and non cluster-forming bacteria: a comparison between the drop and the spread methods. » *Journal of Microbiological Methods* **22**: 39-50.
- Beech I.B. and Gaylarde C.C., 1989. « Adhesion of *Desulfovibrio desulfuricans* and *Pseudomonas fluorescens* to mild steel surfaces. *Journal of Applied Bacteriology* **67**: 201-207.
- Bryant R.D., Jansen W., Boivin J., Laishley E.J., and Costerton W., 1991. « Effect of hydrogenase and mixed sulphate-reducing bacterial populations on the corrosion of steel. » *Applied and Environmental Microbiology* **57**: 2804 - 2809.
- Caldwell D.E., Corber D.R. and Lawrence J.R., 1992. « Imaging of bacterial cells by fluorescence exclusion using scanning confocal laser microscopy. » *Journal of Microbiological Methods* **15**: 249-261.
- Caproco, 1987. Hydrogenase Test Instruction Manual (Caproco Ltd., Edmonton, Alberta, Canada).
- Chamberlain A.L., Angell P. and Campbell H. S. 1988. « Staining procedures for characterising biofilms in corrosion investigations ». *British Corrosion Journal* **23** : 197-198.
- Davis W.M. and White D.C., 1980. « Fluorometric determination of adenosine nucleotide derivatives as measures of the microfouling, detrital and sedimentary microbial biomass and physiological status. » *Applied and Environmental Microbiology* **40** : 539-548.
- deBeer, D., Stoodley P., Roe F. and Lewandowski Z., 1994. « Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport. » *Biotechnology and bioengineering* **43** : 1131-1138.
- Edwards C., Porter J., Saunders J.R., Diaper J., Morgan J.A.W. and Pickup, R-W., 1992. « Flow cytometry and microbiology. » *SGM Quarterly* (November): 105 - 108.
- Gaylarde C.C. and Cook P., 1990. « New rapid methods for the identification of sulphate-reducing bacteria. » *International Biodeterioration* **26** : 337-345.
- Geesey G.G. and Costerton J.W., 1979. « Bacterial biomass determinations in a silt-laden river : comparison of direct count epifluorescence microscopy and extractable adenosine triphosphate techniques. » In: *Native Aquatic Bacteria : Enumeration and Ecology*. J.W. Costerton and R.R. Colwell (eds.). American Society Testing of Materials, 1916 Race St., Philadelphia, PA 19103; p. 117-127.
- Jones J.G., 1979. « A guide to methods for estimating microbial numbers and biomass in freshwater. » *Freshwater Biology Association* **39**: 61-72.

Keevil C.W. 1994., « Methods for assessing the activity of biofilm microorganism in situ » In: *Bacterial Biofilms and their Control in Medicine and Industry*. J. Wimpenny, W. Nichols, D. Stickler and H. Lappin-Scott (eds.). Published by BioLine for the British Biofilm Club, pp. 45-48.

Lewandowski Z., Lee W.C., Characklis W.G. and Little B. 1989. « Dissolved oxygen and pH microelectrode measurements at water-immersed metal surfaces ». *Corrosion* **45** (2): 92-98.

Maxwell S and Hamilton W.A., 1986. « Modified respirometric assay for determining the sulphate reduction activity of biofilm on metal surfaces » *Journal of Microbiological Methods* **5**: 83-91.

Miles A.A. and Misra S.S., 1938. « The estimation of the bacteriocidal power of the blood » *Journal of Hygiene, Cambridge* **38**: 732-749.

Mittelman M. and Geesey G.G., 1987. In : *Biological Fouling of Industrial Water Systems*. Published by Water Micro Associates, San Diego, California, USA- p: 271.

Nybroe O., Johansen A. and Laake, M. 1990. « Enzyme linked immunosorbent assays for detection of *Pseudomonas fluorescens* in sediment samples ». *Letters in Applied Microbiology* **1** 1: 293-296.

Odum J.M and Ebersole R.C., 1994. « Immunoassay of sulphate-reducing bacteria in environmental samples » *Methods in Enzymology* **243**: 607-624.

Ogram A.V. and Sayler G., 1988. « The use of gene probe in rapid analysis of natural microbial communities » *Journal of Industrial Microbiology* **3**: 218-222.

Pope D.H. and Morris III E.A., 1995. « Some experiences with microbiologically influenced corrosion of pipelines » *Materials Performance* **34**: 23 - 28.

Postgate J.R., 1984. « The sulphate-reducing bacteria » Cambridge University Press, 2nd ed.

Robinson P.J., Walker J.T., Cole J. and Keevil C.W., 1995. « The use of reporter genes to detect *E. coli* in a biofilm » In: *The Life and Death of Biofilm*. J. Wimpenny, P. Handley, P. Gilbert and H. Lappin-Scott (eds.). Published by BioLine for the British Biofilm Club, pp. 97-100

Rolleke S., Muyzer G., Wawer C., Wanner G. and Lubitz W., 1996. « Identification of bacteria in a biodegraded wall painting by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA ». *Applied and Environmental Microbiology* **62**: 2059-2065.

Rosser H.R. and Hamilton W.A., 1983. « Simple assay for accurate determination of [<sup>35</sup>S] sulphate reduction activity » *Applied Environmental Microbiology* **45**: 1956-1959.

Schaule G., Flemming H.C. and Ridgway H.F., 1993. « The use of CTC (5-cyano-2,3-ditolyl tetrazolium chloride) in the quantification of respiratory active bacteria in biofilm » *Applied Environmental Microbiology* **59**: 3850-3857.

Sogaard P., Gahm-Hansen B., Hui-Ping Z. and Frederiksen W., 1986. « An investigation of three commercial methods for rapid identification on non-enteric Gram-negative rods » *Acta Pathologica Microbiologica Immunologica Scandinavensis*. Sect B, **94**: 357-363.

Swisher R. and Carroll C.C., 1980. « Fluoresceine diacetate hydrolyses as an estimator of microbial biomass on coniferous needle surfaces » *Microbial Ecology* **6**: 217-226.

Tatnall R.E., Stanton Y.M., and Ebersole R.C., 1988. « Testing for the presence of sulphatereducing bacteria » *Materials Performance* **27**: 71-78.

Taylor S. and May E., 1994. « Detection of specific bacteria on stone using an enzyme-linked immunosorbent assay » *International Biodeterioration and Biodegradation* **21**: 125-128.

Videla H.A., 1995. « Corrosion microbiologica y biofouling en sistemas industriales. Introduccio ». In: *Manual practico de biocorrosion y biofouling para la industria. M.D. Ferrari, M.F.L. de Mele and H.A. Videla (eds.)*. Published by CYTED, pp. 4 - 26.

Voordouw G., Niviere V., Ferris F.G., Fedorak P.M. and Westlake W.S., 1990. « Distribution of hydrogenase genes in *Desulfovibrio* spp. and their use in identification of species from the oil field environment » *Applied Environmental Microbiology* **56**: 3478-3754.

Walker J.T. and Keevil C.W., 1994. « Study of microbial biofilm using light microscope techniques » *International Biodeterioration and Biodegradation* **34** (3/4): 223-236.

Wolfhaardt G.M., Archibald R.E.M. and Cloete T.E., 1991. « The use of DAPI in the quantification of sessile bacteria on submergea surfaces » *Biofouling* **4**: 265-238.

## Chapitre 10

### Bactériostase et bactéricidie

Michel MAGOT

**Résumé.** Les biocides constituent une gamme variée de produits antibactériens utilisés dans l'industrie pour lutter contre les contaminations microbiennes. Dans ce texte, les principaux termes définissant l'activité de ces produits sont rappelés, et des exemples de techniques permettant de mesurer leurs activités bactériostatiques et bactéricides sont donnés.

#### I. Introduction

Lorsqu'un individu souffre d'une infection bactérienne, son médecin lui prescrit un traitement antibiotique qui a pour but de stopper le développement des micro-organismes à l'origine des symptômes observés. Lorsqu'une installation industrielle est contaminée par des bactéries, le responsable du traitement va utiliser des "*biocides*" qui ont le même objectif. Antibiotique et biocide sont deux termes analogues, et il existe de nombreux points communs dans la définition de l'efficacité de ces produits et dans les techniques d'évaluation de leur activité. Il y a aussi des différences importantes. Les produits utilisés en médecine sont très actifs, et pourraient de ce point de vue répondre aux besoins des traitements industriels. Mais ils sont généralement beaucoup trop onéreux pour qu'on puisse les retenir pour traiter de très grands volumes de fluide. Par ailleurs, l'utilisation généralisée d'antibiotiques poserait un problème éthique, puisque le risque de dissémination de résistances dans les populations de micro-organismes pathogènes, qui posent déjà un grave problème de santé publique, serait augmenté. A l'opposé, les biocides industriels sont des produits bon marché, mais leur toxicité pour l'homme empêche leur utilisation en thérapeutique. De plus, ils sont généralement moins actifs que les antibiotiques.

Une autre différence est que les médecins n'emploient que très rarement des antibiotiques à titre préventif. En milieu industriel par contre, la prévention doit être la règle. Les installations industrielles n'ont pas de système naturel de défense (immunité) : en absence de prévention, la fréquence d'infections bactériennes est très élevée, et les dégâts causés sont irréversibles.

Malgré la très large utilisation de molécules antibactériennes dans l'industrie, une grande confusion règne souvent sur les termes employés et leur signification exacte. Il n'est par exemple pas évident pour tout le monde que "biocide" n'est pas synonyme de "bactéricide". Le but de ce chapitre est de clarifier le vocabulaire en définissant chacune des expressions servant à caractériser un biocide. Il est aussi de donner quelques indications sur les moyens techniques d'évaluation de l'activité de ces produits. L'aspect choix des produits et mise en oeuvre des traitements est abordé ailleurs (voir "Traitement des milieux").

## II. Activité des biocides : définitions

### II.1 Activité bactériostatique

Un biocide est dit **bactériostatique** lorsqu'il inhibe le développement des bactéries avec lesquelles il est en contact, sans nécessairement les tuer. Cette activité est quantifiée par la mesure de la **Concentration Minimale Inhibitrice** (CMI, ou MIC en anglais, à ne pas confondre avec MIC de Microbial Induced Corrosion). La CMI est la plus faible concentration du produit empêchant le développement du micro-organisme testé. Elle ne peut donc être mesurée qu'en conditions de prolifération des cellules. Elle n'est pas une caractéristique universelle du produit considéré puisqu'elle n'est définie que pour un couple souche-produit. Pour bien évaluer l'activité bactériostatique d'un biocide, il faut donc la mesurer sur différentes souches de micro-organismes.

### II.2 Activité bactéricide

Un biocide est dit **bactéricide** lorsqu'il tue les bactéries avec lesquelles il est en contact. Cette activité est quantifiée par la mesure de la **Concentration Minimale Bactéricide** (CMB), qui est arbitrairement définie comme la plus faible concentration de produit réduisant de 5 ordres de grandeur le taux de survie des micro-organismes testés (99,999% de mortalité). L'activité bactéricide est parfois exprimée par une mortalité de 90 ou 99% seulement. Il faut bien garder à l'esprit qu'un produit tuant 99% des germes n'est pas très actif : si un biofilm contient  $10^9$  bactéries par  $\text{cm}^2$ , un traitement bactéricide à 99% laissera  $10^7$  bactéries par  $\text{cm}^2$  qui seront capables de reconstituer rapidement la population initiale.

La CMB est mesurée en conditions de non prolifération des cellules, afin de ne pas avoir d'interférences entre la multiplication éventuelle et la mort des bactéries. Le temps de contact entre les bactéries et le produit peut être choisi arbitrairement en fonction de l'objectif retenu. Chaque CMB est donc caractérisée par trois paramètres : le produit, la souche testée, et le temps de contact. Pour bien évaluer l'activité bactéricide d'un produit, il peut donc être nécessaire de faire des tests sur un grand nombre de combinaisons de ces paramètres.

### II.3 Spectre d'activité d'un biocide

Un biocide n'a généralement pas la même activité sur tous les types de micro-organismes. Le spectre d'activité fait référence à la plus ou moins grande spécificité de son pouvoir bactériostatique ou bactéricide. Un biocide est dit à **large spectre** s'il est actif sur une grande variété de germes: bactéries gram positives ou gram négatives, aérobies ou anaérobies, levures, champignons. Il est dit à **spectre restreint** si son activité ne s'exerce que sur certains types de micro-organismes, voire sur certaines souches seulement. Considérant que les biofilms sont le plus souvent polymicrobiens dans les environnements industriels, les biocides à large spectre ont *a priori* plus d'intérêt que ceux à spectre restreint.

### II.4 Activité en fonction du temps de contact

Lors de traitement "chocs" destinés à détruire une flore bactérienne, le choix de la durée d'application du biocide est aussi important que celui de la dose à employer. Le temps de traitement dépend des propriétés du produit. Un bactéricide sera dit **lent** si son activité bactéricide ne s'exprime qu'après des temps de contact longs (par exemple plusieurs heures), par opposition aux bactéricides **rapides** qui, comme le chlore par exemple, agissent en quelques minutes.

### II.5 Associations de biocides

Dans les formulations commerciales, on associe souvent plusieurs biocides différents pour augmenter les chances de réussite du traitement, ou pour élargir le spectre d'activité. L'association de plusieurs produits peut conférer au mélange des propriétés différentes de celles prédites par la

connaissance de chacun des composants. L'association est *indifférente* si l'activité de l'un des produits n'est pas affectée par la présence de l'autre, l'activité du mélange étant celle du produit le plus actif. Elle est *additive* si l'activité est la somme des activités de chaque composant. La *synergie* correspond à une activité significativement supérieure à la somme des activités des composants pris séparément. Il y a enfin *antagonisme* lorsque l'association a une activité inférieure à la somme des activités de chaque biocide.

### III. Détermination de l'activité des biocides

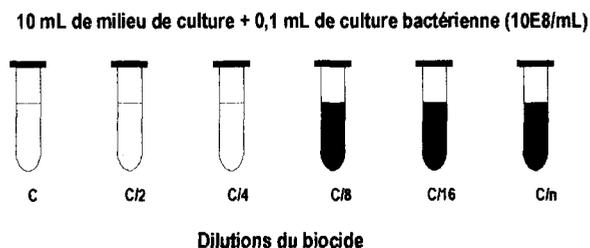
L'activité d'un biocide dépend de ses propriétés intrinsèques, mais aussi des conditions particulières dans lesquelles les tests ou les traitements sont réalisés. Il est maintenant bien connu que les bactéries sessiles, c'est à dire fixées sur un support au sein d'un biofilm, sont beaucoup plus résistantes aux traitements que les formes planctoniques, libres dans la phase aqueuse [1]. L'évaluation d'un produit, ou le criblage de plusieurs produits pour choisir celui ou ceux à utiliser "sur le terrain", devrait idéalement suivre les étapes suivantes :

- Une première série de tests est réalisée sur des bactéries planctoniques, car les techniques sont faciles à mettre en oeuvre. Un produit qui s'avère inactif ou peu actif dans ces conditions n'a aucune chance d'avoir un intérêt sur des bactéries sessiles.
- Une deuxième série de tests mesure l'activité du biocide sur des bactéries sessiles, à l'aide de biofilms préformés dans des systèmes statiques ou dynamiques.
- Les produits ayant passé ces deux premiers cribles peuvent alors être testés dans des systèmes dynamiques simulant l'installation à traiter, comme une "boucle de corrosion" par exemple, ou sur l'installation elle-même.

Il existe une infinité de solutions techniques pour mettre en pratique ces tests. Quelques possibilités sont évoquées ci-dessous.

#### III.1 Détermination de l'activité bactériostatique sur bactéries planctoniques

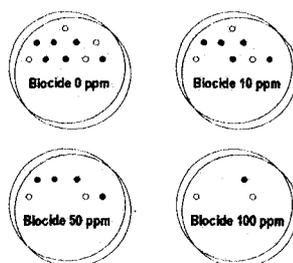
Le test le plus simple pour déterminer la CMI d'un biocide sur des bactéries planctoniques est schématisé figure 1. Le biocide est introduit à la concentration [c] dans un milieu de culture permettant la croissance des bactéries testées. Des dilutions, par exemple de 2 en 2, de cette suspension sont réalisées à l'aide du même milieu dépourvu de biocide. Ces dilutions sont réparties dans des tubes ou des flacons (à raison de 10 ml dans cet exemple), qui sont ensemencés à l'aide d'une préculture des bactéries à tester, de telle manière que la concentration initiale en cellules soit de  $10^5$  à  $10^6$  /ml. Les tubes ainsi inoculés sont ensemencés à la température adéquate. La lecture des tubes permet de visualiser directement la CMI : Dans l'exemple de la figure 1, les bactéries se développent jusqu'à une concentration égale à [c/8]. La CMI est donc de [c/8].



*Figure 1 : Principe de la détermination de la CMI d'un biocide sur bactéries planctoniques  
c est la concentration initiale de biocide*

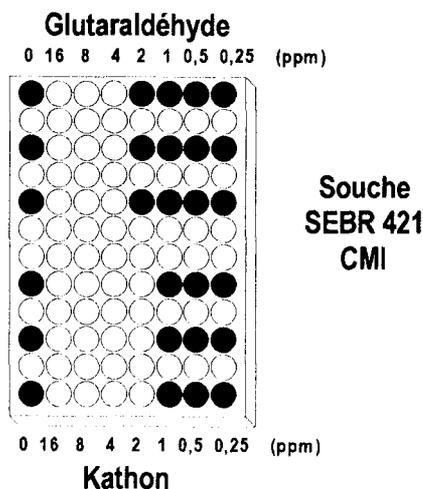
L'inconvénient de cette technique est que si l'on souhaite tester plusieurs produits sur plusieurs souches bactériennes, on se trouve rapidement envahi par un très grand nombre d'échantillons, d'autant plus qu'en toute rigueur il est utile de tripler chaque essai.

Pour tester un nombre important de souches qui peuvent se développer sur un même milieu de culture, les dilutions de biocide peuvent être réalisées en milieu gélosé qui sont ensuite coulés dans des boîtes de Pétri. Les inoculums bactériens sont déposés à la surface de la gélose, éventuellement par des méthodes semi automatisées (réplicateur multipoint). Plusieurs dizaines de souches peuvent être déposées sur une même boîte. La lecture se fait par visualisation des spots bactériens s'étant développés (figure2).



**Figure 2** : Représentation schématique de la détermination de la CMI d'un biocide sur 10 souches, entre 0 et 100 ppm (milieu gélosé en boîte de Pétri).

Plusieurs laboratoires, dont le nôtre [3], ont mis au point des techniques de détermination de CMI en milieu liquide en plaques de microtitration (figure 3). Deux produits, ou 2 souches, peuvent être testés dans une plaque à 96 cupules. Chaque essai y est répété trois fois. Les cupules contiennent 90  $\mu$ l du milieu de culture, dans lequel des dilution de 2 en 2 du biocide peuvent être réalisées très rapidement en employant des pipettes multicanaux adaptées aux microplaques. Une série de cupules sans biocide sert de témoin de croissance.



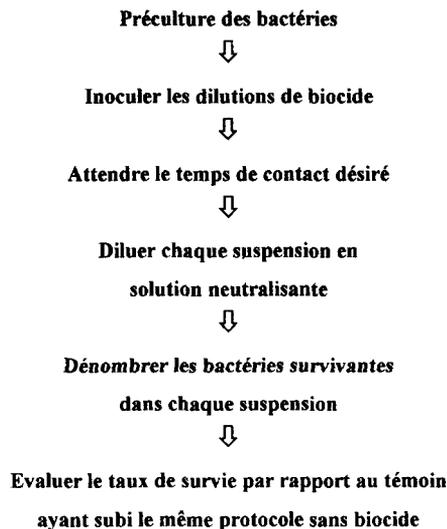
**Figure 3** : Principe de la détermination de la CMI de deux biocides sur des bactéries planctoniques, en plaques de microtitration.

Chaque cupule est inoculée par 10  $\mu$ l d'une suspension contenant  $10^6$  bactéries par millilitre, et incubé à la température adéquate. Dans l'exemple de la figure 3, la croissance des BSR testées se manifeste par la précipitation de sulfure de fer. La CMI se lit directement : elle est de 4 ppm de glutaraldéhyde (identique dans les 3 tests de la partie supérieure), et de 2 ppm de kathon (partie inférieure de la microplaque).

L'utilisation de microplaques ne pose pas de problème avec les bactéries aérobies. Mais avec les bactéries anaérobies strictes, qui doivent être protégées de l'oxygène de l'air, les manipulations doivent être réalisées en enceinte anaérobie.

### III.2 Détermination de l'activité bactéricide sur bactéries planctoniques

Les CMB des biocides sont déterminées en trois étapes : la première consiste à mettre en contact les bactéries avec le produit dans une solution ne permettant pas la prolifération des micro-organismes (solution saline ne contenant pas de source de carbone et d'énergie). Une fois le temps d'action choisi écoulé, cette suspension est diluée dans une solution neutralisante, dont le but est d'inactiver le biocide afin qu'il ne soit pas transféré à une concentration encore bactériostatique dans les tests de survie. Un mélange d'extrait de levure, de tween 80 et de thiosulfate est utilisée à cet effet dans notre laboratoire. On peut aussi employer des inhibiteurs spécifiques des biocides testés lorsqu'il en existe, à condition de vérifier qu'ils ne sont pas eux-même toxiques pour les bactéries. La dernière phase consiste à mesurer le taux de survie des bactéries au traitement par des dénombrements en milieu liquide (méthode du nombre le plus probable) ou solide. Ces différentes étapes sont résumées à la figure 4. La CMB est par définition la plus faible concentration de produit pour lequel le nombre de cellules viables sera au moins de 5 ordres de grandeur inférieur à celui d'un témoin sans biocide ayant suivi le même protocole.



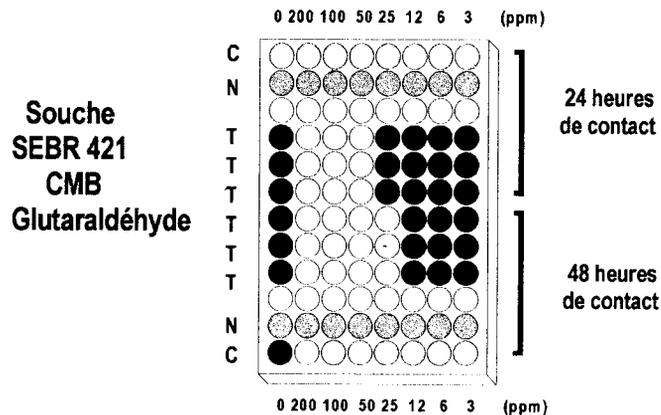
*Figure 4 : Principe de la détermination de la CMB d'un biocide*

Cette méthode de référence est extrêmement lourde à mettre en oeuvre pour des tests de routine. Pour évaluer par exemple un seul produit, à 10 concentrations différentes, sur 10 souches bactériennes, il faut manipuler au moins... 1600 tubes par temps de contact choisi ! C'est la raison

pour laquelle on simplifie généralement plus ou moins ce protocole, en perdant cependant une partie de l'information.

Le dénombrement précis des bactéries survivantes peut être évité si l'inoculum bactérien initial est ajusté de telle manière qu'environ  $10^5$  bactéries soientensemencées dans le test de survie après le traitement de neutralisation : s'il y a croissance, la CMB n'est pas atteinte. Cette réponse de type "tout ou rien" ne fait toutefois pas la différence entre un produit totalement inactif, et un autre qui aurait tué 99,9% des bactéries.

Un gain de temps important peut être obtenu en utilisant des microplaques en aérobiose ou anaérobiose. Dans l'exemple de la figure 5, l'action du glutaraldéhyde sur une souche de bactéries sulfato-réductrice a été évalué après 24 et 48 heures de contact. Dans la première rangée de 8 cupules, des dilutions de 2 en 2 du biocide sont réalisées dans 120  $\mu$ l de solution saline. Chaque cupule estensemencée par 30  $\mu$ l d'une culture bactérienne à  $2.10^8$  bactéries par millilitre. Après contact, 30  $\mu$ l de chaque mélange sont transférés dans la rangée N contenant la solution neutralisante. Vingt minutes plus tard, 10  $\mu$ l des cupules de la rangée N, contenant par le jeu des dilutions  $8.10^4$  bactéries, sont inoculés dans 90  $\mu$ l de milieu de croissance. Ce test est triplé dans 3 rangées centrales de la figure 5. En absence de croissance, la concentration correspondante de biocide est bactéricide. Ainsi, le glutaraldéhyde est ici bactéricide pour la souche SEBR 421 à 50 ppm après 24 heures de contact, et 12 ppm après 48 heures de contact.



**Figure 5 :** Détermination de la CMB de glutaraldéhyde sur la souche SEBR 421 en plaque de microtitration.  
C : cupules de contact avec le biocide ; N : cupules de neutralisation du biocide ; T : cupules des tests de survie

Des simplifications plus importantes encore peuvent être apportées, mais la mesure de l'activité bactéricide des produits est alors plus approximative. La figure 6 schématise le type de tests que nous mettons en oeuvre pour rechercher un biocide utilisable sur une installation donnée, en prévention de la corrosion bactérienne.

On utilise des "test-kits Labège" (TK) de détection des BSR [4], contenant 9 ml de milieu. Une préculture de la flore de l'installation est réalisée, diluée au 1/10e dans un premier TK qui sert à ensemencer une série de 5 autres flacons contenant de 10 à 200 ppm de biocide. Après le temps de contact retenu, chaque test est dilué deux fois dans des milieux qui sont incubés. Le produit est considéré bactéricide aux concentrations pour lesquelles le dernier TK n'a pas "viré". Ce type de test ne peut être utilisé que lorsqu'on a déjà une idée de l'activité des produits (c'est en général le cas pour les biocides commerciaux). Il souffre en effet de nombreux biais possibles: le biocide peut être encore en quantité bactériostatique dans le dernier TK, donnant éventuellement une réponse fautive d'activité bactéricide ; les milieux sont des milieux de culture, pouvant inactiver les biocides, ou permettre aux bactéries de se développer pendant des temps de contact longs...

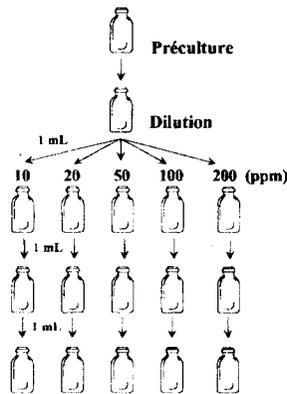


Figure 6 : Principe d'un test de bactéricidie en test-kits.

### III.3 Détermination de l'activité des biocides sur les bactéries sessiles

Le véritable enjeu des traitements d'installations par des biocides est celui de la limitation du développement, ou de la destruction, des bactéries sessiles, c'est à dire adhérent à leur support, qui sont les véritables responsables des biodétériorations. Toutes les données de la littérature dans ce domaine sont convergentes : les micro-organismes vivant au sein de biofilm sont bien plus difficiles à détruire que les bactéries planctoniques [1, 2]. Les informations sur l'activité des produits obtenues par des tests sur des bactéries planctoniques tels que ceux présentés ci-dessus ne permettent donc pas de prédire précisément les conditions de mise en oeuvre d'un traitement pour qu'il soit efficace. Ils ne sont cependant pas inutiles: ils permettent de hiérarchiser les produits en fonction de leur activité avant d'en choisir un nombre limité pour des tests dans des conditions plus proches de l'application finale, qui sont, nous allons le voir, encore plus contraignants à réaliser que ceux décrits pour les bactéries planctoniques.

Le principe de la mesure de l'activité biocide sur des bactéries sessiles consiste à développer un biofilm, au laboratoire ou sur le terrain, puis à lui faire subir le traitement étudié, et enfin à mesurer la réponse des micro-organismes à ce traitement. Les possibilités techniques pour effectuer ces mesures sont pratiquement infinies, et dépendent du problème posé, de l'imagination de l'expérimentateur, et du temps et du budget dont il dispose. Nous ne décrivons ici que quelques exemples. Ils ont été choisis parmi les techniques que nous utilisons dans l'étude de la prévention de la corrosion bactérienne par les BSR. Ils peuvent être transposés à d'autres problématiques avec des modifications mineures.

#### III.3.1 Mesure de la CMB sur des souches pures en biofilms obtenus *in-vitro* :

Des biofilms de cultures pures de BSR, ou de flores mixtes obtenues par prélèvement sur des installations, sont produits sur des coupons d'acier suspendus sur un support de téflon. Le support est placé dans un flacon contenant un milieu de culture pour BSR,ensemencé par la souche étudiée, et placé 3 jours en incubation sous agitation douce. Un précipité de sulfure apparait dans le milieu, traduisant le développement des BSR. A ce stade, les coupons sont recouvert d'un biofilm visqueux constitué de bactéries, de polymère bactérien et des produits de corrosion. Chacun des coupons est ensuite placé dans un tube contenant une dilution du biocide étudié, et laissé en contact le temps choisi. Un coupon témoin est placé dans la même solution saline dépourvue de biocide pour évaluer

la population bactérienne non traitée. Après la période de contact, chaque coupon est placé dans un volume défini de solution dépourvue de biocide, gratté au scalpel pour détacher le biofilm, qui est dispersé par un traitement doux aux ultrasons. Les bactéries viables de chaque suspension sont dénombrées en milieu liquide par la méthode du nombre le plus probable, et le taux de mortalité calculé pour chaque dilution et chaque temps de contact.

Cette technique permet d'obtenir des données importantes sur l'activité bactéricide vis-à-vis des bactéries sessiles. Elle est cependant imparfaite, puisque les biofilms sont "fabriqués" dans des milieux de culture riches non renouvelés (batches). La structure des biofilms est quelque peu différente de celle observée en milieu naturel, qui est au contraire généralement pauvre en nutriments, mais le plus souvent renouvelé en permanence. Modéliser ces conditions requiert un équipement adapté plus sophistiqué.

### III.3.2 Biofilms produits en boucle bactérienne continue

Un équipement tel que celui représenté à la figure 7 permet de produire des biofilms en simulant le fonctionnement d'un circuit. Des traitements peuvent ainsi être testés dans des conditions proches des situations réelles. La boucle est constituée d'une zone d'alimentation permettant d'injecter de l'eau et des nutriments (A), qui sont désaérés par un barbotage à l'azote pour simuler un circuit en anaérobiose. La circulation du fluide dans la boucle est assurée par une pompe. La zone de contrôle (température, pH, rédox...) (B) est équipée d'une purge permettant un fonctionnement en circuit ouvert ou fermé et la réalisation de prélèvements. Les coupons sur lesquels le biofilm se développe (C) sont des sections de tube aisément démontables.

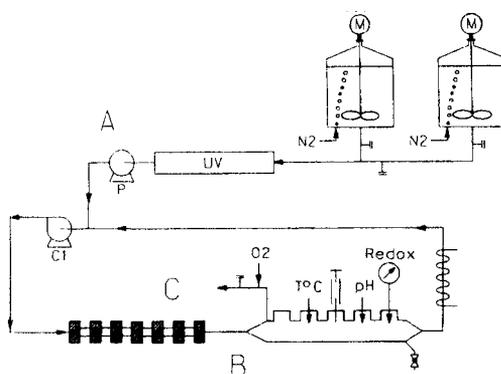


Figure 7 : Boucle bactérienne permettant l'étude des traitements biocides sur des biofilms en laboratoire.

Deux types d'études sont possibles. Les coupons peuvent être retirés de la boucle pour des essais d'activité bactéricide semblables à ceux décrits dans le paragraphe précédent. Les biofilms sont dans ce cas plus représentatifs de la situation réelle. L'aspect le plus intéressant de cet équipement est qu'il permet une simulation de traitement: le biocide est directement introduit dans la boucle, par des injections en batchs ou en continu. Les coupons sont retirés du circuit pour évaluer l'effet du biocide. L'activité peut ainsi être quantifiée par de nombreux paramètres, tels que l'âge du biofilm initial, la dose et la durée du traitement, la cinétique de ré-établissement du biofilm (qui permet d'évaluer l'activité bactériostatique d'un produit injecté en continu), avec ou sans apport de bactéries exogènes. On peut également faire varier les conditions d'alimentation en nutriments, ou l'effet par exemple d'entrées d'oxygène dans le circuit. Cependant, les expériences de cette nature nécessitent beaucoup de temps, compte tenu du délai d'établissement du biofilm (plusieurs jours), et un seul biocide peut être testé à la fois.

### III.3.3 Coupons mis en place sur une installation

La meilleure solution pour tester l'efficacité de traitements biocides consiste sans doute à disposer de coupons amovibles sur l'installation concernée [5]. La cinétique d'établissement du biofilm, et la flore bactérienne étudiée sont alors parfaitement représentatives.

Si les coupons sont installés sur la ligne elle-même, ils permettent un monitoring fin de l'efficacité des traitements.

Dans le cas où une dérivation peut être installée sur la ligne, et équipée d'un circuit d'alimentation en biocides, on peut alors réaliser *in-situ* la sélection des biocides, et l'optimisation des doses et des séquences de traitement.

## IV. Bactériostase, bactéricidie et traitement choc ou continu

Un traitement biocide idéal serait celui qui ne laisserait à aucun moment la moindre bactérie viable dans le milieu. En d'autres termes, un traitement bactéricide en continu. C'est théoriquement possible dans une installation en circuit fermé, en s'assurant que la dose de biocide est en permanence suffisante.

Aucun traitement de ce type, sauf peut être celui par le chlore lorsque cela est possible, n'est par contre économiquement viable dans un circuit ouvert. L'art du traitement consiste alors le plus souvent à limiter la prolifération bactérienne en deçà d'un seuil auquel le risque de biodétérioration est ressenti comme inacceptable.

La situation la meilleure consisterait à partir d'une installation propre, que l'on protégerait de la contamination bactérienne par un traitement continu à une dose bactériostatique. Le biocide doit être à très large spectre (on pourrait même dire à spectre "universel"! ) C'est en pratique impossible, puisque des micro-organismes arrivent toujours à passer au travers des mailles du filet, ou à s'accoutumer à des faibles doses de produit. Il faut donc mettre en oeuvre des traitement bactéricides, et comme nous venons de voir que ce n'est pas possible en continu, avoir recours à des traitements discontinus. Le traitement d'une installation véhiculant de l'eau en circuit ouvert consiste donc à réaliser des chocs périodiques de biocides à des doses bactéricides. Ces doses, et la fréquence des traitements, est à déterminer en fonction des particularités physico-chimiques et microbiologiques de l'installation, par les tests décrits plus haut. Entre les batches, il est souvent utile de ralentir la recontamination du système par des injections continues d'un produit bactériostatique. Les chocs bactéricides pourront ainsi être éventuellement espacés. Le choix entre batches fréquents bactéricides, ou plus espacés, avec ou sans traitement bactériostatique continu dans l'intervalle, seront aussi guidés par des évaluations de l'impact financier du traitement, qui dépend des volumes à traiter et de l'importance stratégique de l'installation.

## Références

- [1] M.W. LE CHEVALIER, C.D. CAWTON, R.G. LEE ; *Appl. Environ. Microbiol.* **54** (1988) 2492-2499
- [2] C. HURLEVENT, M. MAGOT, J.L. CROLET ; « selection of biocides on sessile sulfate reducing bacteria », UK corrosion 92, Manchester, 13-15 oct. 1992, European Federation of Corrosion.
- [3] M. MAGOT ; *Matériaux et Techniques*, spécial Biocorrosion, Décembre 1990, 55-58
- [4] M. MAGOT, L. MONDEIL, J. AUSSEUR, J. SEREAU ; « Detection of sulfate reducing bacteria », proceedings of a joint meeting between the Biodeterioration society and the French Microbial Corrosion Group, C.C. Gaylarde & L.H.J. Morton Eds (Biodeterioration Society, Kew, UK, 1988), 37-52
- [5] W.F. McCOY, J.D. BRYERS, J. ROBBINS, J.W. COSTERTON  
*Can. J. Microbiol.* **27** (1981), 910-917



## Chapitre 11

### Les techniques d'investigations électro-chimiques de la corrosion et de son inhibition

Claude DESLOUIS et Cécile MICHAUT

**Résumé.** La connaissance de la vitesse de la corrosion est fondamentale pour appréhender la détérioration d'un alliage métallique. Il s'agit non seulement d'évaluer une durée de vie, mais aussi de comprendre le mécanisme qui régule cette vitesse et donc de choisir un mode d'action éventuel. Selon les techniques de mesures utilisées, on aboutit à différents paramètres qui caractérisent cette vitesse de corrosion. Ces méthodes sont présentées dans ce chapitre, et l'utilisation de ces paramètres est discutée, ainsi que les questions liées aux matériels de mesure dont on dispose actuellement. Des exemples d'application sont traités. Les méthodes abordées sont : la résistance de polarisation, les spectroscopies d'impédance (en courant et EHD), la technique du disque-anneau, le bruit électrochimique, la microbalance à quartz, et l'électrode vibrante à balayage (SVET).

#### I. Avant propos

Il existe plusieurs approches de la corrosion métallique, auxquelles on peut associer des méthodes d'étude spécifique :

- La première, fondée sur l'observation directe, est l'ensemble des processus qui conduisent à la dégradation du métal, avec perte de matière. Cette définition purement phénoménologique n'aurait que peu d'intérêt si elle n'avait amené à concevoir des techniques de mesure de la vitesse de disparition du matériau (dite vitesse de **corrosion**). Ces techniques « gravimétriques » consistent à mesurer la perte de masse d'un échantillon donné, placé dans un environnement corrosif. Nous ne reviendrons pas sur ces techniques qui sont bien connues et ont fait l'objet de différentes normes [1]. Leur intérêt se limite d'ailleurs à cet aspect purement quantitatif de la mesure de l'évolution de ce phénomène mais ne nous dit rien sur sa vraie nature.
- La seconde approche décrit le mécanisme d'action de la corrosion comme le résultat de l'oxydation du métal par un système susceptible de se réduire au contact de ce métal. Cette réaction a lieu au sein du solvant (le plus souvent l'eau) et le métal passe sous forme de cation ou d'oxyde. Cette définition a l'avantage de nous révéler la vraie nature électrochimique de la corrosion. Elle peut, comme dans le premier cas, nous orienter vers le choix de méthodes électrochimiques pour la mesure de la vitesse de consommation du métal., mais aussi nous permettre d'analyser les mécanismes qui régissent cette corrosion. Cette approche s'est avérée la plus pertinente, et les méthodes électrochimiques d'étude de la corrosion sont maintenant couramment utilisées aussi bien au laboratoire que sur pilote ou sur le terrain. La présentation qui suit a pour objet de décrire succinctement les principes de ces méthodes, d'annoncer les résultats les plus importants en les illustrant de quelques exemples, et surtout de mettre l'accent sur les principales limitations et les pièges à éviter.

Le but du texte qui suit est de sensibiliser un public de biologistes concernés par la biodétérioration des matériaux. Dans la plupart des cas, la corrosion biologique résulte de la modification des conditions physico-chimiques du milieu par des microorganismes, se traduisant par l'apparition ou l'activation de processus de corrosion préexistants. Les mécanismes de la corrosion biologique dans leur principe ne diffèrent pas de ceux de la corrosion « classique ». La contribution du milieu biologique sera de produire de nouveaux réactants chimiques, de consommer ceux qui existent, et de stimuler (ou d'inhiber) des étapes déjà impliquées dans la corrosion physico-chimique.

Différentes situations typiques peuvent se présenter:

- Acidification du milieu par des acides organiques
- Production de H<sub>2</sub>S (bactéries sulfato-réductrices)
- Production de soufre (bactéries oxydantes)

Les milieux biologiques se distinguent par l'existence d'une corrosion localisée, notamment dans les cas de :

- Aération ou acidification différentielle (voile biologique)
- Corrosion galvanique avec les sulfures ou toute hétérogénéité de surface.

L'étude de la corrosion localisée (piqûres, crevasses, cavernes) repose sur des méthodes spécifiques dont nous donnerons un bref aperçu à la fin de ce texte. Nous décrirons les méthodes adaptées à l'étude de la corrosion biologique généralisée, qui sont les mêmes que celles utilisées en corrosion traditionnelle.

Les principes de base de l'électrochimie, suffisants pour l'étude de la corrosion, ont été présentés au premier chapitre. Nous ne rappellerons pas ici les méthodes stationnaires d'étude et de mesure de la vitesse de corrosion : tracé des courbes de polarisation et mesure de la résistance de polarisation  $R_p$ . Le point de départ de cette seconde partie sera cependant l'examen critique de la mesure de  $R_p$  qui servira d'introduction aux techniques d'impédances électrochimique et électrohydrodynamique.

## II. Rappel sur la mesure de résistance de polarisation

La polarisation est limitée au voisinage immédiat (quelques mV) du potentiel de corrosion, de sorte qu'il est possible d'assimiler la courbe à une droite dans ce domaine de potentiel : nous avons vu dans la première partie que la pente de cette droite :

$$R_p = \left( \frac{dU}{dt} \right)_{\eta = \eta_{\text{corr}}} \quad (1)$$

est reliée au courant de corrosion  $i_{\text{corr}}$  :

$$i_{\text{corr}} = \frac{I}{R_p(\alpha_a + \alpha_c)} \quad (2)$$

$\alpha_a$  et  $\alpha_c$  sont les coefficients de Tafel des réactions anodiques et cathodiques. L'équation (2) correspond à la formule de Stern et Geary donnée dans le premier chapitre.

Le domaine de validité de cette formule implique que  $\alpha_c dU$  et  $\alpha_a dU$  sont largement inférieurs à 1 et l'on peut donc développer les exponentielles en série de Taylor limitée au premier terme. Cette relation peut encore s'écrire avec les pentes des droites de Tafel ("b") :

$$i_{\text{corr}} = \frac{b_a b_c}{2,3(b_a + b_c)R_p} \quad (3)$$

Avec les notations définies au chapitre 1, l'équation (3) s'écrit également :

$$i_{\text{corr}} = BR_p^{-1} \quad (4)$$

## II.1 Discussion. Avantages et inconvénients de la méthode

La méthode fournit des valeurs instantanées de la vitesse de corrosion mais :

- Le calcul ne prend en compte que des cinétiques de Tafel ce qui ne correspond pas à l'ensemble des situations rencontrées dans la pratique.
- Les valeurs des coefficients  $\alpha_c$  et  $\alpha_a$  apparents peuvent ne pas rester constantes dans un domaine de potentiel suffisamment large.
- Le potentiel de corrosion doit être éloigné des potentiels normaux des réactions réversibles d'oxydation et réduction.
- L'existence d'un domaine de linéarité des courbes courant-tension au voisinage du potentiel de corrosion peut être discutable et il a été montré que dans certains cas, ce domaine était inférieur à 3 mV [3].
- Le potentiel de corrosion pouvant évoluer avec le temps, il y a danger à trop réduire l'intervalle dU et il est alors impossible de définir un état stationnaire comme l'impose ce type de mesures.
- Il est impératif que la répartition des surfaces anodique et cathodique ne varie pas sur le domaine de potentiel exploré car ce sont les densités de courant, et non les courants, qui sont utilisées pour le calcul de Stern & Geary.
- L'utilisation d'une électrode de référence placée loin de l'interface à étudier introduit une chute ohmique due à la résistance de l'électrolyte et conduit à une résistance de polarisation apparente  $R'_p$  supérieure à la valeur  $R_p$  apparaissant dans la formule (2), telle que

$$R'_p = R_p + R_e$$

Si l'on ne mesure pas  $R_e$ , la relation de Stern et Geary conduit à une valeur par défaut du courant de corrosion.

Malgré ces inconvénients le critère " $R_p$ " est très utilisé tant au laboratoire que sur site, et de nombreux appareils commerciaux font appel à cette méthode (parfois appelée « polarisation linéaire ») tels que "Corravit", "Corrater", "Corroscope", ...

Il faut bien être conscient que ces appareils ne donnent qu'une indication relative de la vitesse de corrosion : le constructeur y entre *à priori* des valeurs tabulées des coefficients de Tafel anodique et cathodique en supposant une cinétique de Tafel, suivant le métal ou l'alliage considéré et suivant la solution. Le lien qui existe entre le courant de corrosion et la résistance de polarisation est en général plus complexe que ne le suggère la relation de Stern et Geary. Si l'on veut avoir une mesure plus fine de la vitesse de corrosion à partir de la résistance de polarisation, on ne peut pas faire l'économie d'une étude cinétique du système. Il faut alors s'orienter vers une application de Stern et Geary "à la carte".

La marge des valeurs de B donnée dans le chapitre I ( $13\text{mV} < -B < 26\text{mV}$ ) n'est en toute rigueur applicable qu'au cas du fer et seule une étude cinétique préalable pourra pour chaque couple métal/solution fournir la valeur estimée de B ou au moins ses limites. Les deux exemples choisis ci-dessous sont destinés à illustrer la "richesse" des mécanismes possibles.

## II.2 Exemples de cinétique de dissolution

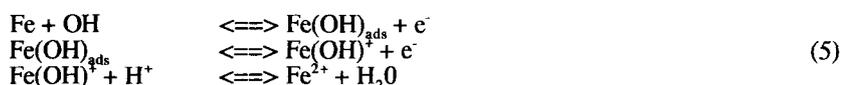
L'étude "cinétique" de la corrosion, qui permet à la fois de mesurer  $i_{\text{corr}}$  (donc la vitesse de corrosion) et de disséquer les mécanismes sous-jacents, passe par la connaissance des cinétiques

du solvant et de celles des couples métal/cations concernés. Ces cinétiques sont, en général, plus complexes que ne le laissent supposer les écritures condensées données dans le chapitre 1 : elles dépendent souvent du pH et de la nature des anions qui pourtant ne participent pas directement au processus faradique.

A titre d'exemple, nous présentons ci-dessous les modèles cinétiques proposés - et encore sujets à controverse ! - pour le fer et le cuivre, que l'on retrouve comme éléments majoritaires dans de nombreux alliages.

### II.2.1 Modèle de dissolution du fer en milieu acide

Le modèle le plus couramment admis actuellement a été proposé par Bockris [4]. Dans sa version la plus simple, il comporte deux étapes électrochimiques élémentaires consécutives et une étape chimique conduisant à la formation du cation  $Fe^{2+}$  :



Le calcul du courant à partir des équations de la cinétique conduit à un coefficient de Tafel apparente de 44 mV/décade de courant.

### II.2.2 Modèle de dissolution du cuivre en milieu chlorure neutre

En milieu chlorure, il y a formation de complexes cuprochlorés qui s'arrêtent à la coordinence 2 à pH voisin de 7. Le modèle qui décrit le mieux les résultats observés comprend deux étapes [5-7] :



Il est important de noter que le caractère réversible de la première étape du mécanisme est déterminant pour expliquer les résultats obtenus en corrosion : si au lieu de cela on emploie la relation de Tafel, c'est-à-dire que l'on considère cette première étape comme irréversible, on trouve un comportement en contradiction avec l'expérience.

Le courant anodique s'exprime alors de la façon suivante:

$$I = \frac{Fk_1k_2[Cl^-]^2 D^{2/3} \nu^{-1/6}}{1,8k_{-1}k_{-2}} \exp\left(\frac{FU}{RT}\right) \quad (7)$$

Le calcul de la résistance de polarisation en tenant compte du transport de matière et du recouvrement partiel de l'interface par l'espèce  $CuCl$  conduit à une expression complexe que l'on n'écrit pas ici [7]. Une étude similaire menée en parallèle permettrait de déduire l'expression de la résistance de polarisation cathodique élémentaire. En combinant ces deux résultats avec l'équation (7), on aboutit à une expression de  $i_{corr}$  qui n'a plus la belle simplicité de l'équation (2) mais qui donne des valeurs très satisfaisantes de la vitesse de corrosion [7].

Bon nombre d'inconvénients inhérents aux méthodes précédentes peuvent disparaître ou tout au moins être minimisées par l'utilisation de techniques de perturbation linéaires, regroupées sous le vocable "d'impédance" et que nous allons justifier et décrire maintenant [8].

### III. Mesures d'impédance électrochimique et EHD

Les méthodes précédentes s'effectuant en régime stationnaire ne prennent en compte que le phénomène limitant, c'est-à-dire le plus lent. La richesse des mécanismes cinétiques que l'on peut entrevoir à travers les deux exemples du fer et du cuivre donnés ci-dessus peut par exemple se manifester par des couplages entre le transfert électronique, la diffusion des espèces en volume, des processus d'adsorption avec relaxation du recouvrement des espèces adsorbées, chacun de ces processus élémentaires possédant sa propre constante de temps. L'information sur le mécanisme n'est donc que très difficilement accessible par les méthodes stationnaires. Ce constat est à l'origine du développement des techniques de perturbation temporelle du système à l'aide de petits signaux, de façon à assurer les conditions de linéarité pour lesquelles l'écriture des équations d'évolution du système est plus simple. Pour des raisons évidentes, l'utilisation de signaux sinusoïdaux s'est très vite imposée avec les méthodes d'impédance, bénéficiant ainsi des développements déjà acquis en génie électrique.

Le potentiel étant la variable privilégiée, l'impédance électrochimique qui consiste à analyser avec la fréquence la réponse du courant à une modulation sinusoïdale du potentiel, a donné lieu à la plupart des applications. De nombreux systèmes dépendant aussi de façon notable du transport de matière, une autre impédance, dite "électrohydrodynamique" ou EHD [9], a été récemment proposée. On peut montrer schématiquement ci-dessous les cas extrêmes d'utilisation de ces deux impédances.

Supposons que le courant ne dépende que du potentiel et de la vitesse de rotation  $\Omega$  d'une électrode à disque tournant :

$$I = I(U, \Omega) \quad (8)$$

Pour toute modulation faible de ces deux quantités, on aura :

$$dI = \left. \frac{\partial I}{\partial U} \right|_{\Omega = \text{cst}} dU + \left. \frac{\partial I}{\partial \Omega} \right|_{U = \text{cst}} d\Omega \quad (9)$$

La première dérivée partielle de l'équation (9) représente l'impédance électrochimique. La seconde représente l'impédance EHD. Il est évident que sur un palier de diffusion où le contrôle de la cinétique par le transport de matière est total, ce terme aura une grande importance.

#### III.1 Impédance électrochimique

Nous allons maintenant introduire une nouvelle grandeur, la résistance de transfert de charge  $R_t$  [10], que l'on va relier de façon plus simple que  $R_p$  à la vitesse de corrosion.

Supposons que le courant soit une fonction simple du potentiel, de la concentration d'une espèce intervenant de façon active dans la dissolution du métal, et du recouvrement  $\theta$  d'un intermédiaire adsorbé (cet intermédiaire pouvant être par exemple un complexe instable du cation provenant de la dissolution du métal. Considérons des variations sinusoïdales de ces variables, de petites amplitudes et dans un large domaine de fréquences :

$$I = (U, c, \theta) \quad (10)$$

$$dI = \frac{\partial I}{\partial U} dU + \frac{\partial I}{\partial c} dc + \frac{\partial I}{\partial \theta} d\theta \quad (11)$$

$$\frac{dU}{dI} = \left( \frac{\partial I}{\partial U} \right)^{-1} + \left( \frac{\partial I}{\partial U} \right)^{-1} \left( \frac{\partial I}{\partial c} \frac{dc}{dI} + \frac{\partial I}{\partial \theta} \frac{d\theta}{dI} \right) \quad (12)$$

Le premier terme du second membre de l'équation (12) est indépendant de la fréquence et a donc la dimension d'une résistance : c'est la résistance de transfert de charge  $R_f$  qui caractérise le processus d'échange électronique. Le second terme correspond au processus de transport de matière par diffusion-convection et donne lieu à une impédance qui dépend de la fréquence. Le troisième est dû à la relaxation des recouvrements de surface d'intermédiaires adsorbés impliqués dans le mécanisme (anodique ou cathodique). On conçoit donc qu'une variation temporelle rapide du potentiel (ou du courant) va "geler" les deux derniers processus, c'est à dire rendre nuls les deux derniers termes. Ainsi, en haute fréquence, l'impédance prendra une forme beaucoup plus simple en s'identifiant à  $R_f$ .

$$\frac{dI}{dU} = Z_f^{-1} = R_f^{-1} \quad (13)$$

Pour un signal de perturbation sinusoïdal du potentiel de fréquence variable dans un large domaine et d'amplitude très faible, les réponses de toutes les grandeurs physiques (flux, concentrations, recouvrements ... ) du système seront elles-mêmes sinusoïdales et de même fréquence mais éventuellement déphasées.

Sur le schéma de la figure 1 est illustré le principe de la mesure d'impédance telle qu'on l'obtiendrait sur un oscillographe dont les voies X et Y seraient alimentées par les signaux tension et courant respectivement. La trace résultante est une ellipse car les deux signaux ont même fréquence et ne contiennent pas d'harmoniques, le principe de **linéarité** étant assuré par le niveau très faible du signal imposé. En utilisant la notation des complexes, nous aurons pour une modulation du potentiel de fréquence  $\omega/2\pi$  :

$$\begin{aligned} U(t) &= \bar{U} + \text{Re}\{kU|\exp(j\omega t)\} \\ i(t) &= \bar{i} + \text{Re}\{di|\exp j(\omega t - \varphi_i)\} \\ \theta(t) &= \bar{\theta} + \text{Re}\{k\theta|\exp j(\omega t - \varphi_i)\} \end{aligned} \quad (14)$$

Re désigne la partie réelle de la quantité entre {}, mais on pourrait montrer qu'il est équivalent d'effectuer les calculs directement avec les quantités complexes.

L'impédance faradique complexe  $Z_f(\omega)$  sera définie comme le rapport des transformées de Fourier de la tension et du courant :

$$\begin{aligned} dU(\omega) &= \frac{1}{2T} \int_{-T}^{+T} |dU|\exp(j\omega t)\exp(-j\omega t)dt = |dU| \\ di(\omega) &= |di|\exp(-j\Phi_i) \\ Z_f(\omega) &= \frac{dU(\omega)}{di(\omega)} = \left| \frac{dU}{di} \right| \exp(j\varphi_i) \end{aligned} \quad (15)$$

L'impédance peut être définie à partir du module et de la phase  $\Phi_i$  qui sont des grandeurs fonctions de la fréquence  $\omega/2\pi$ . On peut aussi utiliser une autre représentation, dite de Nyquist, en partie réelle et imaginaire dans le plan complexe avec :

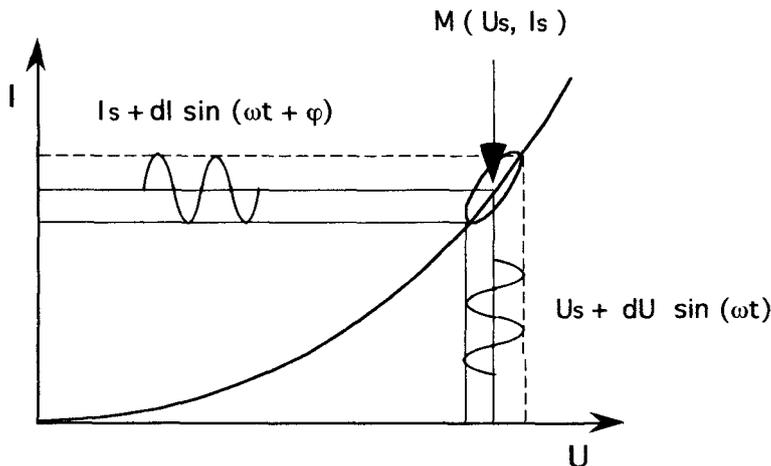
$$R + jI = \rho(\cos \Phi_i + j \sin \Phi_i)$$

L'allure des diagrammes d'impédance dans le plan complexe dépendra du comportement **des termes de surface** et pourra être analysée à l'aide de modèles réactionnels : en général, on observe des comportements de type capacitif (comme pour un condensateur) ou selfique (comme pour une bobine) . Un modèle impliquant deux processus de relaxation, l'un de type capacitif et l'autre selfique, pourrait correspondre dans le plan complexe au diagramme donné sur la figure 2.

En réalité, ce diagramme n'est pas celui observé expérimentalement car d'autres effets doivent être pris en compte :

- Au voisinage du métal, existe une charge d'espace (neutralité électrique non respectée) due à un champ électrique local très important. Ce champ résulte de la mise en contact de deux phases dans lesquelles les conductions (électronique pour l'une, ionique pour l'autre) sont de natures différentes et qui possèdent des niveaux de Fermi différents. Son comportement avec la fréquence est celui d'une capacité dite de double couche,  $C_D$ . Elle se place en parallèle sur  $Z_F$ .
- La résistivité finie de la solution est à l'origine de la résistance d'électrolyte  $R_e$  entre l'électrode de travail et l'électrode de référence.

Le diagramme expérimental effectivement obtenu, en tenant compte des termes faradiques utilisés dans le diagramme idéal de la figure 2, est représenté sur la figure 3. Il lui correspond un schéma électrique équivalent, dit schéma de Randles [11] donné sur la figure 3.

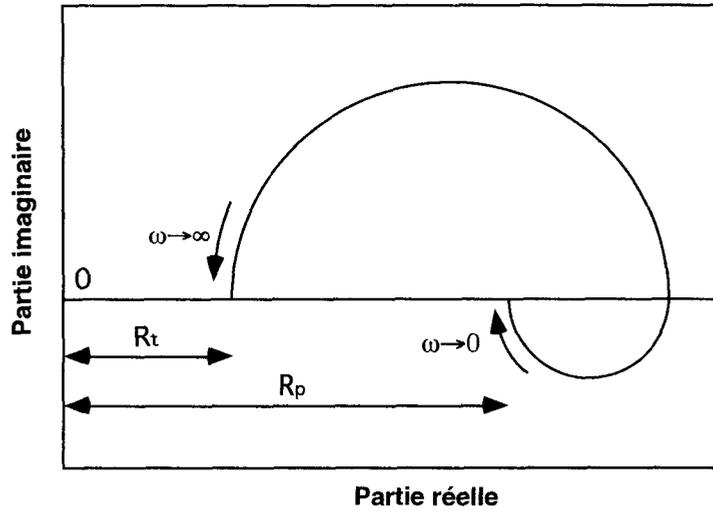


$$\text{Impédance} = Z$$

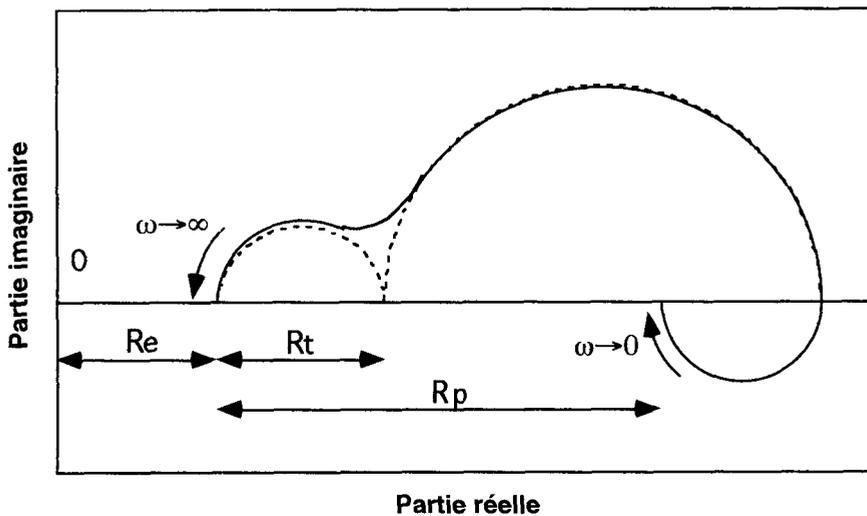
$$\text{module } |Z| = dU/dI$$

$$Z = |Z| (\cos\varphi - j \sin\varphi) = |Z| e^{-j\varphi}$$

**Figure 1** : Schéma de principe de la mesure de l'impédance électrochimique



*Figure 2 : Diagramme d'impédance électrochimique avec une boucle capacitive et une boucle selfique, correspondant à l'impédance  $Z_p(\omega)$  faradique seule.*



*Figure 3 : Diagramme d'impédance électrochimique avec boucle selfique couplée tenant compte de la chute ohmique et de la capacité de double couche*

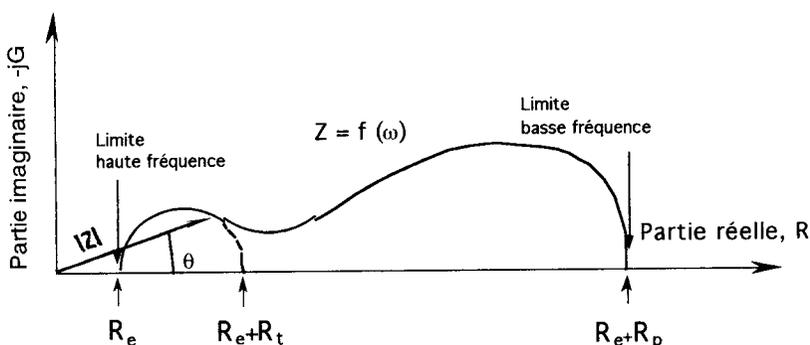
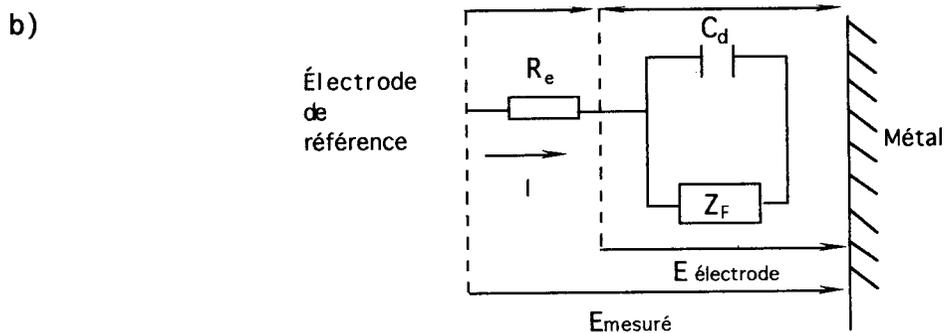
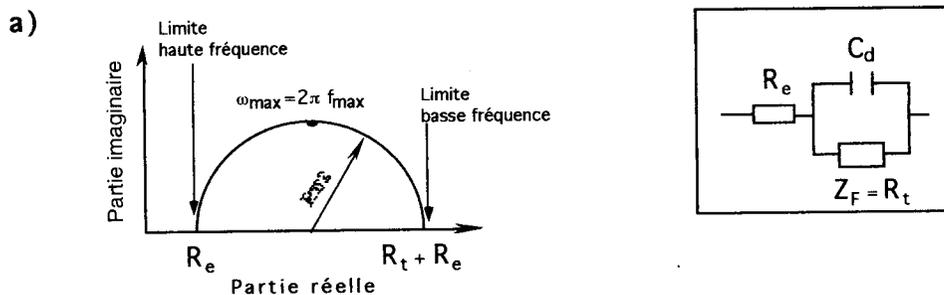


figure 4: Quelques diagrammes d'impédance électrochimique caractéristiques.

Après cette brève description, plusieurs remarques s'imposent:

1- Dans la pratique, les phénomènes sont bien décrits par cette séparation du courant total en deux courants :

- un courant de conduction lié à l'impédance faradique (et plus généralement à l'état stationnaire du système caractérisé par un courant permanent)
- un courant de déplacement dû à la charge d'espace, n'existant qu'en régime stationnaire.

Pour le reste, les circuits équivalents sont d'un emploi très commode pour l'analyse des données expérimentales mais doivent être utilisés avec modération car on perd de vue la signification physique des différents éléments du circuit. Nous préférons fortement, lorsque cela est possible,

partir d'une description cinétique fondée sur un mécanisme *a priori* pertinent, puis développer les différentes équations de conservation de charge et de masse.

2- La mesure d'impédance fournit comme sous-produit la valeur de la résistance de polarisation  $R_p$ , présentée précédemment. Nous pouvons extrapoler à fréquence nulle et obtenir ainsi la « bonne valeur » de  $R_p$ . En effet, celle mesurée directement par les appareils du commerce est effectuée à une vitesse de balayage prédéfinie (en général de l'ordre de 1 à 2 minutes, l'équivalent fréquence étant de 10 mHz pour 2 minutes), pour laquelle on n'a pas forcément atteint la limite très basse fréquence du diagramme d'impédance.

Nous avons représenté sur la figure 4 deux diagrammes caractéristiques d'impédance électrochimique :

- le cas "a)" correspond à une cinétique d'activation pure pour les processus anodique et cathodiques et l'impédance faradique se réduit à la résistance de transfert de charge  $R_t$ , combinaison parallèle des résistances de transfert de charge anodique et cathodique. La résistance de polarisation  $R_p$  s'identifie à  $R_t$  et la relation de Stern et Geary s'applique de façon rigoureuse.
- le cas "b)" correspond à une cinétique mixte "activation/diffusion" pour laquelle la branche faradique représentée est la somme d'une résistance de transfert de charge et d'une impédance de diffusion.

On peut reprendre également l'exemple du cuivre donné précédemment et calculer la résistance de transfert de charge anodique:

$$R_i^{-1} = \frac{\alpha F k_1}{RT} [\text{Cl}^-] \exp \frac{\alpha FE}{RT} + \frac{(1-\alpha) F k_{-1}}{RT} [\text{CuCl}] \exp \frac{(1-\alpha) FE}{RT} \quad (16)$$

Cette expression est beaucoup plus simple que celle de  $R_p$  donnée en (7). A l'aide de cette expression, de celle de la résistance de transfert de charge cathodique (qui peut aussi être calculée séparément) et de l'expression du courant (formule (7)), on dispose d'un exemple de la relation de Stern et Geary "à la carte" suggéré plus haut.

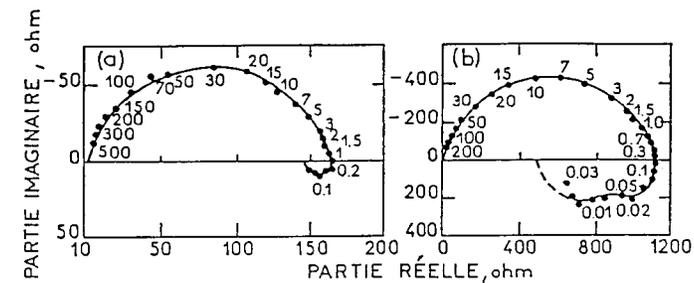
## III.2 Quelques exemples pratiques de l'utilisation de l'impédance électrochimique en corrosion

### III.2.1. Mesure de l'efficacité inhibitrice d'un inhibiteur de corrosion du fer en milieu acide ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) : l'alcool propargylique. Comparaison des critères $R_p$ et $R_i$ [10]

Le mécanisme de dissolution a été décrit précédemment (voir l'équation 5) et le tracé correspondant de l'impédance ac est présenté sur la figure 5a. L'effet de l'addition de l'alcool propargylique est indiqué sur la figure 5b : l'exploitation du diagramme permet d'obtenir  $R_p$  et  $R_i$ . On représente sur la figure 5c l'efficacité inhibitrice définie ici par :

$$\tau \% = \frac{X_{\text{avec.inhib.}} - X_{\text{sans.inhib.}}}{X_{\text{sans.inhib.}}} \sigma \% \quad (17)$$

où X représente soit  $R_i$  soit  $R_p$ . Les mesure de perte de masse servant de référence, nous voyons, d'après la figure 5c, que  $R_i$  donne une meilleure estimation de  $\tau$  que  $R_p$ .



Fe (type Holzer)-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N. (a) Sans inhibiteur; (b) Avec alcool propargylique 2mM.

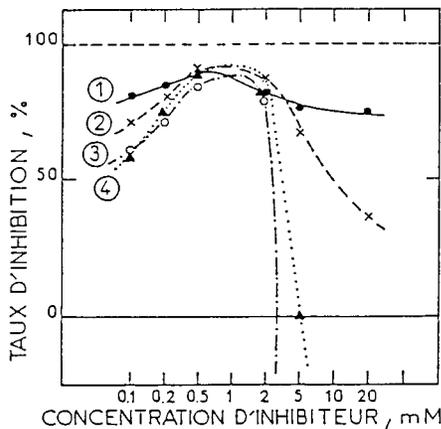


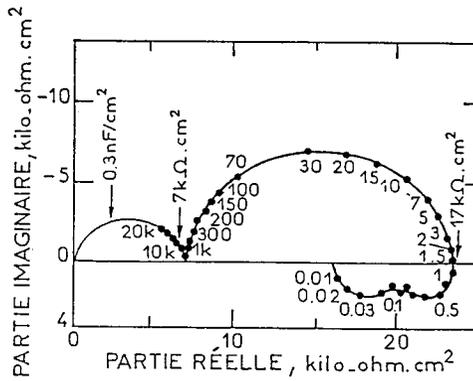
Figure 5 : Diagrammes d'impédance ac d'une électrode de fer en milieu sulfurique en absence et en présence d'alcool propargylique. Efficacité inhibitrice en fonction de la concentration d'inhibiteur mesurée par : (1) perte de masse, (2)  $R_p$ , (3)  $R_p$ , (4)  $C_D$ .

### III.2.2 Corrosion d'un échantillon de fer revêtu d'un film de peinture [13]

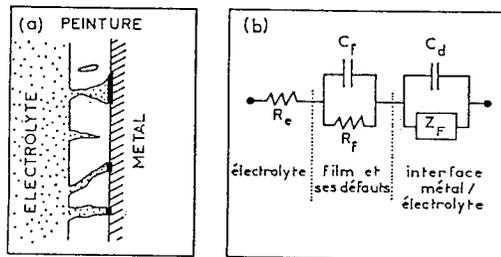
Un fer ARMCO revêtu d'un film d'époxy de 40  $\mu\text{m}$  est plongé dans une solution sulfurique 1M. Son impédance mesurée après un temps d'immersion prend l'aspect caractéristique représenté sur la figure 6. On reconnaît dans le domaine des moyennes et basses fréquences (inférieures à 1 kHz) le diagramme obtenu pour le fer nu (figure 5a) dilaté d'un facteur 100 environ. En outre, une boucle capacitive apparaît, qui n'existait pas auparavant.

La création de pores au sein du revêtement, due à la pénétration du solvant et au déclenchement d'un processus de corrosion, a été rendue responsable de la déformation du diagramme initial du fer nu. L'échantillon est représenté sur la figure 6a, et la figure 6b décrit le schéma électrique équivalent. Par un raisonnement intuitif on peut admettre la mise en série des paramètres liés au film et ses défauts (résistance d'électrolyte dans les pores en parallèle sur la capacité diélectrique du film) avec l'impédance interfaciale  $Z_f$  (représenté sur la figure 5a) et avec sa capacité de double couche.

Le facteur d'expansion du diagramme (qui est ici d'une centaine) indique la surface effective de contact du métal avec l'électrolyte, soit environ 1 % dans ce cas.

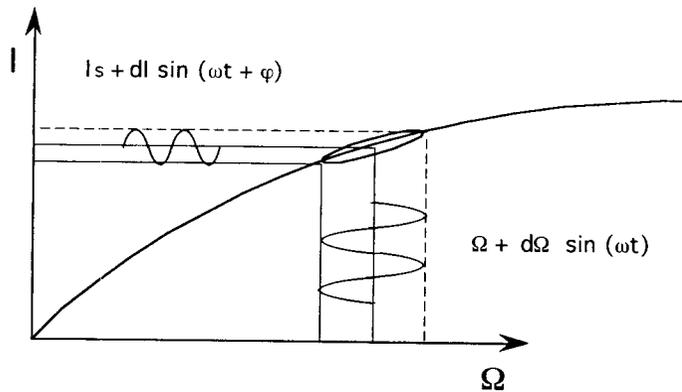


Impédance d'un fer Armco recouvert d'époxy (40 μm).



(a) Représentation des défauts du film sous forme de pores; (b) Circuit électrique équivalent.

Figure 6 : Diagramme d'impédance du fer en milieu sulfurique 1mol.L<sup>-1</sup> recouvert d'une peinture epoxy  
Circuit électrique équivalent et modèle physique



$$Z = |Z| (\cos\varphi - j \sin\varphi) = A f(p.Sc^{1/3})$$

$$p = \frac{\omega}{\Omega} \qquad Sc = \frac{v}{D}$$

Figure 7 : Principe de la mesure de l'impédance Electrohydrodynamique

### III.3 Mesure de l'impédance EHD

Le formalisme de l'impédance électrochimique s'applique à l'impédance EHD (ou électro-hydro-dynamique) et nous ne reviendrons pas sur les définitions données précédemment. Une description détaillée de cette méthode est présentée dans un article de référence [9]. Le principe de la méthode est néanmoins illustré très brièvement sur la figure 7. L'essentiel des développements proposés à ce jour concerne l'électrode à disque tournant (on module la vitesse de rotation  $\Omega$  de façon sinusoïdale autour d'une valeur moyenne) mais tout écoulement modulé conduirait à des résultats analogues.

Il est essentiel de rappeler le résultat fondamental établi pour une surface active et un contrôle total de la cinétique par le transport de matière (palier de diffusion). L'impédance EHD (définie ici pour un contrôle potentiostatique) :

$$Z_{\text{EHD}} = \frac{dI(\omega)}{d\Omega(\omega)}$$

ne dépend que d'une fréquence adimensionnelle  $pSc^{1/3}$ , où  $p = \omega/\Omega$  et  $Sc$  est le rapport de la viscosité cinématique  $\nu$  au coefficient de diffusion moléculaire des espèces transportées  $D$ .

Les diagrammes d'impédance EHD relatifs à ce cas idéal (« interface idéalement active ») et à deux autres situations typiques de corrosion sont schématisés sur la figure 8.

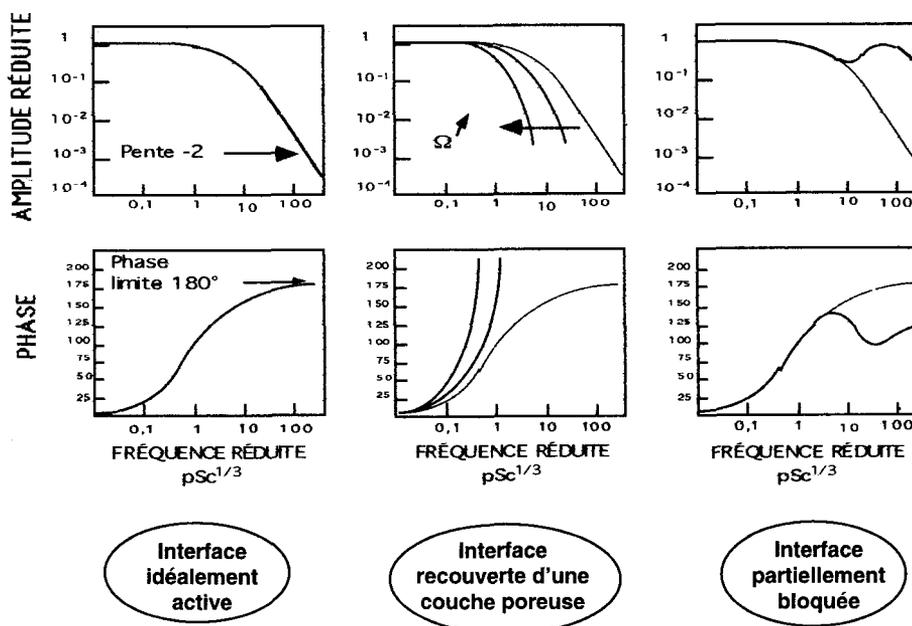


Figure 8 : Diagramme d'impédance EHD pour un contrôle diffusionnel de la cinétique et trois types d'interface: Uniformément actif, partiellement bloqué, et recouvert d'une couche poreuse

Le premier cas « non idéal » est observé lorsque le métal est recouvert d'une couche poreuse non conductrice électronique : cette situation se rencontre très fréquemment en corrosion aqueuse en milieu neutre, où les produits de corrosion sont généralement insolubles. Le processus cathodique limitant est alors la réduction de l'oxygène dissous sous contrôle diffusionnel pur, l'oxygène devant diffuser à travers la couche de produits de corrosion. Ainsi, contrairement au cas idéal, l'impédance est aussi fonction de la constante de temps diffusionnelle à travers la couche, outre la constante de temps provenant de la diffusion-convection (et définie par  $\rho Sc^{1/3}$ ). Ceci explique qu'à deux vitesses de rotation moyennes différentes, on obtienne deux diagrammes non superposables comme dans le cas idéal.

L'analyse en fréquence fournit la constante de temps  $\delta_f^2 / D_f$  à travers le film (l'indice "f" désigne le film) et la comparaison de cette donnée avec les mesures stationnaires permet de calculer séparément  $\delta_f^2$  et  $D_f$ .

Le second cas, dénommé "interface partiellement bloquée" correspond à une interface où coexistent des sites soit idéalement actifs, soit idéalement passifs. On observe comme dans le « cas idéal » un seul diagramme en fonction de la fréquence réduite  $\rho Sc^{1/3}$  avec deux constantes de temps au lieu d'une. Le décalage en fréquence mesuré entre ces deux constantes de temps,  $f_{br}$  et  $f_{bf}$  pour un disque de rayon R permet de calculer la dimension moyenne d des sites actifs [14] :

$$d = 2,1^{3/2} R (f_{br}/f_{bf})^{3/2} \quad (18)$$

Il est important de souligner que si les deux comportements "non idéaux" ci-dessus donnent des diagrammes d'impédance qualitativement différents, la dépendance du courant limite avec la vitesse de rotation angulaire du disque  $\Omega$  est en revanche identique dans les deux cas :

$$I^{-1} = \alpha + \beta \Omega^{-1/2} \quad (19)$$

Dans cette relation, dite de Koutecky-Levich, le terme  $\alpha$  a une signification physique différente suivant la nature du processus donnant l'écart à l'idéalité. On voit clairement que l'impédance EHD permet d'une part de lever l'ambiguïté sur la nature du phénomène en cause et d'autre part de mesurer des paramètres caractéristiques dans chaque situation. Nous allons maintenant brièvement illustrer l'intérêt de cette dernière technique par deux exemples qui correspondent aux deux situations non idéales de la figure 8.

### III.4 Deux applications de l'EHD

#### III.4.1 Cas d'un blocage partiel de surface par inhibition [15]

La technique permet de caractériser quantitativement l'adsorption d'un inhibiteur spécifique du cuivre, le benzotriazole, en utilisant la réponse de diffusion de l'oxygène qui est, dans le cas présent, totalement contrôlée par le transport de matière.

Sur la figure 9, les diagrammes d'impédance EHD font clairement apparaître deux constantes de temps pour la réponse du courant, les différents diagrammes de la phase étant confondus en haute et basse fréquence, alors qu'en absence d'inhibiteur, on observe une courbe unique avec une seule constante de temps (courbe en tirets). L'application de la formule (18) permet d'estimer la taille moyenne des sites actifs à 30  $\mu\text{m}$  environ.

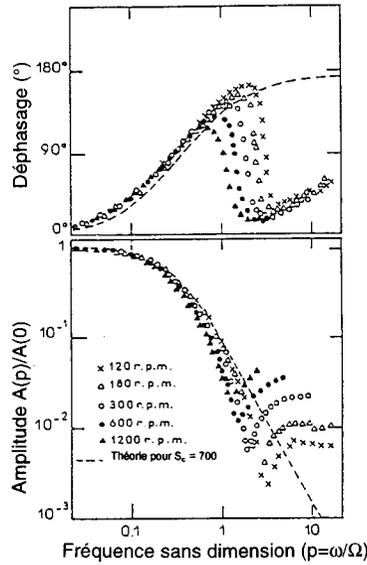


Figure 9 : Diagrammes d'impédance EHD tracés sur le palier de diffusion de l'oxygène Cuivre en solution NaCl 0,5M et benzotriazole 0,1M

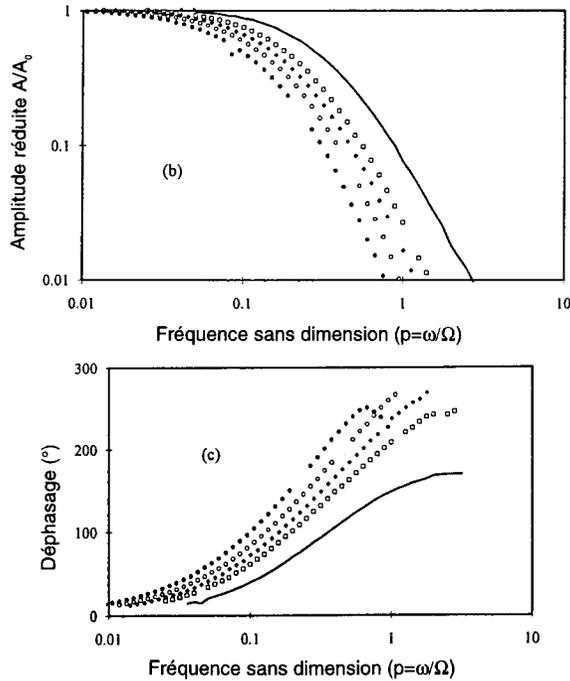


Figure 10 : Diagrammes d'impédance EHD tracés sur le palier de diffusion de l'oxygène Electrode d'or recouverte ou non d'un film de gélatine

( $\square$ )  $\Omega = 120\text{rpm}$  ; ( $\blacklozenge$ )  $\Omega = 300\text{rpm}$  ; ( $\circ$ )  $\Omega = 600\text{rpm}$  ; ( $\bullet$ )  $\Omega = 1200\text{rpm}$  ; (-) sans film

### III.4.2 Transport à travers un gel [16]

On cherche à simuler le comportement d'un biofilm vis-à-vis du transport de matière. Un tel film est censé jouer le même rôle sur le transport de matière qu'une couche poreuse, ou plus précisément un gel.

Comme pour la couche poreuse, le transport de matière à l'intérieur du gel ne doit s'effectuer que par diffusion moléculaire, l'autre partie du gradient de concentration de l'espèce électroactive (ici l'oxygène) à l'extérieur du gel étant déterminée par la diffusion-convection. Les données de l'étude sont donc identiques à celles d'une couche poreuse. Cette situation a été simulée expérimentalement à l'aide d'un film de gélatine déposé sur l'électrode métallique à la surface de laquelle l'oxygène dissous se réduit dans les conditions du palier de diffusion.

Sur la figure 10 on peut vérifier que les diagrammes d'impédance tracés à différentes vitesses de rotation moyenne présentent une grande analogie avec les diagrammes de principe de la figure 8 (courbe centrale).

L'analyse de la réponse de l'impédance EHD avec la fréquence a permis de mesurer une épaisseur  $d_f$  de 9 mm environ, en parfait accord avec des mesures optiques indépendantes, et le coefficient de diffusion moléculaire  $D_f$  de  $9 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . De cette valeur, légèrement inférieure à la valeur en solution, on déduit une porosité de l'ordre de 0,8, ce qui est cohérent pour un gel.

## IV. Quelques techniques récentes

Toutes les techniques décrites ci-dessous ne sont pas de nature électrochimique, mais toutes sont largement utilisées en complément des techniques standard de la cinétique électrochimique ou souvent même conjointement, de sorte qu'il nous a semblé essentiel d'en dire quelques mots.

### IV.1 Electrode à disque-anneau

Cette technique n'est pas récente (elle est inspirée de la méthode de base du disque anneau imaginée par Albery et Brückenstein) mais a été récemment développée pour étudier la nature des produits de corrosion qui apparaissent lors du développement d'une piqûre. Une électrode annexe, placée dans le sillage hydrodynamique du métal qui se corrode (et comporte par exemple une piqûre) est polarisée à un potentiel tel que l'on puisse détecter par une mesure polarographique classique une espèce produite sur le métal qui se corrode.

### IV.2 Mesure de bruit électrochimique

Cantonnée durant une dizaine d'années à des études de type fondamental sur la cinétique électrochimique, cette technique a aussi trouvé des applications en corrosion localisée en permettant de dresser la statistique d'une piqûration [17]. La plus grande facilité d'accès à ce type d'instrumentation a aussi débouché très récemment sur des substituts d'appareils traditionnels permettant de mesurer la résistance de polarisation, donc à la corrosion généralisée en mesurant le rapport  $\Delta V/\Delta I$  des fluctuations spontanées du système.

### IV.3 Microbalance à quartz

Cette méthode est actuellement en plein développement dans différents secteurs de la cinétique électrochimique. La mesure de la variation de la fréquence de résonance d'un quartz entre deux électrodes dont l'une est au contact de la solution étudiée renseigne sur les variations de masse éventuelle de cette électrode [18]. L'extraordinaire précision des mesures de fréquence jointe au facteur de qualité très grand d'un quartz oscillant (on peut mesurer de façon significative une variation de l'ordre d'un hertz pour une fréquence d'oscillation moyenne de 6 MHz) conduit à des variations de masse mesurables de l'ordre d'une monocouche adsorbée ou enlevée. La méthode en

l'état actuel ne peut donc s'appliquer qu'à des vitesses de corrosion extrêmement faibles. Il faut également résoudre les problèmes liés à la présence éventuelles des produits de corrosion. La résolution de ces problèmes permettra de prévoir des développements intéressants de cette technique.

#### IV.4 SVET (« Scanning Vibrating Electrode Technique »)

Cette technique très récente [19] consiste à faire vibrer mécaniquement à différentes fréquences une électrode double (sensible à la fois aux distributions locales de potentiel et de courant). Cela permet de dresser une cartographie de l'impédance locale, les applications visées étant la détection de défauts dans les revêtements ou la mise en évidence de corrosion localisées.

### V. Dispositifs expérimentaux de la mesure d'impédance

Les mesures d'impédance sont actuellement possibles grâce aux analyseurs de réponse en fréquence qui permettent de tracer les diagrammes d'impédance sur un large spectre (le domaine de 1 mHz à 100 kHz est souhaitable dans le cas de l'impédance électrochimique) afin d'identifier les différents processus élémentaires.

Sur la figure 11 est schématisé un ensemble expérimental pour la mesure de l'impédance électrochimique avec l'analyseur de réponse en fréquence (ainsi qu'un potentiostat et la cellule de mesure). Si l'on se réfère à la définition donnée dans l'équation (15), on verra qu'on retrouve sur un tel appareil les deux opérations élémentaires, multiplication et sommation.

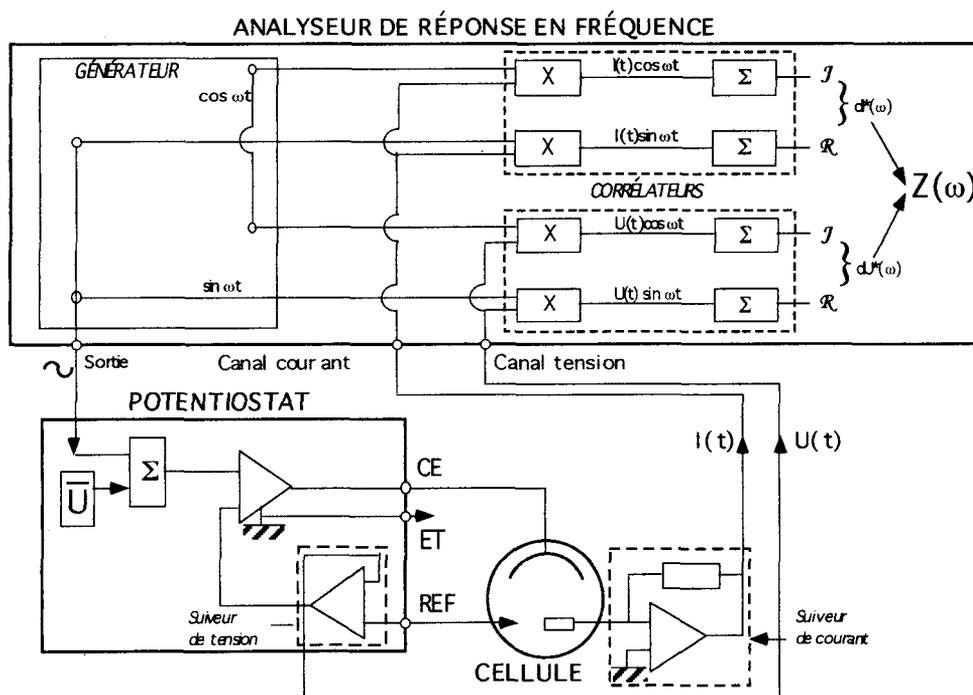


Figure 11 : Ensemble de mesure de l'impédance électrochimique comprenant l'analyseur de réponse en fréquence, le potentiostat (avec un dispositif sommateur "Σ" pour superposer le signal alternatif à la tension de consigne U) et la cellule (avec un dispositif de suiveur de courant pour la mesure du courant). L'analyseur présenté comporte deux corrélateurs distincts permettant la mesure simultanée des amplitudes complexes de la tension et du courant).

Deux approches instrumentales sont actuellement possibles :

- Le corrélateur est pré-câblé et l'opération de corrélation est effectuée directement par des composants *ad hoc*. Ceci permet une vitesse de calcul élevée, d'où des fréquences importantes (le modèle 1255 de "Solartron" a une limite haute fréquence de 20 Mhz). Un bon nombre de ces appareils, relativement sophistiqués, sont encore réservés aux études de laboratoire.
- L'emploi d'un ordinateur avec une carte d'interface analogique-digital. Les signaux  $U(t)$  et  $I(t)$  sont digitalisés et mémorisés sur un nombre entier de périodes du signal de mesure. Les opérations élémentaires de corrélation sont effectuées dans un deuxième temps. Cette procédure, utilisée depuis quelques années, ne permettait pas d'atteindre de hautes fréquences (quelques kHz tout au plus). Avec les progrès de la microinformatique et des microprocesseurs, on voit poindre une génération d'instruments plus performants, mais plus rustiques et de coût modeste (en particulier des appareils portables) donnant l'accès à des mesures de routine et de test en milieu industriel ou même sur le terrain, notamment en corrosion.

On peut revenir sur la nécessité d'atteindre les hautes fréquences dans le cas précis des films à propriétés diélectriques plus ou moins marquées. Certains biofilms qui peuvent être modélisés par un circuit électrique équivalent (figure 6) comportant une résistance de film  $R_f$ . Or cette résistance n'est pas un terme faradique et n'intervient donc pas dans la détermination de  $R_p$ . Il convient alors, pour calculer le courant de corrosion, de retirer  $R_e$  et  $R_f$  de la limite Très Basse Fréquence de l'impédance. Si la capacité de film est très petite, la fréquence caractéristique associée à la boucle  $C_f/R_f$  est très grande d'où l'importance de disposer d'un impédancemètre capable de travailler en haute fréquence.

## VI. Conclusion

En guise de conclusion très succincte, il faut insister sur le fait que la méthode d'impédance électrochimique fournit la "bonne" valeur de  $R_p$  si l'on souhaite se servir de la formule de Stern et Geary dans sa version standard. Mais elle offre bien plus, puisqu'elle permet de tester le mécanisme relatif au système étudié, éventuellement confirmé par une mesure directe de perte de masse lorsque cela est possible, d'où une évaluation correcte du courant de corrosion.

## Références

- [1] N.A.C.E. Standard TM01 69, Test Method : Laboratory Corrosion testing of metals for the Process Industry.
- [2] M. STERN, A. L. GEARY J. Electrochem. Soc., 104, 56 (1957).
- [3] S. BARNATT Corros. Sci., 9, 145 (1969).  
G. W. WALTER Corros. Sci., 15, 47 (1975).
- [4] J.O'M. BOCKRIS, D. DRAZIC and A.R. DESPIC Electrochim. Acta, 4, 325 (1961)
- [5] L. BACARELLA and J. C. GRIESS J. Electrochem. Soc., 120, 459 (1973)
- [6] H. P. LEE and K. NOBEJ. Electrochem. Soc., 133, 2035 (1986).
- [7] C. DESLOUIS, B. TRIBOLLET, G. MENGOLI and M. M. MUSIANI J. Applied Electrochem., 18, 374 (1988).
- [8] D. D. MACDONALD "Transient Techniques in Electrochemistry", Plenum Press, New York (1977).
- [9] C. DESLOUIS and B. TRIBOLLET, "Flow modulation techniques in Electrochemistry", Advances in Electrochemical Science and Engineering, VCH series, C.W. Tobias and H. Gerisher Eds. (1991) p.205-264.

- [10] I. EPELBOIN, C. GABRIELLI, M. KEDDAM and H. TAKENOUTI  
Proc. of the ASTM Symp. "Progress in Electrochemical Corrosion Testing", May 1979, Ed. F. Mansfeld and U. Bertocci, p. 150-166 (1981). ASTM Publ.
- [11] J. BARD, L. R. FAULKNER « électrochimie - Principes, méthodes et applications », Masson, Paris 1983
- [12] I. EPELBOIN, M. KEDDAM and H. TAKENOUTI J. of Appl. Electrochem. 2, p.71-79 (1972).
- [13] M.W. KENDIG and H. LEIDHEISER Jr, "Corrosion protection by organic coatings"; The Electrochemical Society, Vol 87-2, Pennington (1987).
- [14] A. CAPRANI, C. DESLOUIS, S. ROBIN and B. TRIBOLLET, J. Electroanal. Chem., 238, 67(1987).
- [15] J.M. BLENGINO, C. DESLOUIS, C. FIAUD, B. TRIBOLLET and I. VASTRA, Proc. of the 7th European Symposium on Corrosion Inhibitors (7SEIC), Ferrara (Italy), Ann. Univ. Ferrara, NS, Sez. V. Suppl. N°9 (1990).
- [16] E. L'HOSTIS, C. DESLOUIS, B. TRIBOLLET and D. FESTY. "EHD and steady-state measurements for characterization of transport properties in a gel layer". *Electrochimica Acta*, 41, N°7/8, (1996) p. 1393 -1399
- [17] "Electrochemical Noise Measurements for Corrosion Applications", ASTM (PCN 04-012770-27) (1996).
- [18] S. BRÜCKENSTEIN and M. SHAY, *Electrochimica Acta*, 30,129(1985). [191 R. S. LILLARD, P.J. MORAN and H.S. ISAACS, J. Electrochemical Society, 139,4(1992).



## Chapitre 12

### Les méthodes d'analyse des surfaces

Jean-Paul DEVILLE

**Résumé.** Il existe actuellement sur le marché technologique et scientifique de très nombreuses méthodes d'analyse des surfaces, chacune ayant sa spécificité, ses qualités, ses contraintes (notamment de vide) et ses limites. Toujours coûteuses en temps et en investissement, ces méthodes doivent être utilisées à bon escient. Cet article se propose de donner à un lecteur novice et inquiet quelques éléments de choix raisonnés en ayant recours à de nombreux tableaux où sont croisés différents critères de choix, comme la nature du renseignement recherché, la sensibilité, les contraintes de mise en œuvre ou, plus simplement, la réponse à une question précise. Après avoir rappelé les principes fondamentaux qui gouvernent ces méthodes d'analyse, basés sur l'interaction entre des rayonnements (rayons X, UV) ou des particules (ions, électrons) avec la matière, deux méthodes seront plus particulièrement décrites : la spectroscopie des électrons Auger (AES) et la photoémission induite par les rayons X (ESCA ou XPS). Ce sont en effet parmi les méthodes les plus répandues dans les laboratoires, les plus faciles d'accès et probablement les plus productives en terme d'analyse de surfaces de matériaux de provenance industrielle ou d'échantillons soumis à des traitements dans des milieux agressifs.

## I Généralités

### I.1 Introduction

Cette section est un bref *vade-mecum* de l'analyse des surfaces. Son but est d'aider le lecteur à faire des choix raisonnés pour adapter ses demandes de caractérisation des surfaces aux problèmes qu'il rencontre pour améliorer un procédé, développer un nouveau matériau, ...

Les analyses de surface ont la réputation justifiée d'être onéreuses. La nécessité de travailler souvent sous ultraviolet rend l'investissement très lourd (au moins 1 à 4 MF de 1996), les temps requis pour l'analyse (préparation des échantillons, profils de concentration, traitement des données) introduisent des coûts salariaux importants et le nombre d'analyses par jour est faible. Ainsi n'est-il pas rare de voir des facturations d'environ 10 kF par jour (en 1996). Il s'agit donc de ne procéder à une telle étude des surfaces qu'à bon escient et de ne s'équiper d'un outil de caractérisation que si l'on est certain de sa rentabilité.

Les paragraphes qui suivent exposent les bases physiques sur lesquelles s'appuient la plupart des méthodes d'analyse des surfaces, décrites par ailleurs dans plusieurs ouvrages [1,2]. Elles permettent de mieux comprendre les sections suivantes où sont traitées deux méthodes particulières à titre d'exemple [AES, ESCA (XPS)]. Le tableau I propose un choix non exhaustif de méthodes classées en fonction de la nature des renseignements recherchés. Quant au tableau II, il présente un choix de méthodes adaptées à divers problèmes.

Les mots importants sont en *italique*, leur traduction en anglais est en *italique grasse*. Par ailleurs, depuis que l'Europe a exigé des Britanniques l'abandon des *inches* et autres *BTU'S*, nous devons être plus vigilants sur l'utilisation des systèmes d'unités et tenter d'oublier un certain nombre d'unités pratiques mais non légales. Ainsi, le *nanomètre* (nm) doit être préféré à l'*angstrôm* (Å) [1 nm = 10 Å]. Le *torr* (millimètre de mercure) doit être abandonné au profit du *millibar* (mbar) ou de l'*hectopascal* (hPa) chers aux bulletins météorologiques. Comme 1 torr vaut 1,33 millibar (hectopascal) on peut substituer l'un à l'autre sans introduire d'erreur importante lorsqu'on se trouve à des vides meilleurs que 10<sup>-6</sup> millibar.

## I.2 Qu'appelle-t-on « surface » ou « interface » ?

Une *surface* est, au sens strict, la séparation entre une phase dense (solide, liquide) et une phase diluée (gaz, vapeur, vide). Dans le cas où la séparation intervient entre deux phases denses (solide/solide, solide/liquide), on dit qu'il y a une *interface*. La surface (l'interface) est une région où les propriétés du matériau peuvent changer considérablement par rapport à celles qui sont connues ou attendues pour son volume. Par exemple, la composition chimique d'une surface peut être très différente de celle du volume. C'est le cas bien connu des aciers inoxydables : une composition volumique typique des aciers dits « 18-10 » est, outre le fer, élément majoritaire, 18% Cr, 10% Ni, 2% Mn, 1% Si, 0,15% C. En revanche la surface est presque exclusivement composée de chrome qui s'oxyde immédiatement à l'air pour donner une couche protectrice d'oxyde de chrome  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ . Ce phénomène, appelé *ségrégation*, est à la base de nombreuses protections contre la corrosion. Par ailleurs, on constate expérimentalement que les modifications de propriétés dues à la présence de la surface ou de l'interface s'étendent dans le volume jusqu'à plus de 1  $\mu\text{m}$  de profondeur. On doit donc considérer les *surfaces* ou les *interfaces* comme des régions ayant une certaine extension spatiale dans le volume du matériau.

Beaucoup de phénomènes physico-chimiques dépendent étroitement des surfaces et des interfaces : catalyse, propriétés de transport dans les semi-conducteurs, tribologie... Depuis une trentaine d'années, une science et une technologie se sont donc développées pour étudier tous ces phénomènes devenus de plus en plus cruciaux puisque la miniaturisation croissante tend à privilégier l'extension des surfaces et des interfaces au détriment du volume. Par exemple, la croissance de matériaux artificiels tels que *puits quantiques*, *multicouches magnétiques*, *couches de supraconducteurs à haute température critique*, est fondée sur l'alternance de couches d'atomes avec des très faibles périodes et multiplie le nombre des interfaces. En général, un bâti de croissance sera donc équipé de méthodes d'analyse des surfaces adaptées au système physique étudié.

## I.3 Quels sont les principes généraux de l'analyse des surfaces ?

Les méthodes d'analyse, qu'elles soient de surface ou de volume, nécessitent de disposer d'une *sonde* (rayonnement, particules, ...), d'un *échantillon* (cible) et d'une *chaîne de mesure* qui détecte rayonnements ou particules issus de l'échantillon, caractéristiques de cet échantillon et portant des informations que l'on pourra traiter.

Pour qu'une méthode soit efficace en tant qu'analyse de surface, il faut d'abord que l'information récupérée dans la chaîne de mesure provienne des toutes premières couches de l'échantillon. Il faudra donc avoir un rayonnement sonde *peu pénétrant* ou un rayonnement *émis très absorbé* par la matière constituant la cible. On constatera que toute méthode d'analyse des surfaces met en œuvre soit des *ions*, soit des *électrons* à un moment ou à un autre du processus analytique (tableau III). En effet, la *section efficace d'interaction* des ions et des électrons avec la matière est importante et ces particules seront fortement absorbées par la matière. L'information qu'elles transporteront ne proviendra que des toutes premières couches atomiques pour autant que leur énergie cinétique soit faible. Sur la figure 1 est le libre parcours moyen des électrons dans la matière,  $\lambda$ , en fonction de leur énergie cinétique ; on admettra qu'en spectroscopie Auger ou en ESCA l'information provient, pour 99 % du signal recueilli, d'une profondeur intégrée sur  $3\lambda$ .

Par ailleurs, il faudra que la surface reste identique durant tout le temps de mesure. On sait que le taux de collision des molécules et atomes sur une paroi de 1  $\text{cm}^2$ , par seconde et sous un vide de p mbar, est :

$$Z_A = 2,63 \times 10^{20} p \quad (1)$$

Sachant qu'une unité d'aire de 1  $\text{cm}^2$  représente environ  $10^{15}$  sites d'adsorption, la surface peut se recouvrir d'une couche monoatomique ou monomoléculaire (*monocouche*, *monolayer*) en moins de 30 secondes pour un vide de  $10^{-6}$  mbar, et en moins de 5 minutes pour un vide de  $10^{-7}$  mbar. On voit donc que, dans la plupart des cas, il faudra travailler dans un excellent vide (ultravide de

l'ordre de  $10^{-11}$  mbar). Par ailleurs, chaque fois qu'un échantillon est introduit dans un appareil d'analyse de surface il est recouvert d'une couche de *contamination* (eau, oxyde natif, hydrocarbures... ) qui peut ne pas être représentative de la surface. Pour ôter cette couche il conviendra de procéder à nettoyage *in situ* plus ou moins important, en général par *bombardement ionique*. On pourra alors soit réduire ce bombardement aux tous premiers nanomètres et la méthode sera non destructive, soit faire des séries de bombardements qui mettront au jour des parties de plus en plus profondes du matériau. Dans ce cas, on pourra avoir des profils de concentration en fonction de la profondeur décapée mais l'analyse sera évidemment destructive et le bombardement ionique pourra introduire des défauts de stoechiométrie.

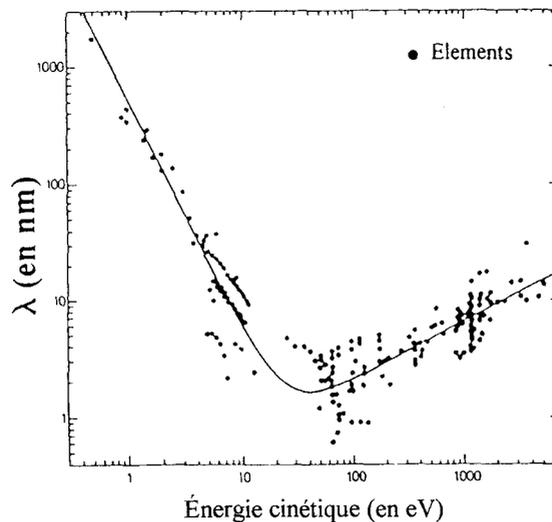


Figure 1 : Libre parcours moyen des électrons dans la matière en fonction de leur énergie cinétique [3]

## II. Spectroscopie des électrons Auger

L'analyse Auger (*Auger Electron Spectroscopy*), connue sous l'acronyme AES, est peut-être la plus utilisée des techniques d'étude des surfaces. Elle fournit une analyse chimique élémentaire de la surface d'un matériau sur une épaisseur de 1 à 2,5 nm selon l'énergie des électrons Auger analysés. Son succès repose sur sa facilité de mise en oeuvre et sur l'adéquation existant entre ses possibilités et les renseignements couramment demandés pour une analyse de surface.

### II.1 Principes physiques

L'AES repose sur une analyse de l'énergie des électrons renvoyés par une cible sous l'impact d'une sonde primaire [rayonnement ou faisceau de particules incidentes (ions, électrons)], de faible à moyenne énergie (100 eV à 10 keV). Les sondes que nous considérerons dans cette section seront essentiellement des faisceaux électroniques.

**Tableau I:** Les méthodes d'analyse des surfaces (classées en fonction des renseignements recherchés).

RENSEIGNEMENT	MÉTHODE	ACRONYME	VIDE REQUIS
ANALYTIQUE	Spectroscopie Auger	AES	Ultravide
	Sonde atomique	AP	
	Fluorescence X	XRF	Vide conventionnel
	Microsonde électronique	EPMA	Vide conventionnel
	Activation neutronique	NAA	
	Rétrodiffusion coulombienne (ou de Rutherford)	RBS	Vide conventionnel
	Spectroscopie Raman exaltée de surface	SERS	Atmosphère
	Spectroscopie de masse assistée laser	LAMMA	Vide conventionnel
	Décharge lumineuse	GDL (SDL)	Atmosphère
	Spectroscopie d'ions secondaires	SIMS	Ultravide + Gaz (Ar, O <sub>2</sub> )
Photoémission induite par les rayons X	XPS - ESCA	Ultravide	
MORPHOLOGIQUE	Microscopie à balayage	MEB	Vide conventionnel
	Microscopie à force atomique	AFM	Atmosphère
	Microscopie à effet tunnel	STM	Ultravide / Atmosphère
STRUCTURAL longue distance	Diffraction des rayons X rasants	XRD	Atmosphère
	Diffraction des électrons lents	LEED	Ultravide
	Diffraction des électrons rapides	RHEED	Ultravide
	Microscopie à ionisation de champ	FIM	Ultravide + Gaz rare
	Microscopie à effet tunnel	STM	Ultravide
	Structures étendues en absorption X	EXAFS/SEXAFS	Ultravide
STRUCTURE ÉLECTRONIQUE	Photoémission	UPS/ARUPS	Ultravide + Vide différent.
	Pertes caractéristiques d'électrons	EELS	Ultravide
	Photoémission inverse	BIS	Ultravide

**Tableau III:** Les méthodes d'analyse des surfaces classées en fonction de la nature des rayonnements « sonde » et « détection ».

SONDE ⇒ DÉTECTION ⇓	PHOTONS	ÉLECTRONS	PARTICULES	CHAMPS ÉLECTRIQUES
Photons	IR-FTIR SERS XRD XRF	EPMA BIS	SDL (GDL) LAMMA	
Électrons	ESCA (XPS) (S)EXAFS UPS X-AES	AES EELS LEED MEB RHEED		STM
Particules ions, neutrons			ISS (ions) NAA (neutrons) RBS (ions) SIMS (ions)	Sonde atomique

Tableau II: Quelle méthode choisir pour répondre à diverses questions ?

* avoir une analyse élémentaire d'une surface <i>et, en prime, connaître les liaisons chimiques ...</i>	[ESCA [AES
* doser quantitativement ...	NAA EPMA XRF
* atteindre des concentrations très faibles ...	SIMS AP
* faire un profilage rapide (mais destructif) <i>avec beaucoup d'éléments à caractériser ...</i>	SDL (GDL)
* faire un profil non destructif...	RBS
* avoir une analyse élémentaire non destructive ...	XRF
* connaître la morphologie d'une surface ...	MEB AFM-STM
* connaître la structure cristalline de surface ...	LEED RHEED STM XRD
* connaître l'ordre à courte distance ...	EXAFS SEXAFS
* faire une cartographie des éléments <i>... résolue spatialement ...</i>	SAM XRF SIMS
* connaître la structure électronique ...	ARUPS BIS EELS
* travailler sans être sous vide ...  <i>... et même avec des liquides !</i>	SDL (GDL) XRD AFM voire STM STM/AFM/SERS
* étudier des matériaux organiques ...	FTIR XPS LAMMA SIMS

Dans la distribution en énergie des électrons « rétrodiffusés », dont un exemple est montré sur la figure 2, on distingue plusieurs régions correspondant à :

1. des électrons du faisceau incident, renvoyés sans perte d'énergie (*diffusés élastiquement, elastically scattered*), qui permettent l'analyse de l'ordre structural (LEED-RHEED) ; c'est le *pic élastique*,
2. des électrons *incidents ou primaires* ayant subi des pertes d'énergie quantifiées (*plasmons*), qui permettent de renseigner sur la *structure électronique* (EELS),
3. des électrons *secondaires (secondaries)*, souvent très nombreux, qui proviennent d'interactions inélastiques complexes dans le solide et qui confèrent au solide son *rendement d'émission secondaire (secondary electron yield)*, propriété utilisée par exemple dans les systèmes multiplicateurs d'électrons (dynodes),
4. des électrons *Auger*, dont l'énergie ne dépend pas de celle du faisceau primaire et qui sont dus à un processus de désexcitation non radiative des atomes. Ce sont ceux qui nous intéressent dans le cadre de l'AES.

Ce processus de désexcitation, appelé *émission ou effet Auger*, met en jeu trois niveaux d'énergie de l'atome, soit pris isolément, soit inclus dans une molécule. Le faisceau primaire induit une *ionisation* d'un niveau de coeur W en éjectant un électron lié à ce niveau interne. L'énergie disponible permet à un électron d'un niveau plus externe, donc moins énergétique, de venir combler la lacune créée en W. La désexcitation de l'atome ionisé maintenant en couche X peut se réaliser soit par un processus *radiatif* (émission d'un rayonnement X de fluorescence utilisé par exemple en EPMA), soit par l'émission d'un électron éjecté dans le continuum, dit *électron Auger*. La somme des rendements  $\omega_F$  et  $\omega_A$  de ces deux processus, radiatif et non radiatif, est égal à 1 mais, à même niveau ionisé de départ W, le rendement Auger est dominant pour les atomes de numéro atomique plus faible.

Si l'électron Auger est émis à partir d'un niveau Y, son énergie est environ :

$$E_A = E_w - E_x - E_y \quad (1)$$

Cette énergie, indépendante de l'énergie des électrons primaires, met en jeu trois niveaux de l'atome excité. La position en énergie d'un pic Auger est donc caractéristique d'un atome donné. L'analyse de l'ensemble des raies d'un spectre Auger permettra une analyse élémentaire de la surface du matériau considéré. Traditionnellement on dénomme une transition Auger par trois lettres, symboles spectroscopiques des niveaux atomiques mis en jeu, (niveaux *K, L, M*, bandes de valence et de conduction notées respectivement *V* et *C*).

On voit d'après la formule 1 que tout déplacement en énergie  $\pm \Delta E$  des niveaux d'un atome impliqué dans une liaison chimique (qui suppose des transferts d'électrons d'un atome vers un autre), se traduira par une modification de l'énergie des transitions Auger. C'est un *déplacement chimique (chemical shift)*. Dans le cas où la transition Auger met en jeu des électrons de valence, les changements dans l'environnement chimique d'un atome s'accompagneront d'un déplacement en énergie et/ou d'une modification de la forme du pic Auger correspondant, conférant à la méthode une grande sensibilité aux effets chimiques.

Enfin, comme les faisceaux d'électrons peuvent être focalisés facilement, on pourra réaliser une analyse ponctuelle avec une résolution spatiale latérale de l'ordre de 20 nm et faire une cartographie des éléments présents à la surface avec, quelquefois, leur différence d'état d'oxydation. Les appareils ayant cette fonction d'imagerie sont basés sur une colonne de microscopie à balayage travaillant sous ultravide. On a alors un *microscope Auger à balayage (SAM : scanning Auger microscope)*.

## II.2 Appareillage

La spectroscopie Auger doit être mise en oeuvre dans une enceinte sous ultravide. La cible (*échantillon*) à analyser est bombardée sous incidence normale si le canon à électrons qui sert de *sonde* est intégré de façon coaxiale à l'analyseur, sinon sous une incidence plus ou moins rasante. Les analyseurs sont de plusieurs types :

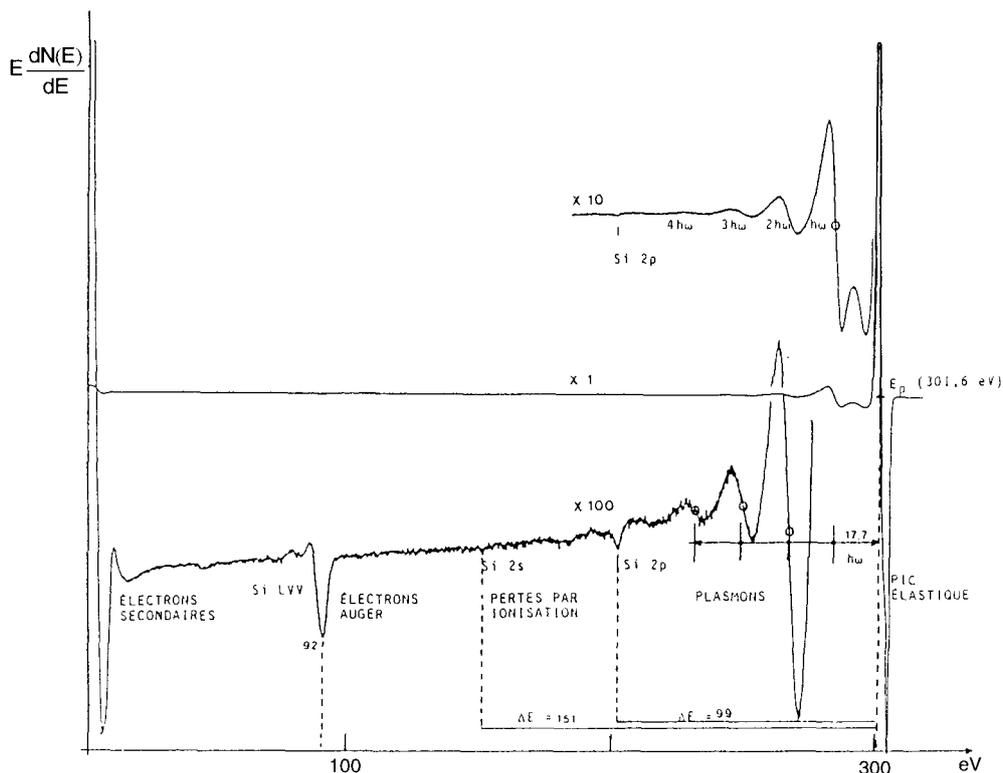


Figure 2 - Distribution en énergie des électrons renvoyés par un échantillon de silicium, obtenue avec un analyseur de type CMA fonctionnant en mode dérivé analogique [ $E \cdot dN(E)/dE$ ]

1. à potentiel retardateur ou RFA (*retarding field analyzer*),
2. à miroir cylindrique ou CMA (*cylindrical mirror analyzer*),
3. hémisphérique (*hemispherical*),
4. combiné RFA - CMA (analyseur de type « MAC2 » de Riber).

Rentrer dans le détail des performances et des limites de ces analyseurs est au-delà des objectifs de ce texte. En résumé, le RFA, basé sur des optiques de diffraction d'électrons lents (LEED), est encore utilisé comme analyseur d'appoint dans des enceintes consacrées à la *caractérisation structurale des surfaces* où des informations sur la composition chimique de la surface restent de première nécessité. Le CMA est un des analyseurs les plus couramment construits et les plus performants pour l'analyse Auger tandis que les autres types d'appareils sont souvent développés en combinaison avec d'autres méthodes analytiques.

Les spectres sont généralement enregistrés dans le mode « dérivé » (*analogique*) où l'on obtient la dérivée de la courbe de distribution en énergie  $dN(E)/dE$  [ou  $E \cdot dN(E)/dE$  pour les CMA]. Cette courbe facilite l'identification des pics Auger et de leur structure fine. Dans les systèmes les plus récents, on utilise un mode de *comptage* pour l'enregistrement des données, dont les résultats sont plus faciles à interpréter du point de vue de l'analyse quantitative.

### II.3 L'analyse Auger, méthode d'analyse pour les surfaces

Nous avons vu dans la section 1 que l'analyse des surfaces suppose une section efficace d'interaction forte du rayonnement sonde ou du rayonnement émis avec la matière à analyser. Dans le cas des électrons, cette section efficace se traduit par la notion de *libre parcours moyen inélastique* des électrons (*inelastic mean free path : IMFP*) dans le solide. Il est défini comme la distance  $\lambda$  parcourue dans un solide, sans perte d'énergie, par un nombre d'électrons  $N/e$ , si  $N$  est le nombre d'électrons primaires (*incidents*) et  $e$  la constante égale à 2,718. L'atténuation de l'intensité du « faisceau » d'électrons Auger obéit à une loi exponentielle, dite de Lambert (*Beer*) : les 2/3 du signal proviennent des atomes de la surface, 99 % d'une épaisseur de l'ordre de  $3\lambda$ .

Les énergies primaires utilisées en analyse Auger sont toujours inférieures à quelques keV pour favoriser le rendement Auger  $\omega_A$  par rapport au rendement de fluorescence  $\omega_F$ , les transitions Auger émises auront ainsi une énergie maximale de 1 à 3 keV, l'énergie minimale étant de quelques dizaines d'eV. On voit donc, en se reportant à la figure 1, qu'un pic Auger de 50 eV sera caractéristique des 15 premiers Å (1,5 nm) de l'épaisseur d'un matériau tandis qu'un électron de 1 keV pourra provenir des 30 premiers Å (3 nm).

Deux conséquences peuvent être tirées :

1. Un échantillon vierge de tout traitement possède une couche superficielle de contamination (oxyde natif, dépôt de substances organiques provenant de notre environnement ou des manipulations) dont l'épaisseur est généralement supérieure à la profondeur analysée par spectrométrie Auger. Accéder par AES aux caractéristiques intrinsèques d'un échantillon imposera de pratiquer un traitement de décontamination de sa surface par bombardement ionique, ou de créer par fracture ou par clivage une surface « fraîche », spécifique du matériau. Cependant, il importe de toujours analyser la surface avant décontamination pour obtenir des renseignements sur la région d'extrême surface, renseignements souvent utiles pour mieux connaître l'histoire de l'échantillon.
2. Une surface caractéristique du matériau étant ainsi obtenue, il ne sera possible de la conserver sans altération pour la durée usuelle d'une étude (quelques minutes à quelques heures), que si l'expérience est entièrement réalisée sous ultravide ( $p < 10^{-10}$  mbar).

Il existe différentes possibilités pour jouer sur la profondeur analysée en AES. La première revient, pour un élément donné, à considérer deux transitions d'énergie suffisamment différentes pour que les  $\lambda$  mis en jeu et, par voie de conséquence, les profondeurs analysées soient différentes. Ainsi dans le cas du silicium, on peut choisir de travailler avec les pics Auger caractéristiques des transitions KLL ( $E_{\text{cin}} = 1600$  eV) ou LVV ( $E_{\text{cin}} = 90$  eV) qui intègrent des informations, sur respectivement 4 et 1,5 nm.

Une autre méthode consiste à pratiquer une analyse angulaire, c'est-à-dire à attaquer avec le faisceau sonde ou à recueillir les électrons émis sous une incidence plus ou moins rasante par rapport à la surface de l'échantillon. Il est également possible de faire appel à des techniques de profilage en profondeur (*depth profiling*) qui se fondent sur une abrasion ionique qui décape graduellement la surface. Les vitesses de décapage allant de quelques Å à quelques manomètres par minute, on comprend que ce profilage est très lent et qu'il ne peut être utilisé que dans des cas spécifiques d'analyse. On utilisera plutôt d'autres techniques telles que le SIMS ou la RBS pour procéder à l'étude de tels profils.

## II.4 Les informations quantitatives obtenues en AES

En première approximation, l'intensité d'un pic Auger spécifique d'un élément situé dans un environnement chimique donné est une fonction du nombre d'atomes de cet élément se trouvant dans le volume analysé, pourvu que les conditions expérimentales (énergie incidente, intensité incidente, angle d'incidence, ... ) soient fixées.

Il est possible de remonter des intensités mesurées [dans les modes  $N(E)$  ou  $E.dN(E)/dE$ ] aux concentrations grâce à des standards de référence obtenus expérimentalement ou en recourant à des tables [4].

L'exploitation la plus usuelle des résultats de l'AES est de type semi-quantitatif : on étudie les variations d'intensité relative d'un pic par rapport à une situation de référence donnée. On peut ainsi analyser :

1. les mécanismes de ségrégation d'impuretés en surface d'un métal ou d'un alliage en fonction de divers traitements de recuits,
2. tout processus d'adsorption de gaz en surface d'un solide,
3. la croissance contrôlée d'un élément sur un substrat semi-conducteur ou métallique.

Dans chacune de ces situations l'analyse des variations d'intensité des pics Auger rend compte des processus physico-chimiques mis en jeu. Ainsi, pour la croissance d'un métal sur un solide, on peut mettre en évidence, à partir des profils d'intensité soit la formation d'un dépôt *homogène*, soit la croissance *d'îlots*, soit l'établissement d'un processus *d'interdiffusion* à l'interface. Cette analyse se fonde sur des *modèle de simulation numérique* à partir des données dites AS-t (*Auger signal versus time*) qui sont la mesure de l'intensité d'une ou plusieurs transitions Auger en fonction du temps [5]. L'exemple de la figure 3 montre la croissance de couches de platine sur du cobalt (un matériau multicouche artificiel ayant des *propriétés d'anisotropie magnétique perpendiculaire*).

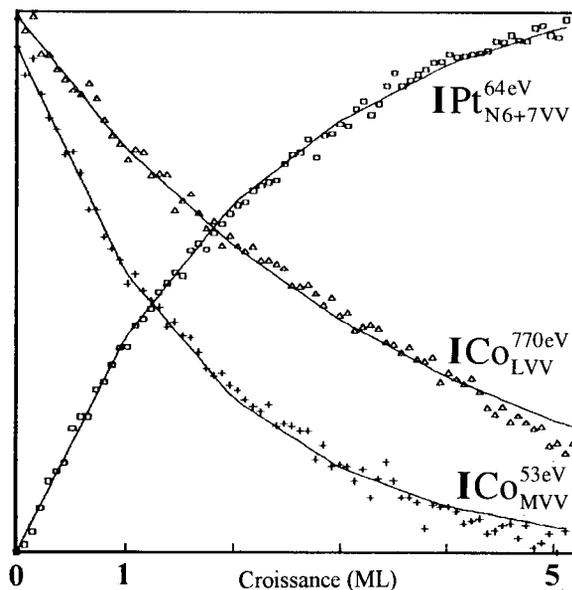


Figure 3 : Cinétique de croissance de Pt/Co(10.0) à température ambiante en représentation AS-t [6]

## II.5 L'exploitation quantitative des spectres Auger

L'analyse d'une surface donnée par AES ne pose pas de problèmes spécifiques, la position du pic étant en règle quasi-générale caractéristique d'une transition Auger d'un élément donné. Il n'y a pas ou peu de recouvrements entre les pics caractéristiques d'un atome. Par ailleurs, la méthode est sensible à l'environnement chimique des atomes analysés, même si l'ESCA est probablement plus efficace dans ce domaine. Une analyse chimique précise de la surface d'un matériau impose en général de faire appel à des travaux antérieurs relatifs à différents états de liaison du même élément, ou de mettre en oeuvre l'analyse d'échantillons de référence dans lesquels l'état chimique de l'élément est bien identifié.

Comme on l'a vu plus haut (Equation 1), l'énergie cinétique d'un électron Auger met en jeu trois niveaux d'énergie de l'atome. Si les niveaux  $W$ ,  $X$ ,  $Y$  sont des niveaux de coeur, le déplacement chimique correspondra à un déplacement en énergie de l'ordre de grandeur du déplacement de chacun des niveaux. En fait les déplacements mesurés expérimentalement peuvent être souvent plus importants en raison des processus de *relaxation inter- et extraatomiques* qui interviennent lors du processus d'émission Auger.

Si la transition Auger met en jeu des électrons de valence, les déplacements des pics correspondants seront plus marqués, traduisant les changements de distribution d'états électroniques dans la bande de valence intervenant quand l'environnement chimique est modifié. Ainsi, on mesure une différence d'énergie de 13 eV pour la transition  $LVV$  du silicium entre le silicium élémentaire et son oxyde  $SiO_2$  (silice). A titre de comparaison, le déplacement chimique observé en ESCA entre Si et  $SiO_2$  n'est que de 4 eV pour la raie  $Si2p$  et intègre une profondeur d'analyse de 5 nm environ contre 1,5 nm pour l'AES.

Ce déplacement des raies Auger de type  $XVV$  peut s'accompagner d'une modification importante de leur forme spectrale, permettant à l'analyse Auger de fournir une « empreinte digitale » très précise des états de liaison chimique superficielle, avec une très bonne résolution en profondeur. C'est le cas du carbone (transition  $KVV$ ) où on peut distinguer sans ambiguïté les différentes liaisons et hybridations du carbone ( $sp^2$  graphite,  $sp^3$  diamant,  $sp^3$  carbure). La figure 4 illustre ceci pour la carburation d'une couche d'agrégats de carbone sur du silicium.

## II.6 Champs d'application et grandeurs caractéristiques

- métallurgie, ségrégation dans les métaux et alliages
- interaction gaz - surfaces, corrosion, catalyse, oxydation superficielle
- interfaces solide/solide, processus de croissance
- semi-conducteurs, interfaces métal/semi-conducteur
- couches minces métalliques, multicouches
- Faisceau primaire - électrons, énergie [500 eV à 10 keV], courant [100 nA à quelques  $\mu A$ ]
- Profondeur d'analyse : 0,4 à 5 nm
- Résolution spatiale latérale : 20 nm à 3  $\mu m$ , selon les appareils

## III. La photoémission induite par les rayons X (ESCA ou XPS)

L'acronyme ESCA (*Electron Spectroscopy for Chemical Analysis*), forgé par l'inventeur de la méthode, est souvent utilisé. Il est cependant très ambigu. Il existe en effet beaucoup d'autres spectroscopies d'électrons comme, par exemple, la spectroscopie Auger (AES) : toutes renseignent sur la chimie des échantillons. Cependant le point fort de l'**XPS (X-ray photoémission spectroscopy)** est sa possibilité d'analyser les liaisons chimiques.

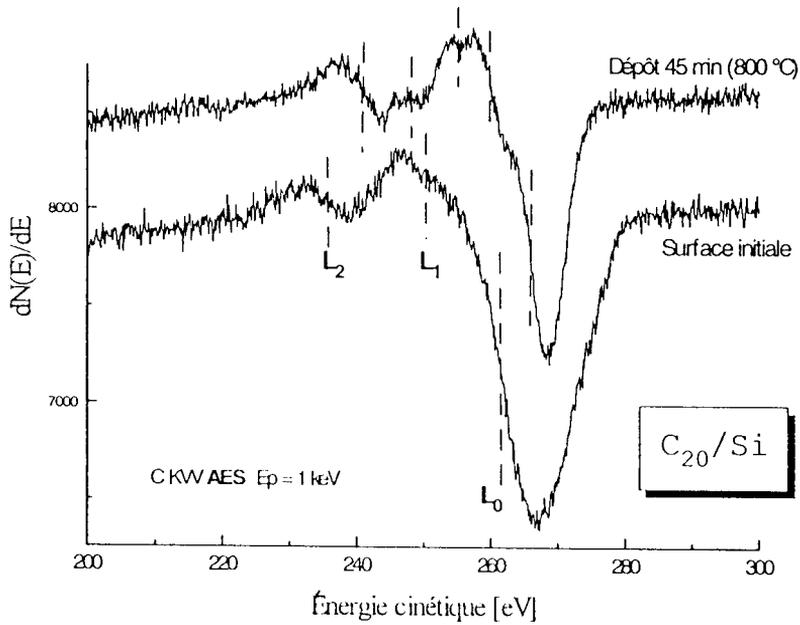


Figure 4 : Spectres Auger Si LVV en mode  $E \cdot dN(E)/dE$  pour des dépôts d'agrégats  $C_{20}$  sur du silicium (100). Bas = dépôt à température ambiante (type fullérène) ; haut = dépôt à 800 °C (type carbure) [7]

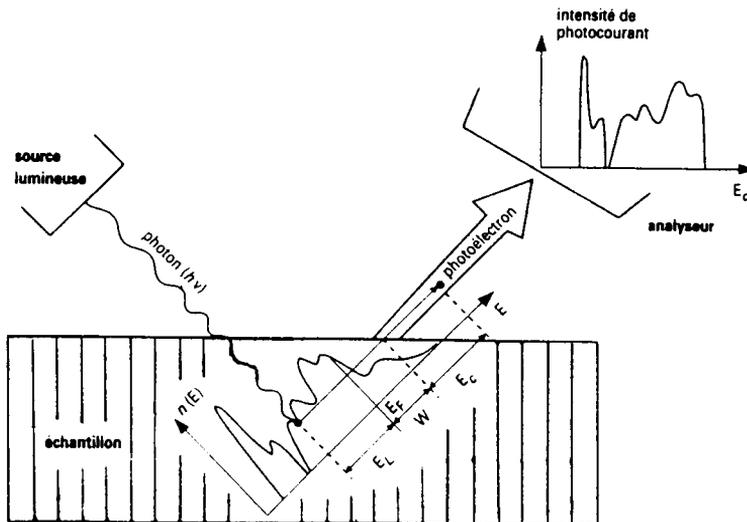


Figure 5 : Principe de la photoémission. On symbolise à l'intérieur de l'échantillon la courbe des états électroniques (niveaux de coeur, bande de valence, niveau de Fermi  $E_f$ ).  $W$  est le travail de sortie des électrons.

### III.1 Principes physiques

La photoémission induite par les rayons X se fonde sur l'ionisation de niveaux de coeur et donc l'émission de *photoélectrons*. Elle décrit des *états finals monoionisés* ce qui rend le calcul de l'énergie du photoélectron plus simple que dans le cas de l'émission Auger. Un faisceau de rayons X, d'énergie inférieure à 3 keV, qui peut être monochromatisé frappe l'échantillon à analyser. Des électrons appartenant à des niveaux de coeur ou à des orbitales de valence sont éjectés avec une énergie cinétique  $E_c$ , différence entre l'énergie incidente  $h\nu$  et leur énergie de liaison  $E_l$  dans leur atome d'origine (Fig. 5). Leur énergie est comprise entre 200 et 1500 eV. Elle correspond à des profondeurs d'échappement de 2 à 10 nm. La terminologie utilisée pour indexer ces pics se fonde sur la dénomination de l'état quantique du niveau ionisé (notation  $1s_{1/2}$ ,  $2s_{1/2}$ ,  $2p_{1/2}$ ,  $2p_{3/2}$ ,  $3d_{3/2}$ ,  $3d_{5/2}$ ,  $4f_{5/2}$ ,  $4f_{7/2}$ , ...).

L'énergie de liaison est une énergie potentielle qui dépend des interactions électron noyau. Si, dans un composé chimique, il y a un transfert de charge électronique entre deux atomes différents, liés entre eux, il y aura modification de l'énergie de liaison puisque les atomes ne subiront pas le même potentiel qu'en l'absence de transfert de charge. On appelle ceci un *déplacement chimique* (*chemical shift*). Il sera caractéristique de la liaison. Cette notion de déplacement chimique met en jeu des phénomènes de *relaxation électronique* des atomes souvent complexes à décrire. Le déplacement chimique ne sera donc pas toujours modélisable ni prédictible. Il faudra avoir recours soit à des standards, soit à des tables pour les interpréter [8-10]. Ces tables sont très sûres et d'un emploi aisé pour quiconque a des connaissances minimales en chimie et un peu de bon sens.

### III.2 Possibilités analytiques

#### III.2.1 Analyse qualitative

• Éléments => Tous sauf l'hydrogène.

• Échantillons => Solides massifs, poudres (pastillées sur de l'indium). Quelques expériences ont été faites sur les liquides, notamment dans le laboratoire du pionnier de la méthode : ce domaine est probablement riche de très grandes potentialités mais encore peu défriché en raison des problèmes technologiques qu'il suppose. Le rayonnement X n'affecte que très peu la surface, cependant le travail sur les *isolants* demande des précautions car il peut apparaître une charge superficielle de quelques eV due aux propriétés de *l'émission secondaire*. Cette charge peut devenir beaucoup plus grande si l'on utilise un rayonnement monochromatisé. Dans tous les cas on peut utiliser un *canon à électrons* auxiliaire délivrant des électrons de 10 à 100 eV qui servent à compenser la charge superficielle (canon de *décharge floodgun*). Cependant, le maniement de cet outil requiert certaines précautions.

• Liaisons chimiques => C'est de ce point de vue que la méthode est la plus utilisée et la plus fructueuse. Les déplacements chimiques sont de l'ordre de quelques eV à quelques dizaines d'eV. Dans la plupart des cas, ils sont proportionnels au transfert de charge électronique. On a donc une identification simple et rapide des liaisons chimiques spécialement pour certains éléments légers (carbone, soufre, ...).

La figure 6 illustre ce type d'identification pour une surface de polymère industriel (Nylon 6) traitée dans un plasma d'oxygène pour obtenir une fonctionnarisation de la surface. Dans certains cas, le processus de relaxation est plus complexe et il faut utiliser un diagramme reliant les énergies d'un pic de photoémission et d'un pic Auger (*paramètre Auger*). C'est le cas pour les éléments suivants : F, Na, Cu, Zn, As, Ag, Cd, In, Te. Certains satellites (dits de *shake-up* ou de *shake-off*) donnent des renseignements *qualitatifs* très sensibles à l'oxydation (cas du nickel notamment).

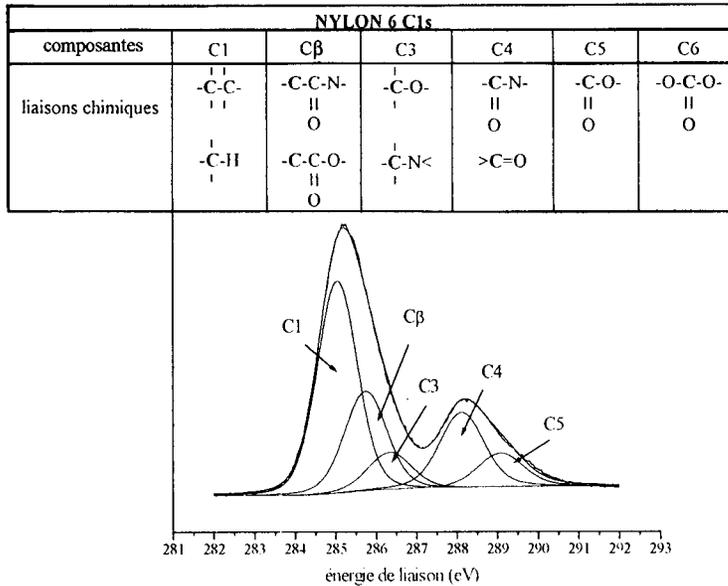


Figure 6 : Déplacements chimiques du pic C 1s sur un échantillon de Nylon 6 traité sous plasma d'oxygène [11].

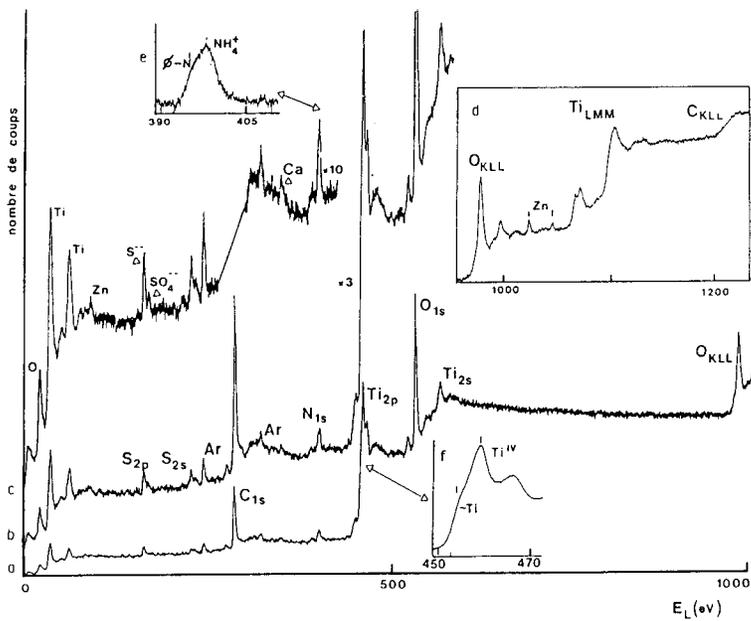


Figure 7 : Spectres XPS du titane passivé : a) x 1; b) x 3; c) x 10; d) x 1 de 900 à 1250 eV, e) N 1s, f) Ti 2p

- Résolution spatiale en profondeur => La résolution en profondeur varie de 2 à 5 nm selon l'énergie des pics de photoémission observables. Grâce à l'utilisation du bombardement ionique, il est possible de tracer des profils d'analyse chimique (profils de concentration, *depth profiling*) jusqu'à environ 1 µm de profondeur. Il convient cependant de se méfier de ces profils dans le cas des oxydes car l'interaction avec les ions introduit souvent des modifications des états d'oxydation. On peut aussi jouer sur l'angle d'émergence des photoélectrons pour obtenir des informations sur la distribution des divers atomes en profondeur. La plupart des configurations commerciales ne se prêtent guère à ce type d'étude.

- Résolution latérale en surface => C'est le point faible de l'XPS par rapport à la spectroscopie Auger. Dans les appareils conventionnels, les dimensions du faisceau-sonde sur la cible sont au mieux d'environ 3 x 3 mm<sup>2</sup>. Dans certains appareils modernes, l'aire du faisceau peut être de l'ordre de 15 x 15 µm<sup>2</sup>. Cette diminution de l'aire sondée se fait évidemment au détriment de la sensibilité.

- Analyse d'éléments présents simultanément => Le recouvrement des pics est peu fréquent. De plus, un élément est souvent caractérisé par plusieurs pics. Il y aura très peu d'ambiguïté sur l'attribution des divers niveaux de photoémission. On pourra donc analyser en même temps une dizaine d'éléments chimiques, qui peuvent être présents sous deux ou trois états de liaison chimique différents. La figure 7 illustre cette propriété dans un cas industriel (analyse d'une surface de titane passivée dans un milieu sulfurique).

### III.2.2 Analyse quantitative et sensibilité

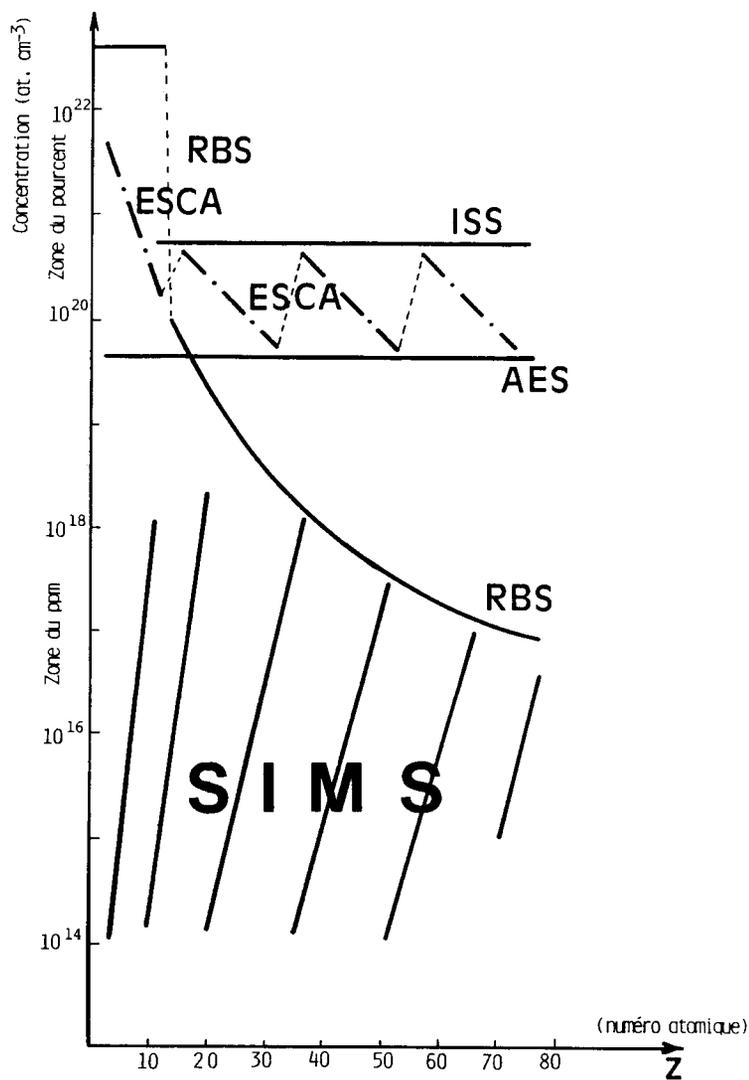
- Sensibilité => Rappelons que le domaine d'analyse couvre tous les numéros atomiques hormis l'hydrogène. On peut analyser la présence d'un atome extérieur pour cent ou pour mille de la surface du substrat. Les atomes lourds offrent la meilleure sensibilité, cependant c'est une des rares méthodes de surface avec l'AES qui renseigne sur les atomes légers (C, N, O, ... ) avec une bonne précision. Ces sensibilités correspondent à 10<sup>12</sup> à 10<sup>13</sup> at.cm<sup>-2</sup> et peuvent être comparées à celles d'autres méthodes sur la figure 8. Si l'élément dosé est réparti également dans **tout** le volume analysé, cela représente environ 0, 1 %. Mais si cet élément est *ségrégué* ou **déposé en surface**, cela peut correspondre à quelques ppm surtout si on peut faire l'analyse en incidence rasante.

- Quantitativité => On peut avoir une précision meilleure que 10% sur les concentrations des atomes présents au voisinage de la surface en utilisant des tables qui donnent des coefficients de sensibilité pour les diverses raies de photoémission. Cette précision peut être améliorée s'il y a peu d'atomes différents à analyser et si on peut utiliser des étalons. Beaucoup d'appareils sont dotés d'un logiciel calculant les concentrations superficielles. Ils n'offrent pas toujours des garanties suffisantes pour les matériaux « *tout-venant* ». Les résultats doivent donc être interprétés avec prudence, en particulier lorsque les analyses sont sous-traitées à un laboratoire d'analyse.

### III.3 Appareillage

Les appareils d'XPS commercialisés actuellement utilisent pratiquement tous le même type d'analyseur en énergie (HSA - analyseur hémisphérique). Il existe cependant des appareils à analyseur à double miroir cylindrique (CMA), notamment dans le matériel d'occasion. Les caractéristiques de la méthode et les conditions expérimentales d'utilisation sont en général les suivantes :

Vide => L'ultravide est nécessaire dans la chambre d'analyse. Rappelons que sous 10<sup>-6</sup> mbar, il suffit de quelques secondes pour recouvrir l'échantillon d'une couche monoatomique ou moléculaire (*monolayer* : ML) de gaz adsorbés (environ 0,2 nm). Les appareils modernes, munis de sas et de pompes différentielles pour isoler une chambre de préparation de la chambre d'analyse, permettent d'obtenir l'ultravide en moins d'un quart d'heure.



**Figure 8** : Comparaison des limites de détection de diverses méthodes d'analyse des surfaces en fonction du numéro atomique  $Z$ . Il s'agit de concentrations moyennes intégrées sur le volume testé par la méthode en supposant une répartition homogène.

Caractéristiques du faisceau X => On utilise les rayonnements caractéristiques d'énergie  $h\nu$  et de largeur de raie  $\Delta E$  suivante :

Al $K\alpha$	$h\nu = 1486,6 \text{ eV}$	$\Delta E = 1,0 \text{ eV}$	(0,5 eV si monochromatisé)
Mg $K\alpha$	$h\nu = 1253,7 \text{ eV}$	$\Delta E = 0,7 \text{ eV}$	(0,4 eV si monochromatisé)
Ag $L\alpha$	$h\nu = 2984,3 \text{ eV}$	$\Delta E = 2,3 \text{ eV}$	(toujours monochromatisé)
Zr $M\zeta$	$h\nu = 151,4 \text{ eV}$	$\Delta E = 0,8 \text{ eV}$	

Les appareils commerciaux sont en général équipés simplement d'une anode double Al/Mg. Le monochromateur, sans être toujours indispensable, permet de travailler en s'affranchissant d'un certain nombre de pics satellites. Son inconvénient est la réduction du signal. L'anode d'argent permet d'accéder à des énergies de liaison plus importantes et on profite du fait que l'énergie de sa raie caractéristique est à peu près le double de celle de l'aluminium pour utiliser le même monochromateur. L'anode de zirconium peut servir quand on veut limiter au maximum la profondeur d'échappement.

### III.4 Domaines d'application et grandeurs caractéristiques

Le choix de l'XPS se justifie tout particulièrement quand :

- la surface à étudier est homogène,
- la surface risque d'être modifiée chimiquement par une autre sonde (électrons),
- les atomes en surface ont des déplacements chimiques faciles à interpréter,
- il y a plusieurs types d'atomes avec des concentrations supérieures à *un pour mille*.
- l'épaisseur de la couche intéressante à étudier est de l'ordre de 10 nm.

On en conclut que l'analyse des échantillons métallurgiques, des polymères, des oxydes, des couches organiques déposées sur des métaux sera le point fort de l'XPS. Il est impossible de dresser une liste de tous les problèmes déjà étudiés en XPS. On se bornera donc à donner quelques domaines d'applications.

- **Polymères** => C'est sur le carbone, l'azote et le soufre que les déplacements chimiques sont les mieux connus. L'XPS est donc particulièrement utile à l'étude du vieillissement des polymères, de la délamination des peintures, de la modification de surface par flammage ou traitement plasma...
- **Tribologie** => Analyse des groupements actifs, des modes d'accrochage des molécules,
- **Pigments et surfactants** => Position des groupes actifs, couches molaires, membranes,
- **Catalyse** => Liaison des molécules adsorbées, caractérisation des sites d'adsorption,
- **Métallurgie** => Ségrégation, alliages de surface, couches anticorrosion, couches dures,
- **Nouveaux matériaux** => Structure électronique, modes de croissance, ...
- Faisceau primaire : rayons X, énergie [1253,7 eV (Mg), 1486,6 eV (Al)], intensité [quelques mA], puissance [de l'ordre de 1 00 à 200 W],
- Profondeur d'échappement des photoélectrons émis : 2 à 15 nm,
- Résolution spatiale latérale : quelques dizaines de  $\mu\text{m}$  à quelques mm selon les appareils.

**Références**

- [1] Woodruff D.P. and Delchar T. A., Modern techniques of surface science (Cambridge Solid State Science Series, 1984)
- [2] Somorjai G. A., Introduction to surface chemistry and catalyses (John Wiley & Sons, New York, 1994)
- [3] Seah M.P. and Dench W.A., *surf. interf. Anal.* **1** (1979) 2
- [4] Davis L.E., MacDonald N.C., Palmberg P.W., Riach G.E., and Weber R.E., Handbook of Auger Electron Spectroscopy (Perkin-Elmer Corp., Eden Prairie, Minnesota, USA)
- [5] Argile C. and Rhead G.E., *Surf. Sci. Rpt.* **10** (1989) 277
- [6] Barbier A., Thèse de l'université Louis Pasteur (Strasbourg, 1993)
- [7] Demuynck L., Thèse de l'université Louis Pasteur (Strasbourg, 1995)
- [8] Davis L.E., MacDonald N.C., Palmberg P.W., Riach G.E., and Weber R.E., Handbook of X-Ray Photoelectron Spectroscopy, Perkin-Elmer Corp. (Eden Prairie, Minnesota, USA)
- [9] Beamson G. and Briggs D., High Resolution XPS of Organic Polymers, The Scienta ESCA 3000 Database, (Wiley, Chichester, 1992) - repérages des spectres de polymères
- [10] Briggs D. and Seah M. Eds., Practical Surface Analysis, Volume 1 : Auger and X-Ray Photoelectron Spectroscopy, (Wiley, Chichester, 1994)
- [11] Léonard D., Bertrand P., Scheuer A., Prat R., Hommet J., LeMoigne J., and Deville J.-P., *J.Adh. Sci. Technol.* (sous presse)



*Quatrième partie*

# **Lutte contre la biodétérioration**

C. COMPÈRE et L. LEMOINE

J. CORDONNIER et Y. LÉVI

J. GOUDIAKAS, A. SEBELIN et F. SCHWARTZ

I. IGNATIADIS, M. AMALHAY, A. ABOU AKAR et C. COTICHE

B. BENAÏSSA

J.-L. CROLET

L. DUVIVIER, P. DEJONCKHEERE et P. VANMAELE

D. NOËL



# Chapitre 13

## Protection cathodique et Biofilm

Chantal COMPÈRE et Lionel LEMOINE

**Résumé.** Afin d'établir un bilan des effets possibles des micro-organismes sur la protection cathodique des alliages métalliques, une revue des principales études publiées dans le domaine est présentée après un bref rappel des critères de protection et des principaux mécanismes liés à la protection cathodique. Le cas de l'eau de mer est traité plus particulièrement.

### 1.Introduction

La protection cathodique est une méthode couramment employée pour lutter contre la corrosion des structures et équipements placés dans un électrolyte. Celui-ci peut être de l'eau douce suffisamment conductrice, de l'eau de mer, des sols de diverses natures. Cette méthode est applicable à tous les alliages métalliques mais elle est surtout appliquée aux aciers nus ou revêtus permettant d'obtenir un matériau peu coûteux et protégé contre la corrosion.

Les autres alliages peuvent aussi bénéficier de ce type de protection afin d'éviter la corrosion généralisée ou localisée, ou par ce qu'ils sont en contact électronique avec de l'acier lui-même protégé cathodiquement.

Généralement la protection est mise en place avant l'exposition de la structure ou de l'équipement dans le milieu. Elle peut être plus rarement appliquée après un certain temps d'exposition dans le milieu. Le fait de porter à un potentiel d'électrode plus négatif évite la réaction anodique de dissolution de l'alliage métallique, mais modifie également les cinétiques des réactions cathodiques, l'état de surface du matériau, les propriétés de l'environnement à proximité de la cathode. Dans un milieu "vivant" la colonisation de la surface par des micro-organismes suivie de macro-organismes se produit. Le métabolisme de ces organismes modifie les conditions de surface et modifie aussi les propriétés de l'environnement. Dans le cas d'alliages protégés cathodiquement, la fixation de micro-organismes peut modifier les critères de protection que se soit le potentiel de protection ou la demande en courant. De même la protection cathodique peut modifier les mécanismes de fixation et la vitesse de croissance des organismes.

Les utilisateurs de structures ou d'équipements protégés cathodiquement placés dans un milieu où la fixation des micro-organismes peut se produire se préoccupent de savoir d'une part s'il convient d'appliquer un dimensionnement particulier de la protection, d'autre part des effets à long terme sur le matériau. Pour cela de nombreuses études expérimentales ont été réalisées généralement sur des éprouvettes de taille réduite. Dans les recommandations de conception de la protection cathodique, on tient compte de la présence de micro-organismes notamment au niveau des critères de protection.

Afin d'établir un bilan des effets possibles des micro-organismes sur la protection des alliages métalliques, une revue des principales études publiées dans le domaine est présentée après un bref rappel des critères de protection et des principaux mécanismes liés à la protection cathodique. On traite plus particulièrement le cas de l'eau de mer.

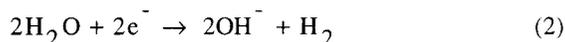
## II. Les mécanismes de la protection cathodique pouvant être influencés par le développement d'un biofilm.

Que se soit par courant imposé ou anodes sacrificielles, les réactions sur la cathode en milieu aqueux neutre ou alcalin sont:

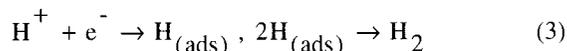
- la réduction de l'oxygène dissous



- la réduction de l'eau

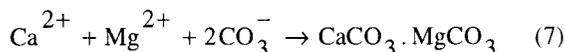
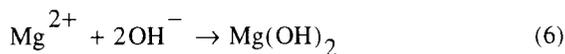
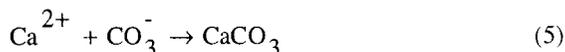
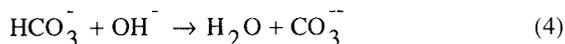


Ces réactions globales se font en fait en plusieurs étapes. Ainsi la réduction de l'oxygène dissous peut se faire par une série de réactions avec possibilité de formation d'eau oxygénée, toxique pour les organismes vivants. Toutefois sa présence n'a été que rarement mise en évidence [1]. Quant à la réduction de l'eau, un passage à l'hydrogène atomique adsorbé suivant l'équation (3) est admis [2].



Le transfert de charge des électrons dans le métal pour la génération d'espèces ioniques dépend du taux de recouvrement des espèces réagissantes sur la surface métallique. Les cinétiques des réactions sont contrôlées par la vitesse de transport des espèces vers la surface métallique (diffusion, convection), la rapidité du transfert de charge (mécanisme tafelien), la surface disponible pour les réactions (taux de recouvrement). Elles dépendent du potentiel d'électrode lui-même dépendant de la concentration des différentes espèces dans la solution. Le pH de la solution est donc très important. Il convient également de considérer que l'abaissement du potentiel d'électrode de la surface métallique rend instables certains oxydes et hydroxydes présents au potentiel de corrosion.

Les équations (1) et (2) provoquent une alcalinisation de la solution à proximité de la surface. Dans les eaux de mer ou douce chargées en sels dissous, la précipitation d'un dépôt de carbonate calcium et d'hydroxyde de magnésium se produira selon les équations suivantes :



Pour que ces réactions de précipitation soient thermodynamiquement possibles, le pH doit localement dépasser 8.3 pour le  $\text{CaCO}_3$  et 9.5 pour le  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  [3]. Ce dépôt aura pour effet de modifier les cinétiques des réactions contrôlées par diffusion ( $\text{O}_2$  dissous).

En eau de mer, la présence de ce dépôt est d'une grande importance, il limite la demande en courant nécessaire pour maintenir un potentiel cathodique protecteur et crée une barrière à la diffusion de l'oxygène ; des densités de courant élevées d'environ 200 mA/m favorisent sa formation rapide. En général, les dépôts riches en calcium sont plus protecteurs que ceux en magnésium ; il semblerait que  $Mg(OH)_2$  induise une fragilisation mécanique du dépôt. Le rapport Ca/Mg doit donc être le plus petit possible or la formation du dépôt est dépendante de nombreux paramètres dont le pH, la température, la teneur en Ca et Mg du milieu, la teneur en matière organique dissoute, la vitesse d'écoulement, la pression, le potentiel appliqué.

Le Tableau 1 [4] indique les valeurs en courant initiales et finales requises pour la protection cathodique de structures offshore d'acier dans différentes situations géographiques. Ces valeurs sont basées sur des mesures expérimentales et des données obtenues sur site. Les valeurs initiales sont déterminées afin d'assurer une polarisation rapide et complète de la structure et une formation d'un dépôt calcomagnésien.

Tableau 1 : Guide des densités de courant minimales pour une protection cathodique sur acier nu. D'après [4].

Régions	Densité de courant (mA/m <sup>2</sup> )	
	Initiale	Finale
Mer du Nord (secteur nord, 57° au 52° N)	180	120
Mer du Nord (secteur sud, jusqu'au 57° N)	150	100
Golfe d'Arabie	130	90
Inde	130	90
Australie	130	90
Brésil	130	90
Afrique de l'Ouest	130	90
Golfe du Mexique	110	80
Indonésie	110	80
Pipelines	50	40
Boue saline (température ambiante)	25	15

L'expérience en Mer du Nord à partir du 62°N est limitée. Des densités de courant initiales dans la gamme 250 à 300 mA/m<sup>2</sup> sont nécessaires pour obtenir une protection adéquate dans ces mers.

Les valeurs limites de potentiel qu'il est recommandé d'appliquer pour la protection cathodique d'un acier sont données dans le Tableau 2 [4-7]. Il est important de noter que pour les milieux anaérobies, les potentiels donnés sont plus bas que pour les milieux aérobies ; cette valeur est déterminée théoriquement afin d'autoriser une passivité de l'acier en présence de sulfures, [8,9].

Tableau 2 : Guide des potentiels de protection cathodique. D'après [4].

Environnement	Potentiel de protection	
	Limite positive	Limite négative
Eau de mer aérée	-800mV vs Ag/Ag/AgCl +250 mV vs Zinc	-1050mV vs Ag/Ag/AgCl 0 mV vs Zinc
Conditions anaérobiques	-900mV vs Ag/Ag/AgCl +150 mV vs Zinc	-1050mV vs Ag/Ag/AgCl 0 mV vs Zinc

La réduction de l'eau avec passage au stade d'hydrogène atomique adsorbé permet la pénétration d'hydrogène à l'état atomique dans le matériau avec des risques potentiels de fragilisation par l'hydrogène. Ces risques sont importants pour les alliages à haute limite d'élasticité et fortement sollicités mécaniquement. L'hydrogène peut aussi se recombinaer à l'état moléculaire dans le matériau de plus faible limite d'élasticité. C'est pourquoi des potentiels trop négatifs ne sont pas recommandés dû au risque de dégagement d'hydrogène trop important [10].

### III. Formation du biofilm

La formation d'un biofilm sur les surfaces exposées en eau de mer a fait l'objet de nombreuses études tant en milieu naturel qu'en laboratoire. Il ressort de ces études que la formation du biofilm microbien se fait selon plusieurs étapes. La première dans les minutes qui suivent l'immersion, correspond à l'adsorption de macromolécules organiques (exopolymères, glycoprotéines, acides humiques) et/ou inorganiques présentes dans le milieu ou sécrétées par les micro-organismes vivant dans ce milieu [11, 12]. Ces macromolécules absorbées constituent alors le film primaire. Celui-ci est essentiel car en modifiant certaines propriétés de surface (tension de surface, énergie libre de surface [13, 14], polarité, mouillabilité) du matériau il conditionne l'attachement ultérieur des bactéries.

Cet attachement intervient en deux étapes quelques heures après l'immersion [15 à 17]. Dans un premier temps, la fixation des bactéries est réversible sur le support puis, l'adhésion de ces micro-organismes est rendue irréversible par la sécrétion de polymères extra-cellulaires (exopolysaccharides à caractère acide) formant des ponts de fixation entre la cellule et la surface, comme illustré sur la Figure 1 [18].

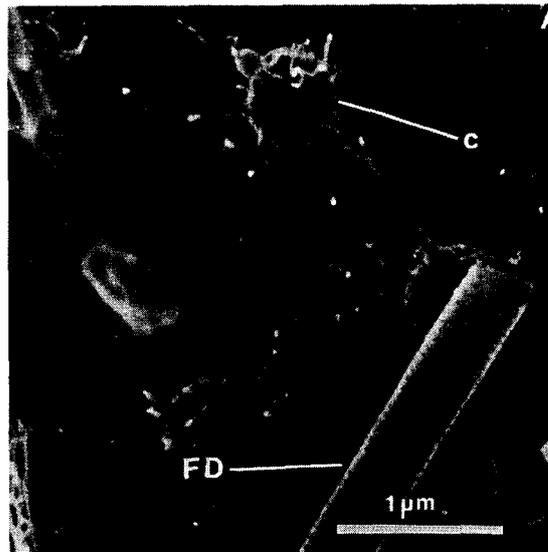


Figure 1 : Fixation irréversible de bactéries sur une surface. D'après Fera [17].

La fixation réversible des micro-organismes sur les surfaces met en jeu de faibles interactions entre le support et les cellules. La théorie DVLO, du nom de ses auteurs [19], explique la fixation réversible par des interactions électrostatiques et des forces de Van der Waals. Les micro-organismes, facilement détachables du substrat par simple rinçage, sont alors à une distance limite des surfaces, soit  $>3$  nm [20].

L'attachement irréversible des micro-organismes met en jeu, des interactions de haute énergie. Les forces intervenantes sont du type dipôle-dipôle, interactions Debye, interactions ion-dipôle, liaisons hydrogène, ou ponts polymériques. Ces exopolymères ont un rôle multiple, ils assurent l'attachement irréversible des micro-organismes aux surfaces mais également un rôle de piégeage des éléments nutritifs, matière organique et inorganique, nécessaires à la croissance bactérienne et protègent ces mêmes bactéries d'agressions de nature biochimiques, chimiques ou biologiques.

Une fois fixées, si les conditions physico-chimiques de l'interface leur sont favorables, les bactéries vont se multiplier sous forme de micro-colonies [21]. La fusion de ces colonies et de leurs sécrétions de polymères constitue le voile bactérien.

L'adhésion des bactéries, la formation du voile biologique et son développement dépendent de plusieurs facteurs dont la physico-chimie du milieu (température, salinité, oxygène dissous, teneur en matière organique, etc.), la nature du substrat, la micro-topographie de surface, les conditions hydrodynamiques au niveau des surfaces [21]. Une faible vitesse de circulation favorisera, dans un premier temps, la formation d'un film primaire et l'adhésion bactérienne, mais limitera dans une seconde étape, sa croissance. A l'opposée, de fortes vitesses de circulation et donc d'importantes forces de cisaillement engendrées au niveau des surfaces ralentiront la formation du film primaire et l'adhésion bactérienne mais permettront une croissance rapide du biofilm fixé par apport important d'éléments nutritifs.

## IV. Interactions entre biofilm et protection cathodique en milieu aérobie

### IV.1 Influence de la protection cathodique sur l'attachement des bactéries

Un certain nombre d'études ont été menées concernant les premières étapes de fixation du biofilm sous protection cathodique tant en eau de mer naturelle qu'artificielle. Celles-ci s'avèrent contradictoires.

Maines et al [23] ont récemment démontré que l'attachement de bactéries, provenant de milieu de culture, est réduit sur aciers inoxydables et acier 50D soumis à une protection cathodique, en eau de mer. Cette observation est accentuée pour des potentiels d'électrode plus négatifs.

Tableau 3: Nombre de bactéries fixées sur acier 50D en fonction de potentiels cathodiques appliqués. Suspension bactérienne introduite  $10^5 \text{ ml}^{-1}$ . D'après Videla et al [23].

Niveau de protection	A (cellules/cm <sup>2</sup> )	B (cellules/cm <sup>2</sup> )
non protégé	$3.7 \cdot 10^6 \pm 6.8 \cdot 10^5$	$1.0 \cdot 10^5 \pm 2.3 \cdot 10^4$
-800 mV/SCE	$6.3 \cdot 10^5 \pm 1.0 \cdot 10^5$	$3.8 \cdot 10^4 \pm 7.6 \cdot 10^3$
-1000 mV/SCE	$1.5 \cdot 10^5 \pm 4.2 \cdot 10^4$	$1.1 \cdot 10^4 \pm 3.8 \cdot 10^3$
-1200 mV/SCE	0	$3.8 \cdot 10^3 \pm 2.3 \cdot 10^3$

A: Comptage direct sur les échantillons par épifluorescence (surface des champs  $0.0264 \text{ mm}^2$ )

B: Comptage indirect, après grattage des échantillons, par épifluorescence (surface des champs  $0.0264 \text{ mm}^2$ )

Ces résultats sont confirmés par Videla et al [24], en eau de mer artificielle sur aciers inoxydables. De même, d'après Littauer et al [25], il semblerait qu'une polarisation cathodique pulsée ralentisse le développement d'un biofilm.

Maines et al. avancent différentes hypothèses pour expliquer ce phénomène. Le fait de polariser cathodiquement une surface chargée négativement celle-ci. Les bactéries chargées elles-mêmes négativement [26] seraient repoussées du fait des forces électrostatiques. Les polysaccharides chargés également négativement et servant à l'adhésion des bactéries n'autoriseraient plus la fixation. Cependant les bactéries sont capables de s'attacher à des surfaces chargées négativement en utilisant des cations divalents comme le calcium et le magnésium comme agent de pontage [27]. Cooksey et al [28] montrent que l'adhésion de diatomées marines à la surface du verre se faisait par l'intermédiaire du calcium. La précipitation d'hydroxyde de magnésium et de carbonate de calcium due à l'augmentation de pH ne permettrait plus aux bactéries d'en trouver de disponible pour leur adhésion.

Dahr et al [29] soutiennent, quant à eux, la thèse de réactions chimiques en surface, telles que la production éventuelle d' $H_2O_2$ , pouvant réduire le nombre de bactéries susceptibles de se fixer et l'augmentation de pH interfacial réduisant les forces de Van der Waals et les interactions double couche des bactéries avec la surface cathodique.

Quant à Guezennec et al [29], ils indiquèrent que, pour des temps courts de polarisation, 1 à 7 jours, l'attachement des bactéries sur aciers inoxydables n'est pas influencé par la protection cathodique, Tableau 4.

Tableau 4: Influence de la protection cathodique sur l'attachement de bactéries sur aciers inoxydables d'après Guézennec et al. [29].

Potentiel cathodique (mV/ECS)	Eau de mer naturelle (cellules/cm <sup>2</sup> )	Eau de mer stérile + V. Natrigens (cellules/cm <sup>2</sup> )
-700	3.2 10 <sup>5</sup>	4.6 10 <sup>6</sup>
-800	4.1 10 <sup>5</sup>	2.9 10 <sup>6</sup>
-900	2.8 10 <sup>5</sup>	1.2 10 <sup>6</sup>
Pot. libre	5.2 10 <sup>5</sup>	6.4 10 <sup>6</sup>

#### IV.2 Influence du voile biologique sur la protection cathodique en milieu aérobie

L'influence du voile biologique sur la protection cathodique en milieu naturel n'est pas très bien définie. Les études entreprises présentent de nombreuses contradictions dues essentiellement à la grande diversité des conditions expérimentales et à la difficulté de recréer en laboratoire des conditions d'eau de mer naturelle. De nombreuses études [31, 32] ont mis en évidence les différences importantes entre conditions d'eau de mer naturelle, eau de mer artificielle ASTM, eau de mer stérilisée puis inoculée. Ainsi Guezennec et al [32] ont montré, lors de l'étude de l'influence d'un biofilm sur la protection cathodique, de grandes différences de demandes en courant en milieu de monoculture en eau de mer enrichie comparativement à l'eau de mer naturelle. Ces considérations sont importantes pour l'interprétation des divers résultats cités par la suite concernant les interactions biofilm et protection cathodique.

Sous protection cathodique, le dépôt calcomagnésien se forme rapidement, en milieu naturel, les micro-organismes croissent également rapidement sur cette surface et sont piégés à l'intérieur même du dépôt au fur et à mesure de sa précipitation. Par la suite, le dépôt continue de croître autour de ces organismes, les enrobant même complètement dans certains cas, Figure 2 [33].

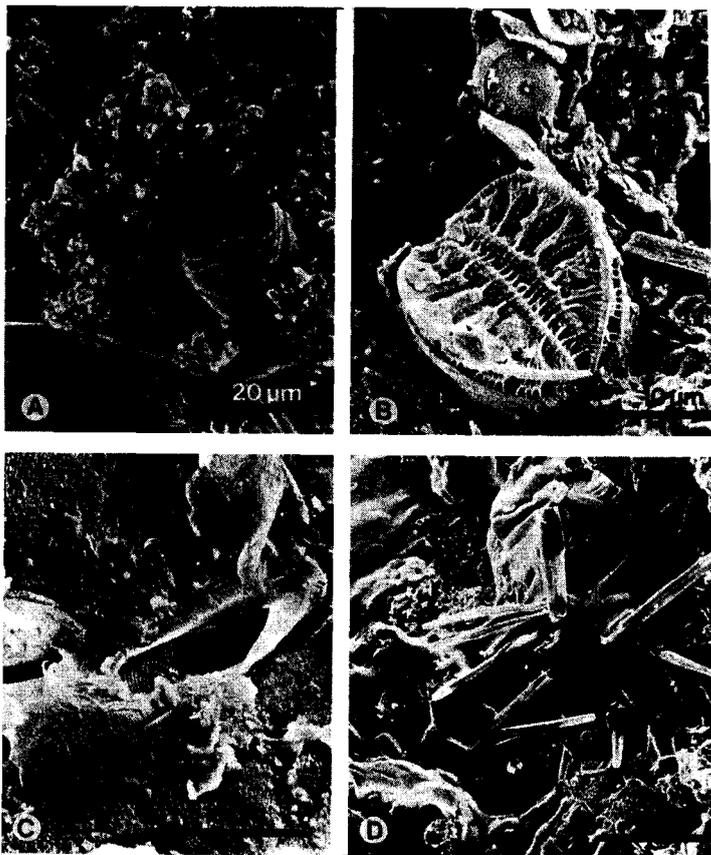


Figure 2 : Micro-fouling sur acier. A Diatomées (D) piégées dans les produits de corrosion. B. Diatomées (M=Melosira C =Campylodiscus sp.) piégées dans le dépôt de carbonate sur l'acier protégé. C. Restes de diatomées ensevelies sous le dépôt de carbonate. D. Diatomées benthiques produisant un mucilage important sur le dépôt. Toutes les photos sont prises après 100 jours d'immersion. D'après Édyvean [33].

La présence de ce biofilm peut modifier la formation et l'adhérence du dépôt de diverses manières. Les micro-organismes peuvent aussi altérer la structure de ce dépôt et spécialement la nature du carbonate de calcium. En présence de magnésium, le  $\text{CaCO}_3$  précipite, en eau de mer, sous forme d'aragonite puis de calcite. En effet, Mg pénètre le réseau cristallin de calcite augmentant considérablement sa solubilité [34]. Mais la vitesse de précipitation influence de façon importante la nature du dépôt, si celle-ci est rapide l'aragonite se formerait préférentiellement, si elle est lente, la calcite se formerait. Les produits du métabolisme des bactéries et des micro-algues, des composés organiques tels que malate, lactate, succinate... retarderaient la vitesse de précipitation favorisant ainsi la formation de calcite plutôt que d'aragonite [34].

Cependant Lippman [36] suggère que les ions  $Mg^{2+}$  complexés par les composés organiques ne peuvent plus empêcher la formation de calcite et/ou que ces composés organiques sélectivement adsorbés sur les surfaces d'aragonite inhibent sa croissance.

Dans les autres phases de fixation des différents organismes, certaines algues se développant sur des surfaces d'acier protégées cathodiquement peuvent détruire localement le dépôt calcomagnésien formé [37].

La modification du dépôt calcomagnésien peut se produire mécaniquement mais également chimiquement. Ainsi, certaines bactéries aérobies peuvent produire des acides et modifier le pH de la solution. Or, un abaissement de pH peut provoquer localement une dissolution du dépôt calcomagnésien. Ainsi B. Little et al [38] ont ainsi montré que des bactéries aérobies productrices d'acide acétique, colonisant une surface d'acier inoxydable sous protection cathodique, (-900mV/ECS), en eau de mer synthétique, dissolvaient localement le dépôt. En fait, une forte modification du rapport Ca/Mg est obtenue pour un dépôt formé sous protection cathodique en milieu eau de mer stérilisée et inoculée à l'aide de *Vibrio Natrigens* d'après J. Guézennec et al. [30] [39] comme le montre le Tableau 5.

Tableau 5 : Détermination du rapport Ca/Mg sur aciers inoxydables protégés cathodiquement d'après Guézennec et al. [30].

Potentiel cathodique (mV/ECS)	Eau de mer naturelle	Eau de mer stérile	Eau de mer stérile + <i>V. Natrigens</i>
-700	(Ca)	3.3	6.1
-800	110-135	2.2	2.9
-900	47-48	1.1	1.6
Pot. libre	0.5-0.6	4.6	19

La diminution de pH mais également la modification de l'environnement chimique par ces bactéries produisant de l'acide acétique sont donc responsables d'une dépoliarisation cathodique de l'acier inox en eau de mer artificielle. L'efficacité de la protection cathodique s'en trouve fortement changée et une augmentation de la demande en courant se produit, Figure 3, [40]. Par contre ces mêmes auteurs démontrent que le voile biologique a très peu d'influence sur la protection d'aciers inoxydables en eau de mer naturelle dans les premiers jours d'immersion, de 1 semaine à 15 jours [32].

Johnsen et Bardal [41] ont plus spécifiquement étudié les effets du biofilm sur les densités de courant cathodiques d'aciers inoxydables polarisés à -400 mV/ECS. La densité de courant cathodique faible durant les premiers jours de polarisation augmente très rapidement et de façon importante en raison de la formation d'un biofilm. Par la suite, la densité de courant diminue lentement à cause d'un contrôle diffusionnel plus important et d'une précipitation de sels de Ca et Mg possible, la valeur critique de pH étant atteinte. Des changements des propriétés cathodiques de la surface du métal résultant de l'action catalytique du biofilm sont responsables de l'augmentation de la densité de courant après quelques jours de polarisation [41, 42]. Scotto et al [43] appuient la thèse d'une action enzymatique catalytique des micro-organismes sur la réaction de réduction de l'oxygène alors que d'autres auteurs privilégient l'action catalytique des ions métalliques piégés dans le biofilm sur la réaction de réduction [44].

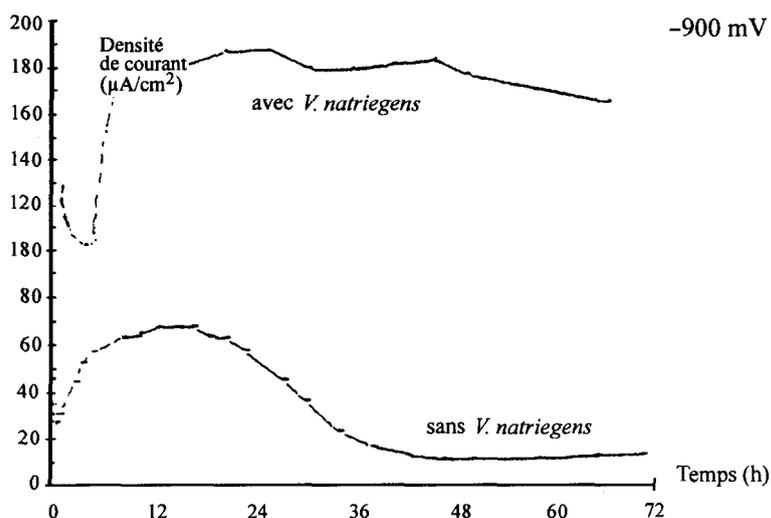


Figure 3 : Evolution de la demande en courant cathodique d'un acier inoxydable à -900mV/ECS en présence et absence de *V. Natriegens*. D'après Guézennec et al.[40].

Dexter [45] a suivi les effets d'un biofilm préexistant sur les paramètres de protection cathodique. Selon les valeurs de densités de courant appliquées, le biofilm augmente ou diminue l'efficacité de la protection cathodique. A faibles densités de courant, le biofilm est responsable d'une dépolarisation cathodique nécessitant un courant de protection plus important alors qu'à hautes densités de courant, le dépôt calcomagnésien combiné au biofilm a un rôle bénéfique de barrière de diffusion.

En milieu oxygéné, la demande en courant est conditionnée par la réaction de réduction de l'oxygène dissous. Le biofilm peut agir comme une barrière de diffusion et limiter l'accès d'oxygène à la surface du matériau [46]. Des études de détermination de coefficient de diffusion de l'oxygène à travers un biofilm développé à la surface d'électrodes d'or sont actuellement menées à l'Ifremer, en eau de mer et eau douce, [47]. Dans les autres phases de fixation des différents organismes, la présence d'algues et leur activité de photosynthèse modifie la concentration en  $O_2$  dissous et donc la demande en courant. D'épais dépôts provoquent la formation d'une barrière de diffusion importante, et dans ce cas la demande en courant décroît. Mais, d'une part cette couche peut s'avérer résistive et empêcher la polarisation de la structure permettant ainsi des corrosions localisées, d'autre part, des conditions anaérobies peuvent alors se créer sous cette couche et favoriser alors la formation de zones désoxygénées avec le développement de bactéries sulfato-réductrices.

En conclusion, les effets attribuables au biofilm sur les conditions de polarisation d'un alliage métallique sont suffisamment importants pour qu'il convienne de considérer sa présence dans des milieux naturels lors la conception des systèmes de protection cathodique. Toutefois il n'est pas clairement établi que son rôle soit prépondérant sur la formation des dépôts calcaires et sur leur efficacité. En eau douce cet effet est peut être plus important. Une grande dispersion des résultats est obtenue suivant les différentes conditions d'études et soulève la grande prudence pour d'éventuelles comparaisons entre le milieu naturel et le milieu synthétique inoculé.

## V. Interactions entre le biofilm et la protection cathodique en milieu anaérobie

Les conditions anaérobies avec des éléments nutritifs favorables pour le développement de bactéries se trouvent en milieu naturel dans les sols, sous les dépôts organiques ou minéraux, dans des cuves de stockage d'hydrocarbures, des pipes,... Les études menées ont surtout concerné l'effet de la présence de ces bactéries sur des aciers protégés cathodiquement soit dans des sols soit en eau de mer. Dans les milieux anaérobies la présence de bactéries sulfato-réductrices est le principal danger pour la corrosion des alliages métalliques et plus particulièrement l'acier. Ces bactéries ont la particularité de réduire les sulfates en sulfures. Elles utilisent les sulfates comme accepteurs d'électrons lors de l'oxydation anaérobie des substances organiques ou inorganiques. Les produits de réaction conduisent à la formation de sulfures d'hydrogène, sulfures de fer. Certaines espèces ont cependant la possibilité d'utiliser d'autres ions, tel l'ion sulfite, l'ion thiosulfate, ou même le soufre élémentaire comme accepteur d'électrons.

Dans de telles conditions anaérobies, le potentiel de protection doit être abaissé aux environs de  $-900$  mV/ECS pour éviter la corrosion de l'acier. Sur la base de considérations thermodynamiques, Hovarth et Novak [9] proposèrent dès 1964 une valeur de potentiel de protection de  $-0.95$  V/Cu/CuSO<sub>4</sub> en présence de bactéries sulfato-réductrices. Si ces conditions sont respectées, la corrosion ne se produit plus et les risques concernent essentiellement la fragilisation par l'hydrogène.

### V.1 Influence de la protection cathodique sur l'attachement des bactéries

Des études réalisées, par Guézennec et al [48, 49], dans des sédiments ont mis en évidence une modification de la structure de la population bactérienne et une croissance des bactéries à hydrogénase positive, sous protection cathodique à des potentiels voisins ou inférieurs à  $-1000$  mV/AgAgCl. La Figure 4 donnant l'évolution de la structure de la population bactérienne en fonction du potentiel cathodique après 1 mois de polarisation confirme ces résultats.

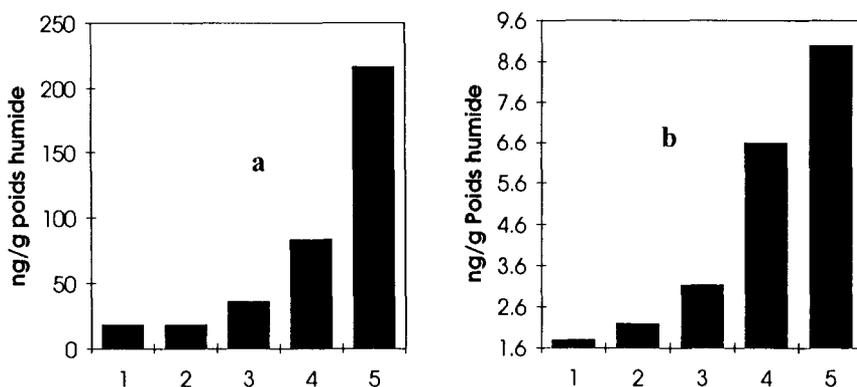


Figure 4 : Évolution de la structure de la population bactérienne en fonction du potentiel de protection cathodique après 1 mois : a) biomasse totale, b) concentration en acide gras caractéristique d'une espèce de bactérie sulfato-réductrice.

1 : potentiel libre, 2 :  $-700$  mV/ECS, 3 :  $-800$  mV/ECS, 4 :  $-900$  mV/ECS, 5 :  $-1000$  V/ECS. D'après Honegger et al. [48].

Par contre, pour des potentiels voisins de  $-1200$  mV/ECS, P. Watkins et al [50] indiquent une réduction de l'attachement des bactéries sur les surfaces protégées cathodiquement quels que soient les milieux étudiés et les cultures bactériennes employées. L'augmentation du pH et le fort dégagement gazeux d'hydrogène à la surface seraient responsables du faible attachement de bactéries dans ces conditions. La formation du biofilm dépend du potentiel appliqué, du type de sulfato-réductrices et du milieu étudié.

De plus, la diminution du potentiel redox du milieu lors de l'application de la protection cathodique tend à favoriser la croissance des bactéries sulfato-réductrices [51].

L'attachement des bactéries anaérobies sous protection cathodique dépend très fortement des valeurs de potentiel appliquées. Ainsi, l'évolution du nombre de bactéries sur acier doux, en eau de mer naturelle, en fonction du potentiel appliqué est donnée par la Figure 5 [52].

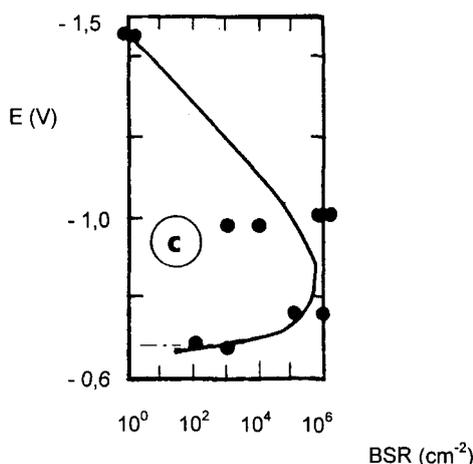


Figure 5 : Corrélation entre potentiel cathodique appliqué sur acier doux et nombre de cellules BSR par  $\text{cm}^2$ . D'après Nekoksa et al. [52].

## V.2 Influence du voile biologique sur la protection cathodique en milieu anaérobie

Dans le cas de la protection cathodique, l'hydrogène produit par la réduction des protons ou de l'eau peut être utilisé par certaines bactéries comme donneur d'électrons, le sulfate comme accepteur d'électrons [53]. Il en résulterait d'une part une dépolarisation cathodique et une reprise importante de la réaction anodique, d'autre part la formation de sulfures,  $\text{HS}^-$  et surtout  $\text{H}_2\text{S}$  agirait comme un "poison" pour la recombinaison à l'état moléculaire de l'hydrogène atomique favorisant ainsi les mécanismes de fragilisation par l'hydrogène. Cette théorie reste cependant incompatible avec les connaissances actuelles de l'électrochimie moderne d'après Crolet [54]. Il a été démontré que la présence de bactéries sulfato-réductrices augmentait sensiblement la concentration de surface en hydrogène [55], (Figure 6). D'après Robinson et al [56], l'absorption d'hydrogène est indirectement favorisée par la formation de  $\text{H}_2\text{S}$  ou éventuellement d'un autre métabolite, plutôt que par un effet direct des bactéries sulfato-réductrices. Ce phénomène est d'une importance cruciale pour toutes les structures soumises à des efforts de traction avec risques de fissurations par corrosion sous contrainte ou, dans le cas de recombinaison à l'état moléculaire dans le matériau, à des risques de fissurations induites par l'hydrogène.

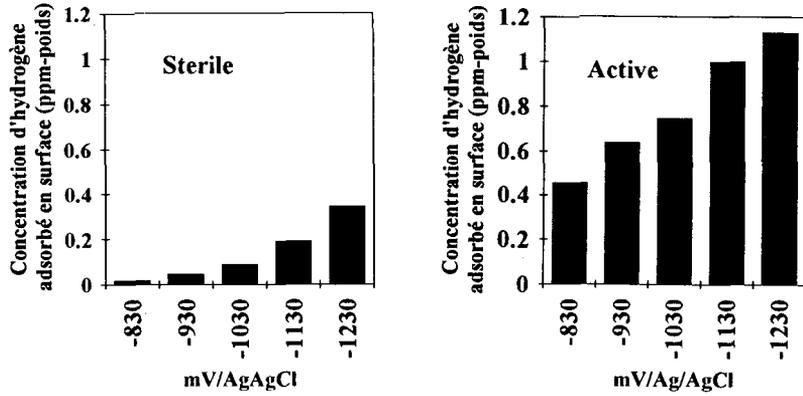


Figure 6 : Comparaison des concentrations d'hydrogène adsorbé en surface pour des eaux de mer stérile et active obtenues à différents potentiels cathodiques. D'après Kigallon et al. [55].

Des relations existent entre la concentration de surface en hydrogène et le seuil de contraintes nécessaires pour la propagation d'une fissure. Ainsi par détermination de cette concentration, il est possible d'établir les risques de rupture du matériau. La présence de bactéries sulfato-réductrices augmente de manière très sensible ce risque. En fait, la concentration totale de  $H_2S$ ,  $HS^-$ ,  $S^{2-}$  et composés de sulfures de fer du type  $Fe_xS_y$ , reliée à l'activité bactérienne, fournit une indication de la capacité du milieu à accroître l'adsorption de l'hydrogène en surface beaucoup plus significative que le nombre de bactéries [55]. Il est clair que dans des conditions de concentrations élevées d'hydrogène en surface, les vitesses de propagation de fissures en corrosion sous fatigue sont augmentées (Figure 7), [57], notamment sur des aciers à haute limite d'élasticité.

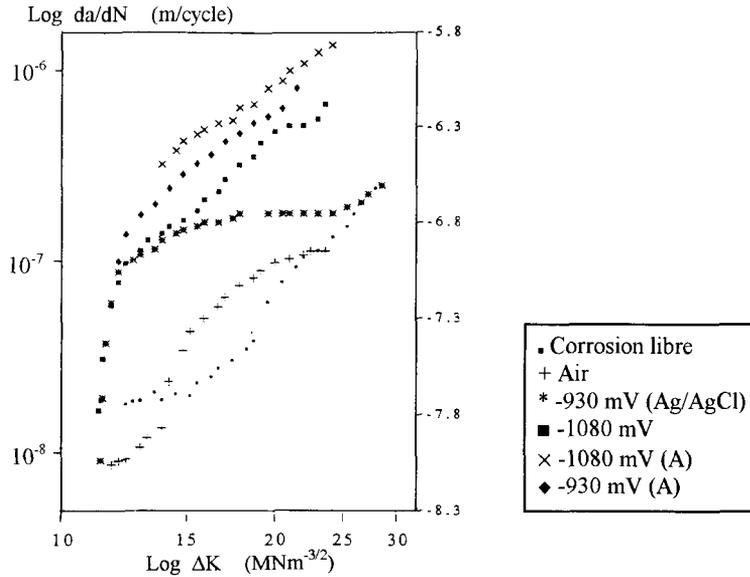


Figure 7 : Données de corrosion sous fatigue pour un acier SE500 dans une eau de mer stérile et active (A), 0.5 Hz & R=0,6. D'après Kigallon et al. [55].

La protection cathodique favorise le développement des bactéries sulfato-réductrices et même si les risques de corrosion sont supprimés, il convient de considérer des risques de contamination par convection à des ouvrages voisins non protégés cathodiquement et une éventuelle corrosion bactérienne avec des vitesses de corrosion pouvant atteindre plusieurs mm/an.

Des tests en conditions réelles sont souhaitables avant toute installation de protection cathodique sur structure. En effet, les caractéristiques de tout environnement peuvent modifier les critères d'efficacité d'une protection cathodique, en présence d'un milieu bactérien. Ainsi, des essais réalisés sur site par la Florida Power Corporation et l'Electric Power Research Institute indiquent une efficacité de protection voisine de 80% sur acier doux polarisés à  $-1.0V/ECS$  et de 40% à  $-0.75V/ECS$ , en présence de bactéries sulfato-réductrices, contrairement à l'efficacité 90-95% prévue [52].

## VI. Conclusions

La protection cathodique est efficace en présence de biofilm, elle permet d'éviter la dissolution anodique des alliages métalliques. Les effets de l'établissement d'un biofilm sur de l'acier protégé cathodiquement sont cependant suffisamment importants pour être pris en compte dans la conception de la protection au stade même du dimensionnement.

En **milieu aérobie**, il a été montré :

- °une réduction du nombre de bactéries fixées pour des potentiels appliqués plus bas,
- °une modification de la composition du dépôt calcomagnésien ( rapports Ca/Mg et calcite/aragonite),
- °une décomposition locale du dépôt par acidification due aux produits de métabolisme
- °une modification des propriétés physico-chimiques en surface ( pH, concentration en Ca et Mg, concentration en  $O_2$  dissous,...),
- °un rôle de barrière diffusionnelle des biofilms,
- °une action enzymatique catalytique des micro-organismes ou des ions métalliques piégés dans le biofilm sur la réaction de réduction de l'oxygène.

Il est donc important de considérer les données obtenues en milieu naturel pour le choix des paramètres de protection cathodique à appliquer à toute structure.

En **milieu anaérobie**, il a été montré :

- °la nécessité d'un critère de protection en potentiel plus électro-négatif,
- °un risque considérable de fragilisation par l'hydrogène lié à la présence de bactéries sulfato-réductrices
- °une fragilisation par l'hydrogène grandement favorisée dans le cas des aciers à plus haute limite d'élasticité (rupture différée, fatigue),
- °un développement des bactéries sulfato-réductrices favorisé par la protection cathodique,
- ° une présence de telles bactéries doit être détectée sur des ouvrages protégés cathodiquement comme ceux ne l'étant pas.

Il convient cependant d'être prudent, en effet, on note des différences importantes entre les données sur site et celles obtenues en laboratoire ( eau de mer artificielle ASTM, eau de mer stérilisée puis inoculée ) tant au niveau énumération bactérienne que cinétique de formation du dépôt calcomagnésien.

## Références

1. J.P. Hoare, *The Electrochemistry of Oxygen*, J. Wiley & Sons (eds.), Interscience Publishers, 1968.
2. J.O'M. Bockris, H. Mauser, *Corr.J. Chem*, 37, pp. 475, 1971.
3. G. Philipponeau, Thèse: "Influence de divers facteurs: dépôt calcomagnésien, présence de sulfures:  $H_2S$  ou  $HS^-$ , teneur en cuivre, sur les comportements électrochimique et mécanique d'aciers faiblement alliés, polarisés cathodiquement ou non en milieu marin", 1982.
4. Det Norske Veritas, *Cathodic protection design*, Veritas Recommended Practice RPB 401, March 1986.
5. Det Norske Veritas, *Rules for submarine pipelines systems*, Oslo, 1981, reprinted sept. 1982.
6. National Association of Corrosion Engineers. *Control of corrosion of offshore steel pipelines*, NACE publication RP-06-75, (Houston, Texas), 1975.
7. National Association of Corrosion Engineers. *Corrosion control of steel fixed offshore platform associated with petroleum production*, NACE publication RP-01-76, (Houston, Texas), 1983.
8. R.A. King, *Marine Corrosion on Offshore Structures*, Society of Chemical Industry, pp. 23, 1981.
9. J. Hovart and M. Novak, *Corrosion Science*, 4 (1964) 159.
10. A. Bignonnet, "Corrosion fatigue of steel in marine structures. A decade of progress", *Steel in Marine Structures*, C. Noodhoeck and J. de Back (eds.), Elsevier Science Publishers, B.V., Amsterdam, pp. 119-135, 1987.
11. R. Neihof, G. Loeb, "Molecular fouling of surfaces in the seawater" in : *Proceedings of the Third International Congress on Marine Corrosion and Fouling*, National Bureau of Standards, Gaithersburg, MD: 710-718, 1972.
12. R.E. Baier, "Influence of the initial surface condition of materials on bioadhesion" in: *Proceedings of the Third International Congress on Marine Corrosion and Fouling*, National Bureau of Standards, Gaithersburg, MD: 633-639, 1972.
13. M. Fletcher and J. H. Pringle, *J. of Colloid and Interface Science*, Vol. 104, N°1, pp. 5-14, 1985.
14. W. A. Zisman, *Adv. Cem. Ser.*, 43, pp. 1-51, 1964.
15. K.C. Marshall, R. Stout, R. Mitchell, *J. Gen. Microbial.*, 68, pp. 337-348, 1971.
16. M.S. Powell, N.K.H. Slater, *Biotech. Bioeng.*, 25, pp. 891-900, 1983.
17. I.D. Robb, "Stereo-biochemistry and function of polymers," in *Microbial Adhesion and Aggregation (Dahlem Konferenzen)*, K.C. Marshall (ed.), Springer-Verlag, Berlin, pp. 39-49, 1984.
18. P. Fera, Thèse Université Bretagne Occidentale, "Etude expérimentale de la colonisation par les bactéries de surface immergées en milieu marin", 1985.
19. D.C. Ellwood, C.W. Keevil, P.D. Marsh, C.M. Brown, J.N. Wardell, *Phil. Trans. R. Soc. Lon.*, 297, pp. 517-532, 1982.
20. B.A. Pethica, "Microbial and cell adhesion," in , *Microbial Adhesion to Surfaces*, R.C.W. Berkeley, J.M. Lynch, J. Melling, P.R. Rutter and D. Vincent (eds.), Ellis Horwood, Chichester, pp. 19-45, 1980.
21. A.L. Mills, R. Maubrey, *Micro. Ecol.*, pp. 315-322, 1981.
22. J. Guezennec, P. Fera, *Rev. Française de l'IFP*, Vol. 42, n°5, pp. 599-617, 1987.
23. A.D. Maines, L. V. Evans and R.G. J. Edyvean, "Interactions between marine microbiological fouling and cathodic protection scale" in: *Proceedings of 2nd International EFC Workshop on Microbial corrosion*, Portugal, pp.213-220, 1991.
24. H.A. Videla, S. G. Gomez de Saravia, M.F.L. de Mele, G. Hernandez, W.H. Hartt, *Corrosion /93*, paper n° 289, (Houston,TX/National Association of Corrosion Engineers,1993).

25. E. Littauer, D. M. Jennings, Proc. 2nd Int. Cong Marine Corrosion and Fouling, pp. 527, 1968.
26. P. Broedelius and E.J. Vandamme, "Immobilised cell systems" in : Biotechnology, Vol. 7a : Enzyme technology. (H.J. Rehm, G. Reed, eds. J.F. Kennedy (vol ed), VCH Publishers, Germany, pp. 413, 1987.
27. W.G. Characklis, K. E Cooksey, Adv. Appl. Microbiol., 29, pp.93-138, 1983.
28. K.E. Cooksey, Appl. Env. Microbiol., 41, pp.1378-1382, 1981.
29. H.P. Dahr, D. W. Howell and J. O'M. Bockris, J. Electrochem. Soc., 129, pp. 2178-2182, 1982.
30. J. Guezennec, E. Antoine, M. Conte, Matériaux et Techniques, 1992.
31. G. Hernandez, Thèse Université Tech. Compiègne, 1989.
32. J. Guezennec, E. Antoine, Matériaux et Techniques, 1990.
33. R.G.J. Edyvean, "Interactions between microfouling and the calcareous deposit formed on cathodically protected steel in seawater" in: 6th Int. Congress on Marine Corrosion and Fouling, Athens, Grece, 5-8 sept. 1984.
34. Y. Kitano, N. Kanamuri and S. Yoshioka, in : The mechanisms of mineralization in invertebrates and plants, Watabe, N. and K.M. Wilbur (eds.). University of S. Carolina Press, S. Carolina, U.S.A, pp. 191-202, 1975.
35. Y. Kitano, D.W. Hood, Geochim et Cosmochim. Acta, pp. 29, 1965.
36. F. Lippmann, Sedimentary Carbonate Minerals. Springer-Verlag, New York, pp. 228, 1973.
37. R.G. J. Edyvean, L.A. Terry, "The influence of microalgae on corrosion of structural steels used in the north sea". in: Biodeterioration, T.A. Oxley and S. Barry (eds.), John Wiley and Sons, 5, pp.336-347, 1983.
38. B. Little, P. Wagner and D. Duquette, Corrosion, 44, 5, pp 270, 1988.
39. J. Guezennec, N.J.E. Dowling, J. Bullen, D.C. White, Biofouling, Vol. 8, pp. 133-146, 1994.
40. J. Guezennec, N.J.E. Dowling, M.Conte, E. Antoine, L. Fiksdal, "Cathodic protection in marine sediments and the aerated seawater column" in: 1990 International Congress on Microbially Influenced Corrosion, 7-12 October, Knoxville, Tennessee.
41. R. Johnsen and E. Bardal, "The effect of microbiological slime layer on stainless steel in natural seawater", NACE Paper n° 227, presented at CORROSION/86, Houston, TX.
42. A. Mollica, A. Travis, E. Traverso, E. Ventura, G. Scotto, V. Alabiso, G. Mercerano, G. Montini, U. De Cariolis, G. Dellepiane, "Interaction between biofouling and oxygen reduction rate on stainless steel in seawater" in: Proc. 6th Intl. Cong Marine Corrosion and Fouling, Vol: Marine Corrosion, Athens, pp.269-281, 1987.
43. V. Scotto, R. Di Cintio and G. Marcenaro, Corrosion Science, Vol 25, N°3, pp.185-194, 1985.
44. F. Van Den Bring, E. Barendrecht and W. Visscher, Rec. Trav. Chim., Pays Bas, Vol.99, pp. 253, 1980.
45. S. C. Dexter, Biofouling, Vol. 7, pp. 97-127, 1993.
46. H. Humble, Corrosion, 4, pp.358-370, 1948.
47. E. L'Hostis, C. Compère, D. Festy, B. Tribollet, C. Deslouis, "Characterization of biofilms formed on gold in natural seawater by the oxygen diffusion analysis" in: 1995 International Conference on Microbially influenced Corrosion , May 8-10, New Orleans, Louisiana.
48. J.L. Honegger, I. Lauriol, A. Criaud, S. Sainson, J. Guezennec, Proceedings of the workshop on Deposition of solids in Geothermal systems, Reyjavik, 1988.
49. M. Théréne, Thèse "La corrosion bactérienne dans le sédiment marin: Etude de la protection cathodique", Université Paris VI, 1988.
50. P. Watkins, S. Cheung, I. Beech, "The influence of cathodic protection on the attachment of sulphate-reducing bacteria to mild steel surfaces" in : 1995 International Conference on Microbially influenced Corrosion , May 8-10, New Orleans, Louisiana.

51. J.R. Postgate, *The Sulphate Reducing Bacteria*, (Cambridge University Press, 1984).
52. G. Nekoksa, B. Gutherman, "Determination of cathodic protection criteria to control microbially influenced corrosion in power plants" in: 1990 International Congress on Microbially Influenced Corrosion, 7-12 October, Knoxville, Tennessee.
53. C.A.H. von Volzogen Kuhr, L.S. van der Vlugt, *Water*, The Hague, 18, pp.147-165, 1934.
54. J.L. Crolet, *Matériaux et Techniques-Spécial Corrosion*, 1990.
55. P.J. Kilgallon and M. J. Robinson, "Effect of marine biofilms on hydrogen absorption by cathodically protected steel in : UK Corrosion & EUROCORR 94, Bournemouth International.
56. M.J. Robinson, C.H.J. Parker, K.J. Seal, "The influence of sulphate reducing bacteria on hydrogen absorption by cathodically protected steel" in : Proc. Conf. UK Corrosion'87, Brighton Metropole, 1987, 26-28 september.
57. P.J. Kilgallon, PhD Thesis, Cranfield University, 1994.

## Chapitre 14

### Étude de cas sur réseau d'eau potable

Jean CORDONNIER et Yves LÉVI

**Résumé.** Un réseau de distribution d'eau potable constitue un milieu évolutif avec de nombreuses réactions physico-chimiques et microbiologiques. Le maintien de la qualité nécessite de veiller à la maîtrise des phénomènes, y compris dans des domaines encore peu explorés de la biodétérioration des matériaux en contact avec l'eau. Une démarche de recherche a été menée pour évaluer la présence et l'impact des bactéries sulfatoréductrices (BSR). Une méthode de dosage a été adaptée au domaine considéré ; elle a permis de détecter la présence de BSR non seulement dans les dépôts mais aussi dans les eaux. Les premiers résultats font ressortir une augmentation des BSR avec la teneur en fer et la turbidité. Les investigations menées en des points judicieusement choisis d'un réseau doivent permettre de compléter la méthodologie de diagnostic de la corrosion et la mise en place de moyens préventifs dans les exploitations.

## I. Introduction

On peut penser a priori qu'un réseau de distribution d'eau potable présente peu d'intérêt pour une assemblée de corrosionnistes et encore moins pour parler de biodétérioration. En réalité, le réseau de distribution est un véritable réacteur physico-chimique et biologique qui évolue dans le temps et l'espace. Il faut savoir aussi que le matériau peut se trouver en contact avec l'eau (à l'intérieur de la tuyauterie), l'air ou le sol (pour l'extérieur). Nous considérons ici plus spécifiquement l'intérieur de la canalisation.

Les exigences demandées au produit distribué à la fois en qualité (potabilité, goût, couleur ...) en quantité et disponibilité, nécessitent une grande vigilance quant à la tenue des installations, en particulier les canalisations qui sont en contact direct avec le produit et servent aussi pour son transport. Les réseaux pouvant atteindre des tailles de plusieurs milliers de kilomètres sont en France constitués, majoritairement de fontes de diverses qualités et ont parfois, dans les centres ville, des âges supérieurs à 100 ans.

L'impact de la corrosion électrochimique est connu et la prise de conscience des mesures préventives nécessaire s'intensifie : choix des matériaux, traitement de l'eau ... (1, 2, 3). Par contre, en ce qui concerne la biodétérioration, les repères sont beaucoup moins nombreux : quelle est la place de la corrosion bactérienne et plus particulièrement des bactéries sulfatoréductrices (BSR) dans cet environnement ?

## II. Le réseau de distribution est un réacteur

Le réseau est un milieu vivant en évolution. Des échanges s'établissent entre le fluide (l'eau) et les matériaux en présence (fonte, acier, ciment, revêtements éventuels, plastiques ....). Très souvent, il y a formation d'un "film" discontinu sur les parois, constitué de biomasses fixées, et éventuellement de dépôts de tartres (carbonate de calcium ...) ou de corrosion (oxyde de fer ...).

Les échanges s'établissent plus précisément entre ce film (dépôts internes) et

- le matériau support d'une part,
- l'eau de distribution d'autre part.

Le réseau est donc le site de nombreuses réactions physico-chimiques et microbiologiques comme en témoignent la constitution des dépôts et les résultats des comptages bactériens effectués au niveau du film et dans l'eau (4).

L'importance accordée aux détériorations des matériaux par les micro-organismes est très faible dans le domaine des eaux potables dans la mesure où les efforts ont surtout porté sur la découverte et la compréhension des proliférations bactériennes dans l'eau, pouvant avoir une importance sanitaire directe sur les consommateurs (5).

Pour ce faire de nombreuses études ont mis en évidence l'importance du contenu organique dissous comme substrat précurseur et des valeurs limites indicatives ont été publiées par différents auteurs en utilisant les méthodes de mesure du Carbone Organique Dissous Biodégradable ou du Carbone Organique Assimilable (6, 7, 8, 9). L'abaissement de ce contenu organique permet d'une part de limiter naturellement les croissances mais aussi de limiter la consommation en chlore de l'eau et de favoriser l'effet de ce désinfectant résiduel.

Il faut prendre conscience que la marge de manoeuvre de lutte contre les micro-organismes est très faible dans l'eau potable car il est impossible d'ajouter des éléments qui pourraient présenter un risque sanitaire et il est très difficile de stopper l'alimentation qui doit être assurée continuellement.

Sans que des données précises existent, la constitution des biomasses fixées (improprement appelées biofilms) conduit inévitablement à des phénomènes de dégradation des matériaux et il convient d'en limiter la présence (10).

Pour mieux maîtriser ces évolutions de qualité pendant la distribution, on améliore la qualité de l'eau en sortie d'usine et on traite l'eau en cours de distribution (11, 12) :

- En sortie de filière : outre le respect des normes, diminution du contenu biodégradable dissous, diminution des particules et métaux, réduction de la demande en chlore et ajustement de la bonne dose de désinfectant avant distribution.
- Dans le réseau : choix de matériaux non biodégradable et ne rejetant pas de composés indésirables, actions de désinfection des ouvrages, maintien d'un résiduel de chlore à l'aide de postes de rechloration.

L'exigence de qualité nécessite la maîtrise de ces phénomènes, non seulement en assurant l'absence des germes pathogènes mais aussi au niveau de la protection des matériaux en contact pour la pérennité des installations et pour éviter des désagréments qui concernent l'eau (couleurs, goûts, odeurs ...)

Enfin il est possible d'évoquer le rôle néfaste des bactéries du fer (essentiellement *Gallionella*) qui existent naturellement dans des eaux souterraines chargées en fer dissous et qui provoquent des colmatages et des dégradations de crépines de forages contraignant parfois à changer de site ou à réhabiliter le forage.

Face aux faibles connaissances sur le rôle des biomasses fixées en matière de corrosion des canalisations, nous avons mené une démarche de recherche pour évaluer la présence et l'importance des bactéries sulfato-réductrices dans la corrosion des ouvrages d'eau potable.

### **III. Evaluation de l'impact des bactéries sulfato-réductrices (BSR) en réseau**

En ce qui concerne les réseaux de distribution, les études sur la biodétérioration des matériaux sont peu nombreuses en comparaison de celles réalisées en pétrochimie ou dans les industries nucléaires, en papeterie ou dans les circuits de refroidissement (13).

Si la présence de bactéries du fer (*Leptothrix*, *Crenothrix*, *Gallionella* ... ) ou du manganèse peut être repérée grâce en particulier à l'examen microscopique et à leur implication dans les traitements biologiques (déferrisation, démanganisation), il existe peu d'information sur les BSR en eau potable ; les recherches sont souvent ponctuelles, en particulier en circuits d'eau chaude sanitaire ou d'échangeurs de chaleur.

Nous exposons ici la démarche que nous menons sur plusieurs réseaux pour quantifier la présence des bactéries sulfato-réductrices (BSR) et évaluer leur impact dans les mécanismes de corrosion. L'objectif est de trouver une méthode d'approche simple des BSR permettant de compléter les investigations menées sur la corrosion pour pouvoir mieux appréhender les phénomènes, maîtriser leur évolution et ainsi mettre en place les remèdes préventifs (éventuellement curatifs) adéquats.

Les principales questions posées sont les suivantes :

- les conditions sont-elles réunies pour que des BSR soient présentes dans un réseau de distribution ?
- Y a-t-il effectivement des BSR dans un réseau ?
- Y a-t-il une relation entre la présence de corrosion et l'importance des BSR ?

### **III.1 Les conditions sont-elles réunies pour que des BSR soient présentes dans un réseau d'eau potable ?**

La réponse est oui compte tenu du milieu : température, pH (voisin de la neutralité compris entre 6,5 et 8,5) présence de sulfates et de produits carbonés.

La présence normale d'oxygène dans l'eau de distribution (en général entre 5 et 10 g/m<sup>3</sup>) est un facteur défavorable au développement de ces bactéries. Mais certaines parties du réseau (extrémités d'antenne avec temps de séjour longs ou sous dépôts) peuvent révéler des teneurs en oxygène très basses ou même constituer des zones d'anaérobiose propices à la croissance des BSR.

### **III.2 Y a-t-il effectivement des BSR dans un réseau de distribution ?**

Pour répondre à cette question, nous avons développé une approche de terrain

#### **III.2.1 Principaux critères retenus**

La démarche d'étude est la suivante :

- Technique utilisée pour la recherche des BSR :
  - la méthode choisie est celle des kits BSR Labège commercialisés par la société Gram contenant un milieu de culture spécifique des BSR
  - les numérations sont réalisées par la technique du Nombre le Plus Probable (NPP)

- Lieu d'investigation

Pour un site donné, différents points d'études peuvent être envisagés, en particulier :

- les poteaux incendie
- les robinets des consommateurs
- les réservoirs
- les dépôts dans les canalisations

• Contrôles complémentaires

Des contrôles complémentaires permettent une aide au diagnostic, en particulier:

- sur les eaux :
  - pH
  - Conductivité,
  - Turbidité
  - COT (carbone organique total)
  - O<sub>2</sub>
  - Fer total et dissous
  - Chlore total et libre
  - Sulfates
  
- sur les dépôts :
  - Pertes au feu
  - Matières organiques
  - Carbonates
  - Calcium
  - Fer
  - Sulfures (recherche d'H<sub>2</sub>S)
  
- sur les conditions d'exploitation :
  - Historique
  - Vitesse de circulation de l'eau et pression
  - Temps de séjour

### III.2 2. Résultats

Des études sur plusieurs sites sont en cours. Les premiers résultats permettent de répondre à la question posée : des BSR peuvent être détectées dans l'eau de distribution malgré le fait que ces bactéries anaérobies strictes soient transportées dans une eau saturée en oxygène avec parfois présence de chlore résiduel, et dans les dépôts mais cela n'est pas systématique.

A titre d'exemple sur un site donné, les valeurs mesurées (nombre probable) ont été les suivantes :

- au robinet 0 à 10 BSR / ml
- sur les poteaux incendie 0 à 1 000 BSR / ml suivant les vitesses d'extraction
- au niveau des dépôts de réservoirs 300 à 3000 BSR / g dépôt sec
- au niveau des dépôts dans une conduite 12000 BSR / g dépôt sec

## IV. Y a-t-il une corrélation entre la présence de corrosion et l'importance des BSR ?

Aucun lien n'a pu être clairement établi entre l'état de corrosion du réseau et le nombre de bactéries détectées. Les résultats obtenus sur le site mentionné au § 11.2.2 font ressortir une relation entre le nombre de BSR et le taux de fer et surtout la turbidité.

Localisation (Poteaux incendie)	Nombre de BSR /ml	Fe mg/l	Turbidité NTU	NTU
A	0	4,8	42	< 50
B	0	0,11	1,7	
C	1	1,85	22	
D	1	2,06	45	
E	0	0,5	36	
F (impasse)	15	27	227	> 50
I purge canalisation (Impasse)	1100	58	534	
G	6	6,45	69	

## V. Perspectives

Ces investigations constituent une première approche destinée à compléter la méthodologie de diagnostic de la corrosion. Elles s'inscrivent dans le cadre d'un programme plus large incluant la poursuite de ces études et la mise en place de moyens préventifs dans les exploitations.

### V.1 Poursuite des études

La poursuite d'études similaires sur différents sites avec la même méthodologie devrait permettre :

- d'avoir une meilleure connaissance des phénomènes,
- de trouver des corrélations avec les autres paramètres analysés en particulier matières en suspension, turbidité, fer, état de corrosion des canalisations.
- enfin de préciser les moyens d'action pour optimiser la qualité.

### V.2 Moyens préventifs

La multitude des paramètres mis en jeu dans les phénomènes physicochimiques et biologiques qui interviennent dans le réseau, entraîne inévitablement des interactions entre ces facteurs : il faut éviter, l'installation d'une situation de "débordement" qui ne demanderait qu'à s'étendre rapidement en l'absence de barrières.

Les moyens préventifs les plus sûrs actuellement pour limiter les problèmes liés à la détérioration des matériaux et donc à la qualité de l'eau distribuée sont à 2 niveaux :

- au niveau du traitement amont
- sur le réseau lui-même

### V.2.1 L'efficacité du traitement amont

La qualité de l'eau introduite dans le réseau est une des composantes majeures qui participe à la stabilité de la qualité de l'eau en cours de distribution. Une attention particulière doit être portée sur les points suivants :

- la limitation de la turbidité et de la charge en particules pour éviter les dépôts et les fixations microbiennes sur les particules ou sous les dépôts (en zone anaérobie).
- l'obtention d'une eau dont le contenu minéral dissous est équilibré pour minimiser les problèmes d'agressivité et de corrosivité
- la limitation des molécules organiques et plus précisément du carbone organique biodégradable (CODB)
- l'optimisation des techniques de désinfection (ozone, chlore ...)

Il faut souligner ici l'intérêt présenté par les derniers développements sur les membranes d'ultrafiltration associées éventuellement au charbon actif qui permettent de retenir les plus petites particules et même les virus.

### V.2.2 La maintenance sur le réseau lui-même

La qualité de cette maintenance est évidemment importante puisque les réseaux de distribution, comme nous l'avons vu, ne sont pas des conduites closes et inertes. Les principaux points à considérer sont les suivants :

- *le choix des canalisations* et des revêtements pour éviter le relargage d'éléments nocifs pour la santé ou encore nutritifs pour le développement des germes.

Des méthodes sont en cours de normalisation pour le contrôle du potentiel de croissance microbologique des matériaux utilisés pour le traitement ou le transport des eaux. Ainsi, le PVC plastifié apparaît comme plus favorable à la prolifération bactérienne que le PVC non plastifié.

- le maintien de *régimes hydrauliques optimisés* pour limiter les zones de stagnation et les variations brutales de flux.
- *le nettoyage périodique des réservoirs* qui sont des zones propices aux développements biologiques (contacts avec l'air, temps de séjour élevés, contact avec les sédiments, contaminations éventuelles).
- la mise en place de *disconnecteurs* pour éviter des pollutions de l'extérieur vers les réseaux par retour d'eau.
- l'implantation éventuelle de traitements décentralisés (chloration, ultrafiltration sur membrane ... ) pour assurer la qualité en tous points du réseau.
- l'implantation de nouvelles stratégies de chloration en ajustant la meilleure dose au bon endroit grâce au développement de nouveaux outils de gestion combinant la prédiction des résiduels de chlore par modélisation mathématique (14, 15) et la mise en place de microcapteurs que nous avons développé selon les technologies de la microélectronique (16, 17). Ce type de nouvelle gestion est déjà implanté sur certains réseaux et devrait permettre une lutte plus efficace contre les biomasses libres ou fixées en minimisant les inconvénients dus aux sous-produits provoquant parfois des saveurs de chlore dans l'eau distribuée (18).

Cette stratégie nécessite une *gestion globale du réseau* incluant la mise en place de capteurs de contrôle et d'alerte, la modélisation hydraulique, la qualité et la formation des acteurs.

## VI. Conclusion

Le réseau de distribution est un milieu où se produisent des réactions physico-chimiques et biologiques. On y retrouve les principaux paramètres susceptibles d'induire ou d'accélérer les phénomènes de détérioration des matériaux. Parmi ces paramètres, il est important de cerner ceux qui pourront servir de capteurs pour les contrôles.

Les investigations menées en des points judicieusement choisis d'un réseau (poteaux incendie, réservoirs, robinets des consommateurs, canalisations) avec la recherche simultanée des paramètres physiques (hydraulique, temps de séjour), chimiques (turbidité, fer ... ) et biologiques (bactéries du fer et sulfato-réductrices) devraient permettre de trouver des corrélations entre ces facteurs et l'état du réseau.

Le maintien de la qualité nécessite une approche globale et des actions à la fois en amont du réseau (traitement d'eau) et sur le réseau lui-même. Les techniques de modélisation de l'hydraulique et de la qualité assorties d'une stratégie d'autosurveillance permettent d'agir préventivement, de réduire les risques de détérioration et d'optimiser les résultats.

## Bibliographie

- [1] DEGREMONT (1989) "Mémento Technique de l'Eau" Lavoisier Technique et Documentation
- [2] BARBIER J.P., CORDONNIER J., GABRIEL J.M. (1989) - Corrosion métallique et phénomènes d'eaux rouges - Utilisation d'inhibiteurs - Congrès AGHTM Québec, TSM L'Eau, Avril 1990
- [3] CORDONNIER J. (1994) Chemical conditioning of water for the prévention et Engeneering Belo Horizonte (Brésil)
- [4] MOUCHET P., MONTIEL A., RIGAL S., Dégradations physico-chimiques dans les réseaux de distribution. Tech. Sci. Meth., 1992, 6, 299-306
- [5] LEVI Y. (1991) Etude des biofilms bactériens sur les canalisations d'eau potable. 18e Confé Int. Assoc. Int. des Distrib. d'Eau, Copenhague, Wat. Supply, SS12-5/SS12-10
- [6] D. van der KOOIJ, W.A.M. HIJNEN et J.C. KRUTHOF - The effects of ozonation, biological filtration and distribution on the concentration of easily assimilable organic carbon (AOC) in d@ing water. Oz. Sci. Engin., 1989, 11, 297-311
- [7] D. van der KOOIJ - Biofilm development on surfaces in d@ing water distribution systems. C.R. Congrès A.I.D.E., Budapest, 1993, SSI/1-SS 1/7
- [8] P. WERNER et B. HAMBSCH - Investigations on the growth of in drinking water. Wat. Supply, 1986, 4, Mulhouse, 227-232
- [9] JORET J.C. et LEVI Y. (1986) Méthode rapide d'évaluation du carbone éliminable des eaux par voie biologique. Trib. Cebedeau, 510, 39, 3-9
- [10] D. SCHOENEN - Influence of materials on the microbiological colonization of drinking water. Aqua, 1989, 38, 101-113
- [11] LEVI Y. et MALLEVIALLE J. (1995) Prevention of bacterial regrowth in distribution systems. Water Osaka 95, IWSA specialized conférence on advance water treatment and integrated water system management. 15-17 mai, Osaka, 120-125
- [12] LEVI Y. (1994) Les paramètres influençant le développement des germes dans les réseaux d'eau potable. C.R. Congrès AGHTM, Nimes, 838-852

- [13] BERNE F., CORDONNIER J. (1991) Traitement des Eaux - Epuration des eaux résiduaires de raffinage et conditionnement des eaux de réfrigération. Publication IFP Editions Technip
- [14] O. WABLE, J.P. DUGUET, G. GELAS, J.F. DEPLERRE et P.A. JARRIGE, Modélisation de la concentration en chlore dans les réseaux de distribution. T.S.M. L'Eau, 1992, 87, 6, 311-314
  
- [15] DUKAN S., PIRIOU P., LEVI Y. et JARRIGE P.A. (1994) Modélisation de la croissance bactérienne en réseau de distribution d'eaux potables. Développement d'un outil de diagnostic et de contrôle. C.R. Journées Information Eaux, Poitiers, 9/1-9/20
- [16] WABLE O., LEVI Y., MONTIEL A., ARCHENAUULT M. et VEYRIE A. (1993) Miniature chlorine microsensor for on-line control of drinking water quality in distribution system. C.R. A.W.W.A., W.Q.T.C., Miami, 209-215
- [17] WABLE O., LEVI Y., JOUSSET M. et ARCHENAUULT M. (1995) Nouveaux capteurs pour les réseaux de distribution d'eau potable : assurer la sécurité au point d'usage. Actes 3e Colloque Européen des capteurs pour l'environnement. Grenoble 30-31 mars, 156-161
- [18] LEVI Y., KIENE L., PIRIOU P. et WABLE O. (1994) Gestion d'un réacteur complexe: le réseau de distribution d'eau potable. C.R. Colloque International ; Hydrotop, Marseille, 12-15 avril, Tome 2, 135-142

## Chapitre 15

### Biodétérioration des matériaux dans les circuits de refroidissement

J. GOUDIAKAS, A. SEBELIN et F. SWCHARTZ

**Résumé.** L'accumulation de micro-organismes et des produits associés à la surface des équipements induit divers phénomènes qui se traduisent par une diminution des performances et/ou de la durée de vie des matériels utilisés dans les circuits de refroidissement industriels. La formation d'un biofilm à la surface des matériaux mis en œuvre augmente la perte de charge, diminue l'efficacité des échanges thermiques et, sous certaines conditions, induit des phénomènes de corrosion. La maîtrise rigoureuse des procédés industriels passe par la prévention de la corrosion et donc notamment par un contrôle du développement des micro-organismes dans les circuits.

## I. Introduction

Les systèmes de réfrigération mettant en œuvre l'eau comme liquide caloporteur offrent un environnement particulièrement propice au développement de micro-organismes. En effet, le milieu aqueux plus ou moins riche en sels minéraux, la température (généralement  $< 100^{\circ}\text{C}$ ) et la présence éventuelle de lumière (cas des circuits semi-ouverts) constituent des paramètres favorables à la multiplication rapide des bactéries, algues et champignons. Ainsi, de nombreux problèmes liés au développement non contrôlé d'organismes vivants dans divers circuits de réfrigération ont été signalés dans la littérature (1-3). Des moyens efficaces de lutte contre ce type de désagrément ont été mis en place depuis de nombreuses années et ce, bien avant de connaître les mécanismes de la biocorrosion actuellement avancés.

Les principales conséquences du développement non contrôlé des micro-organismes dans les eaux de refroidissement sont :

- diminution des performances (cas des échangeurs recouvert d'un biofilm)
- frais de nettoyage à mettre régulièrement en œuvre ;
- dommage et diminution de la durée de vie de l'installation, suite notamment à des problèmes de corrosion ;
- sécurité et santé du personnel.

Ainsi les contraintes économiques, écologiques et de sécurité imposent une maîtrise rigoureuse des procédés industriels. Cette maîtrise passe par la prévention de la corrosion et donc notamment par un contrôle des organismes vivants présents dans les circuits.

## II. Les circuits de réfrigération

### II.1 Les eaux de réfrigération

Les réserves disponibles d'eaux naturelles sont essentiellement constituées des eaux souterraines, des eaux de surface (retenues ou en écoulement) et des eaux de mer. Les principales sources industrielles sont les eaux de forage, de mer et de surface. Les eaux de forage ont des

caractéristiques relativement stables, alors que les eaux de surface (rivière) ont, suivant la climatologie locale, des caractéristiques variables pouvant engendrer des difficultés au niveau de l'exploitation industrielle.

La prolifération des organismes vivants est fréquente dans les réseaux de distribution et dans les circuits industriels. Ces organismes sont plus ou moins entraînés par le courant en même temps que les déchets qu'ils rejettent.

De nombreux facteurs conditionnent le développement de ces organismes dans l'eau alimentant nos circuits :

- la composition du milieu, la présence de matières organiques et de nutriments (phosphore, azote) jouant un rôle déterminant,
- la température, les algues par exemple se développent surtout aux périodes chaudes;
- la lumière, qui favorise l'assimilation chlorophyllienne.

## 11.2 Types de circuits de refroidissement et leurs particularités

Les circuits sont classés en trois types (figure 1) :

- *circuits ouverts* dans lesquels la totalité de l'eau est rejetée dans le milieu naturel après utilisation ;
- *circuits fermés*, l'eau est refroidie par contact avec un fluide secondaire (air, eau) et retourne aux appareils sans contact direct avec l'air ;
- *circuits semi-ouverts*, l'eau est refroidie par un évaporateur partiel dans un réfrigérant atmosphérique, puis retourne aux appareils.

Les systèmes semi-ouverts, via la tour de refroidissement, concentrent les nutriments présents dans l'eau alimentaire. Le développement bactérien est dans ces conditions relativement rapide. De plus, une grande variété de micro-organismes est ainsi susceptible de se développer dans les circuits (4).

Les bactéries que l'on trouve dans l'eau traitée industriellement ont essentiellement pour origine

- le transport des cellules avec l'eau alimentaire, l'air et les produits chimiques ,
- la contamination par les équipements et par le personnel
- la libération des cellules du biofilm.

Mettre en oeuvre une eau rigoureusement abiotique semble illusoire. Ainsi des développements de micro-organismes dans des eaux de rinçage de 18 MOhms ont causé des préjudices sérieux dans l'industrie de la microélectronique (5).

## III. Les biofilms

### III.1. Généralités

Le biofilm est constitué d'un film organique composé de micro-organismes inclus dans une gangue mucilagineuse extra cellulaire. La formation d'un biofilm résulte de l'adhérence, de la croissance et du développement de micro-organismes aux interfaces liquide - solide et liquide - gaz. Il contient souvent une fraction significative de substances inorganiques ou abiotiques piégées dans la matrice biotique.

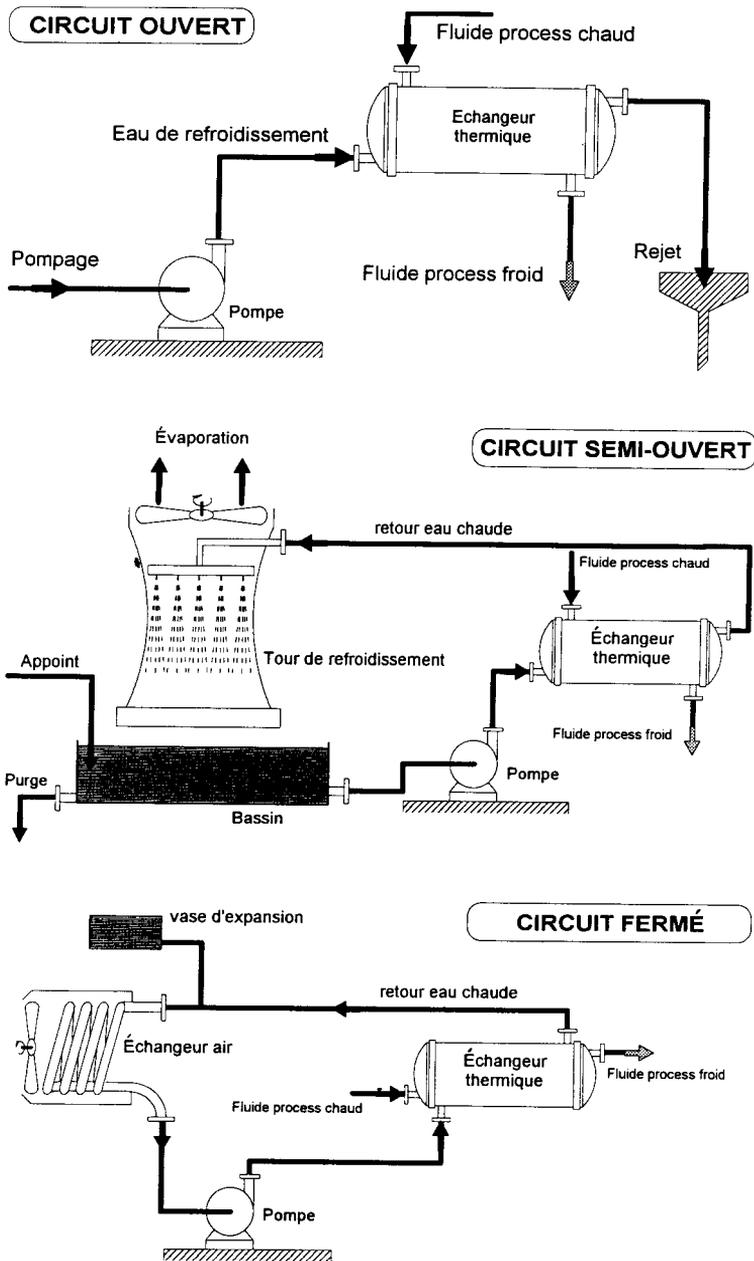


Fig. 1 - Types de circuits de refroidissement.

La croissance et le développement du biofilm sont généralement décrits par une fonction sigmoïde(6). Dans ce cas, trois périodes peuvent être arbitrairement définies : La période d'induction, la période de croissance et un plateau ou un état pseudo stationnaire (figure 2).

En sus des problèmes d'obstruction, la formation progressive d'un film isolant par encrassement biologique diminue les coefficients d'échange et accroît les pertes de charge. Elle entraîne en outre le développement de corrosion. La plupart des microorganismes dans les circuits d'eau de haute pureté proviennent de biofilms. Ainsi en pharmacie, des efforts importants sont nécessaires afin d'éviter les contaminations microbiennes des produits, même si l'eau alimentaire est traitée de manière optimale.

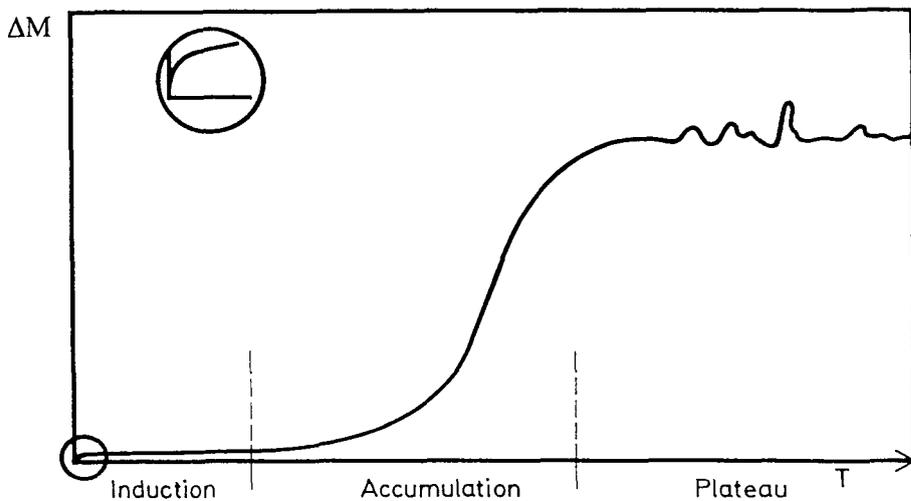


Fig. 2 - Évolution du développement du biofilm (d'après Characklis<sup>(6)</sup> et Fleming<sup>(3)</sup>)

### III.2. Utilisation de biocides

Les bactéries présentes au sein du biofilm, contrairement à celles en suspension dans l'eau, résistent relativement bien à un traitement biocide. Ces bactéries sont en effet protégées par la gangue mucilagineuse du biofilm. Ce fait permet de rendre compte, du moins en partie, du rapide développement du film après un traitement biocide mené de manière imparfaite (3).

Les biocides fréquemment mis en oeuvre lors du conditionnement des eaux de réfrigération sont : des produits halogénés (chlore, hypochlorite, bioxyde de chlore, chloramine, brome, hypobromite), l'eau oxygénée, l'ozone, les amines quaternaires, ...

### III.3. Suivi du développement bactérien dans les circuits

Le comptage des germes dans l'eau de réfrigération ne permet ni de localiser ni d'évaluer l'étendue et la vivacité du biofilm. Par ailleurs, une concentration très faible en bactérie ne témoigne pas nécessairement de l'absence d'un biofilm. En particulier, dans les systèmes où le flux de liquide caloporteur est important, le facteur de dilution peut être tel que la concentration en germes totaux est inférieure à la limite de détection. Néanmoins, en partie pour des raisons de facilité, les mesures mises en oeuvre dans bon nombre de laboratoires afin de suivre le développement de biofilms ne sont encore basées que sur la détermination du nombre de germes en suspension dans l'eau.

La densité bactérienne d'un dépôt organique surfacique présent dans un système de refroidissement est généralement comprise entre  $10^6$  et  $10^9/cm^2$ . Cela dépasse de loin le nombre de germes présents dans un ml de solution. De sorte que seule une approche directe permet de caractériser l'évolution réelle du biofilm.

En pratique, on ne considérera le biofilm que lorsqu'il est dans sa phase pseudo stationnaire (figure 2). Dans ce cas quelques méthodes simples peuvent donner des indications précieuses :

- inspecter visuellement de la surface, particulièrement dans les zones "accidentées"
- relever la présence de dépôts gluants en surface ,
- effectuer des tests pyrolytiques permettant de mettre en évidence la présence de composés organiques dans le dépôt.

D'autres investigations peuvent être menées en laboratoire afin de mieux caractériser la nature des dépôts :

- inspection au microscope (épifluorescence)
- culture de micro-organismes
- analyses des dépôts (eau, COT, carbohydrates, protéines, ATP, ...)

#### ENSEMENCEMENT B.S.R. SUR PLAQUETTES CORROSION

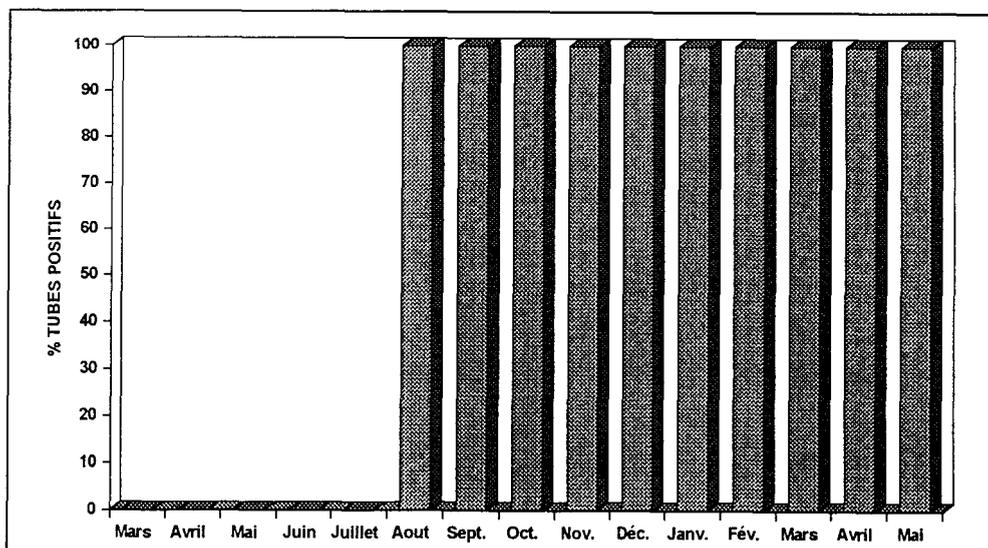
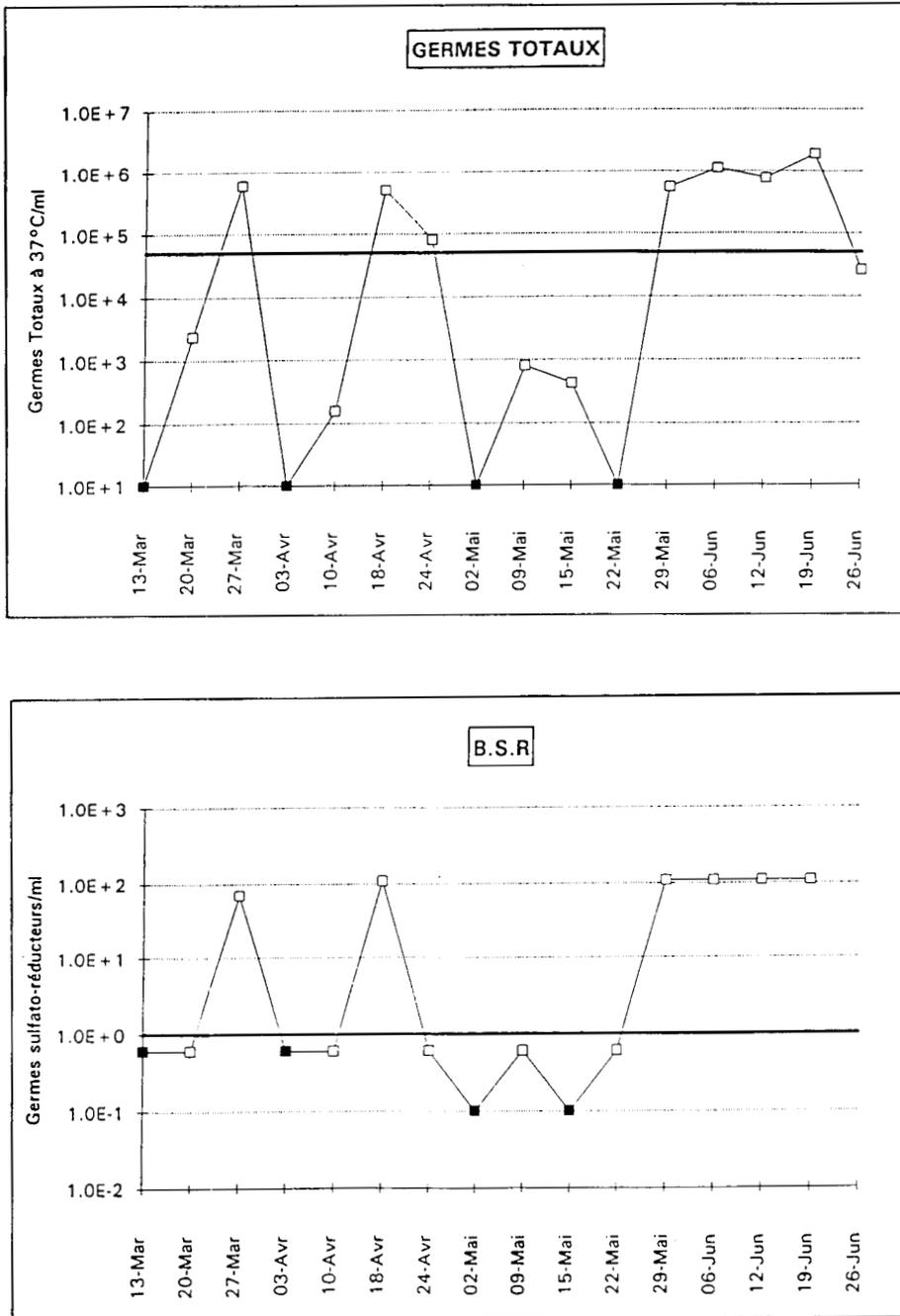


Fig. 3 - Analyses bactériologiques



**Fig. 3 (suite) - Analyses bactériologiques**  
 ■ Traitements "chocs" à l'aide de biocides

#### **IV. Développement bactérien dans un circuit de réfrigération industriel**

Nous présentons brièvement les investigations menées suite au développement de micro-organismes dans un circuit de réfrigération. Le traitement biocide a été optimisé afin de mieux contrôler le développement du biofilm et de minimiser les problèmes de corrosion qui en découlent (photos 1 et 2).



**Photo 1 - Surface intérieure du tube endommagé**



**Photo 2 - Détail après élimination des dépôts**

#### IV.1. Description du circuit

Il s'agit d'un circuit semi-ouvert dont l'eau est conditionnée au moyen d'inhibiteurs de corrosion et d'un dispersant. Le pH est régulé à une valeur d'environ 7. Les analyses moyennes de l'eau d'appoint et de l'eau de réfrigération sont présentées dans le tableau cidessous. Notons que l'appoint est une eau de forage non filtrée. La photo 3 montre la présence de la biomasse dans cette eau.

	Eau d'appoint	Eau de circuit
pH	6,5	7
TAC (°f)	1	
MEST (mg/l)	1	15
THT (°f)	7	33
TH Ca (°f)	2	10
CI (mg/l)	28	276
Fetot (mg/l)	0,1	1,5
DCO (mg/l)		80

*Caractéristique de l'eau d'appoint et de l'eau du circuit (valeurs moyennes).*

Le traitement biocide mis en oeuvre est à base d'hypochlorite. Il s'agit d'une injection en continu avec mesure de chlore libre. La mise en oeuvre d'un biodispersant permet de contrôler plus efficacement le développement du biofilm. Un schéma de principe du conditionnement est représenté dans la figure 4.

#### IV.2. Suivi du développement bactérien

On procède à l'analyse bactériologique de l'eau de réfrigération (germes totaux et BSR) et au niveau du biofilm présent à la surface des plaquettes placées dans le circuit (ensemencement BSR).

Après une déficience prolongée (plusieurs semaines) de l'alimentation en biocide du circuit, il s'est avéré, par la suite, particulièrement difficile de maintenir la concentration en germes totaux et en bactéries sulfato-réductrices en deçà des valeurs de consigne. De plus, l'ensemencement BSR sur plaquette de corrosion montre que les traitements "chocs" de biocides n'ont pas eu d'effet significatif sur les couches anaérobies du biofilm. Les résultats des analyses présentés dans la figure 3 illustrent la difficulté de contrôler le développement d'un biofilm déjà bien formé à l'aide de biocides.

L'aspect d'ensemble du biofilm observé au microscope électronique à transmission est présenté sur la photo 4. De nombreuses bactéries sont engamées au sein de la gangue mucilagineuse. La surface

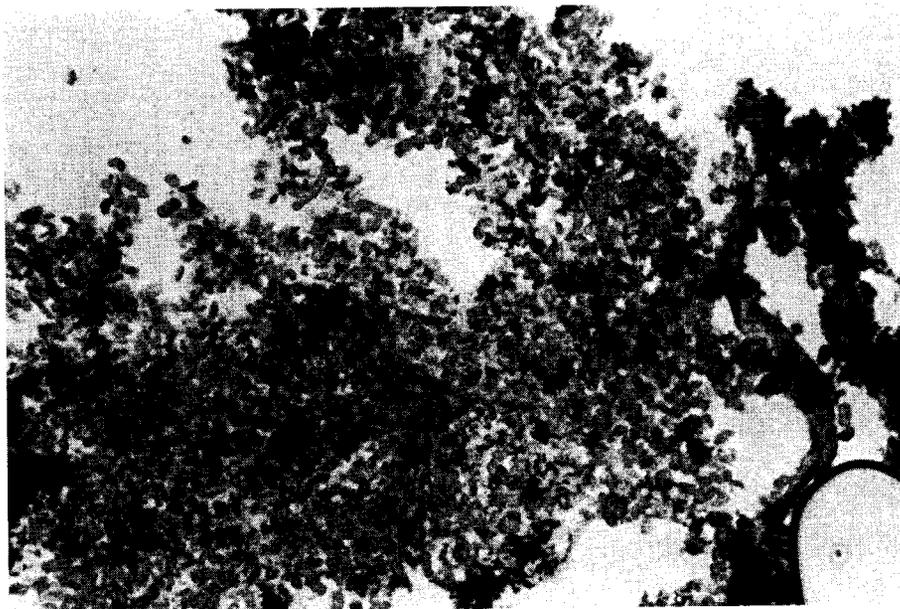
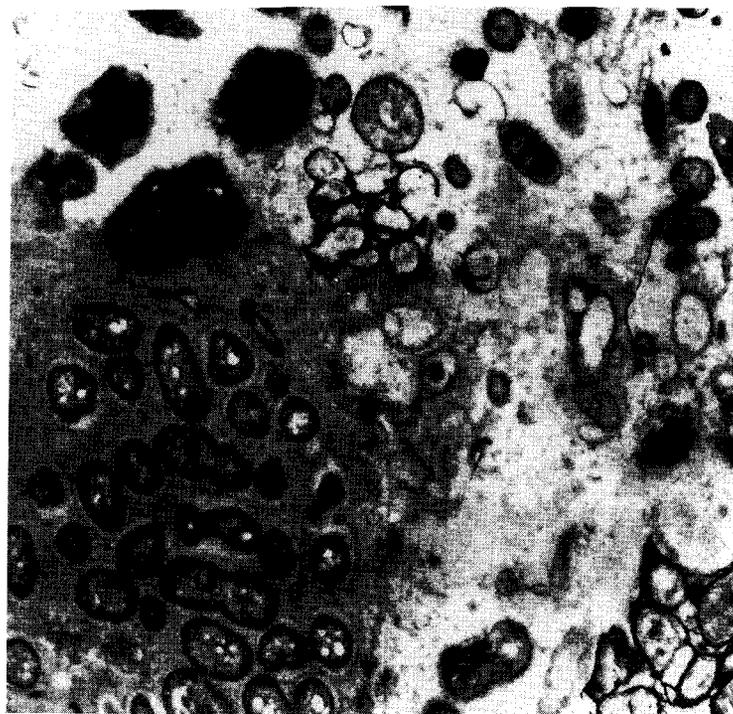


Photo 3 - Biomasse présente dans l'eau d'appoint



10<sup>-6</sup> m

Photo 4 - Observation d'une coupe du biofilm au microscope électronique à transmission.

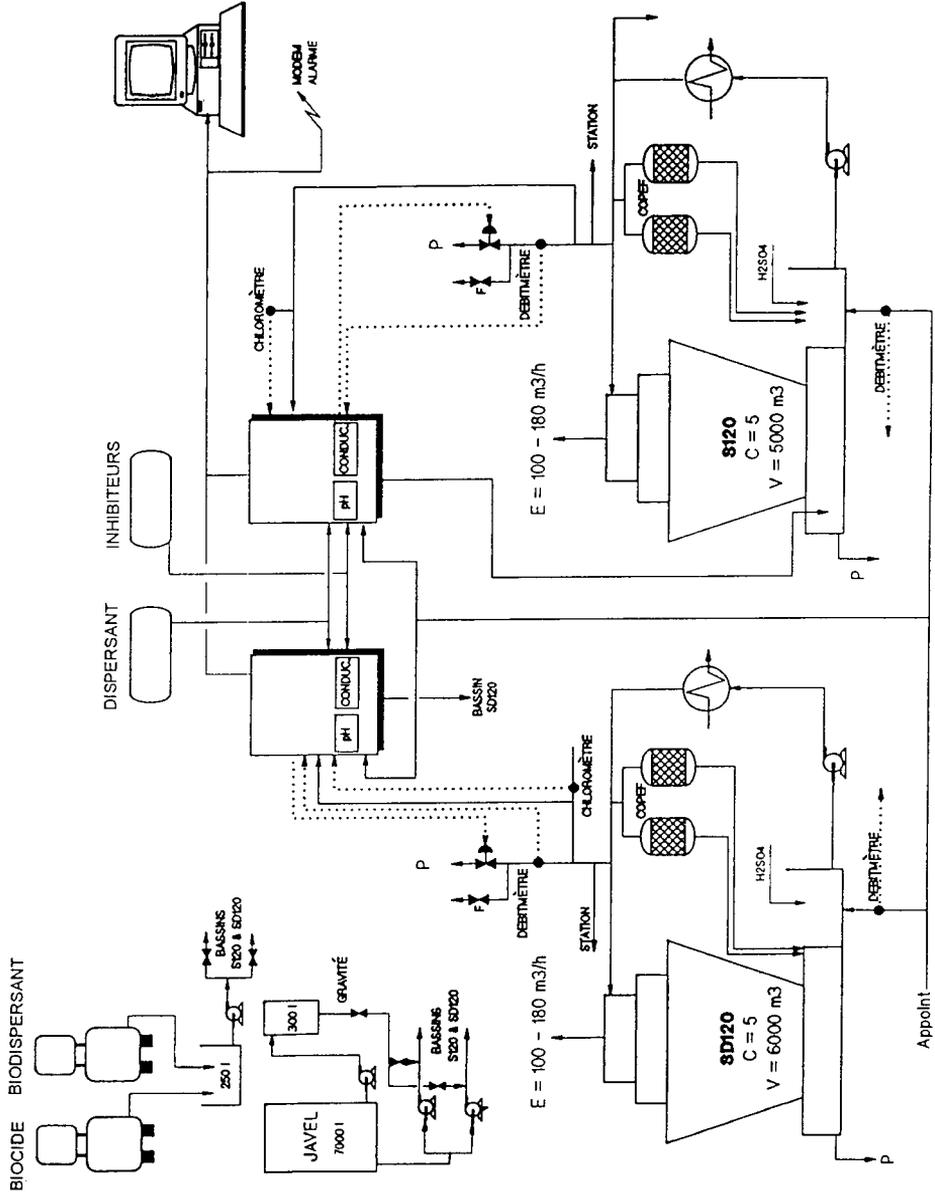
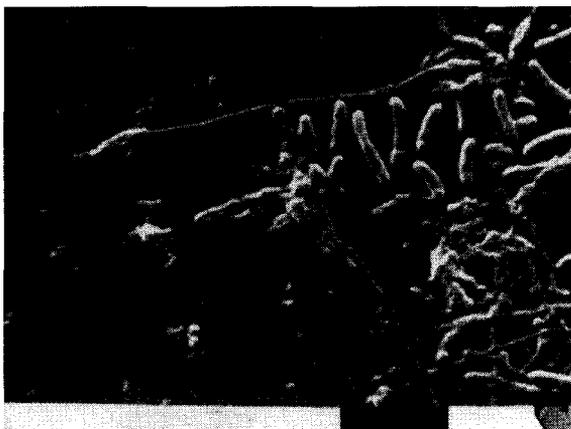


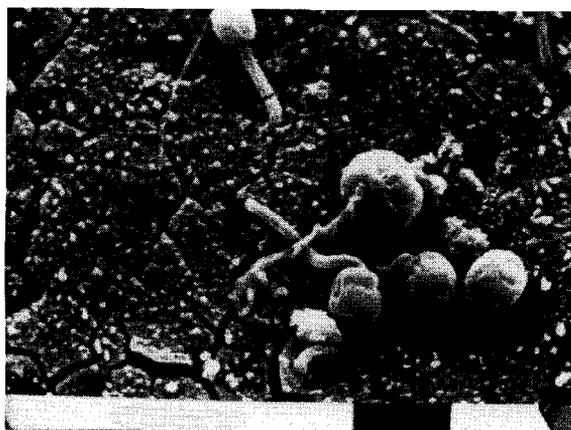
Figure 4 - Schéma de principe du traitement d'eau de réfrigération mis en oeuvre

du biofilm observée au microscope électronique à balayage est, quant à elle, caractérisée par la présence de nombreux micro-organismes tels que bacilles, vorticelles, etc. (photos 5-7).

Cela se traduit par une augmentation significative de la perte de charge des échangeurs thermiques et, localement, par des corrosions sous dépôts. Dans ce cas un nettoyage du circuit est mis en place afin d'éliminer la plus grosse partie du biofilm. De plus l'optimisation de l'injection de biocide + biodispersant permet de mieux contrôler le développement du biofilm.



**Photo 5 - Bacilles + bactéries avec filament.**



**Photo 6 - Vorticelles fixées sur le biofilm.**



**Photo 7 - Détail - pédoncule de vorticelle.**

## **V. Conclusions**

Prévenir l'accumulation de biofilms dans un circuit de réfrigération est une tâche extrêmement ardue. Ainsi, exception faite des domaines particuliers tels que la pharmacie et la microélectronique où des efforts considérables sont alloués à la prévention de la formation de biofilms, on se limite dans la majorité des cas au contrôle du développement de ces organismes.

Ainsi parallèlement à la mise en oeuvre d'un traitement d'eau adéquat, le suivi du circuit doit être effectué de manière rigoureuse. L'exemple traité au point 4 montre que la seule information relative aux concentrations de germes en suspension dans l'eau du circuit ne permet pas d'évaluer l'ampleur du développement du biofilm. L'analyse bactériologique des plaquettes de corrosion mises en place dans le circuit fournit des renseignements précieux quant à la présence de micro-organismes à la surface des matériaux directement en contact avec l'eau de réfrigération.

## **Références**

- [1] Borenstein S.W., *Microbiologically influenced corrosion handbook* (Woodhead Publishing Ltd, 1994).
- [2] Kobrin G., *A Practical Manual on Microbiologically Influenced Corrosion* (NACE International, 1993).
- [3] Flemming H-C., Geesey G.G., *Biofouling and Biocorrosion in Industrial Water Systems* (Springer-Verlag, 1990).
- [4] "Betz Handbook of Industrial Water Conditioning", 8ème édition, 1991.
- [5] White D.C., Mittelman M.C., "Biological fouling of high purity waters", *Pure Water Conf.*, Santa Clara, CA, Jan. 17-18, 1990, p. 150-171.
- [6] Characklis W.G., Marshall K.C., *Biofilms*, John Wiley, 1990, p. 195-231.

## Chapitre 16

### Analyse et conséquences de la prolifération bactérienne dans les puits géothermiques du Bassin de Paris

I. IGNATIADIS, M. AMALHAY, A. ABOU et C. COTICHE

**Résumé.** La plupart des installations géothermiques exploitant l'aquifère du Dogger du Bassin parisien ont connu des problèmes de corrosion et de dépôts. L'acier au carbone constituant le tubage des puits ne résiste pas à l'eau géothermal qui est un milieu anaérobie et légèrement acide caractérisé principalement par la présence de  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{S}/\text{HS}^-$ . Ce chapitre présente l'état des connaissances sur l'activité microbiologique de ces eaux géothermales. Il porte notamment sur l'identification des souches, la localisation et l'évolution de l'activité bactérienne dans les installations et réservoirs géothermaux et de leurs conséquences sur la corrosion et le colmatage des tubages. Des bactéries sulfato-réductrices ont été identifiées dans le fluide circulant et dans des dépôts recueillis. Depuis 1989, une évolution de la teneur en sulfure dans l'eau prélevée en tête de certains puits de production a été constatée. Cette teneur évolue avec le temps et le débit d'exploitation. Deux méthodes ont été expérimentées pour provoquer et étudier cette évolution. Elles ont permis de la corréler à l'activité bactérienne sulfato-réductrice actuelle et croissante. Ces résultats ont été confirmés par l'utilisation d'un outil isopique original, basé sur l'évolution de la composition isotopique du Soufre ( $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ ) du sulfure en fonction du débit d'exploitation. Le comportement électrochimique de l'acier au carbone a été suivi dans un milieu géothermal réel et modifié ( $\text{HS}^-$  variant de 0 à 100 mg/l). La vitesse de corrosion, l'épaisseur du dépôt et la vitesse de cristallisation du  $\text{FeS}$  amorphe en mackinawite sont d'autant plus élevées que la teneur en sulfure de l'eau est forte. L'efficacité des inhibiteurs baisse avec cette teneur en sulfure.

## I. Introduction

La géothermie française de type "basse enthalpie" est essentiellement représentée par l'exploitation des fluides de l'aquifère du Dogger du Bassin parisien (Jurassique moyen) dont la température est inférieure à  $100^\circ\text{C}$ . L'utilisation de la géothermie est principalement axée sur le chauffage des habitations et la production d'eau chaude sanitaire. Les doublets géothermiques sont constitués de puits de production et de puits d'injection d'environ 1800 m de profondeur et d'installations de surface. Le principe de l'exploitation consiste à pomper l'eau par le puits de production, à la faire circuler dans des échangeurs thermiques puis à l'injecter dans le même réservoir quelques centaines de mètres plus loin par le puits d'injection. Les tubages des puits sont en majorité constitués d'acier au carbone du type API K55.

Les eaux de l'aquifère du Dogger dans la région parisienne, exploitées actuellement par une quarantaine de doublets géothermiques constituent un milieu anaérobie et témoignent d'un environnement réducteur caractérisé par une minéralisation élevée et la présence de gaz dissous, dont le sulfure d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{S}$ ) et le gaz carbonique ( $\text{CO}_2$ ).

Les principales caractéristiques physico-chimiques de ces eaux sont : température de 47 à 85°C selon la localisation, pH de 6,1 à 6,5, Eh de l'ordre de -100 à 0 mV par rapport à l'électrode normale à hydrogène, teneur en sels dissous de 6 à 35 g/l dont une grande partie de Cl<sup>-</sup>, [CO<sub>2</sub>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] de 250 à 600 mg/l, [SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>] de 300 à 1200 mg/l, [H<sub>2</sub>S/HS<sup>-</sup>] de 0 à 100 mg/l. On note également la présence de mercaptans (sulfures organiques) RSH/RS<sup>-</sup> (0 à 10 mg/l) et l'absence d'oxygène dissous en fonctionnement normal. Ces caractéristiques font que ces eaux géothermales sont l'un des fluides naturels les plus corrosifs pour les aciers au carbone [1, 2, 3]. Au niveau des boucles géothermales le risque lié à cette corrosivité engendrait les problèmes suivants :

- une durée de vie des puits géothermiques souvent inférieure de moitié à son estimation,
- le percement des tubages en acier des puits avec contamination possible d'aquifères intermédiaires constituant, pour la plupart des réserves d'eau potable,
- la formation de dépôts (constitués en majorité de sulfures de fer) sur les parois internes des tubages susceptibles de colmater les puits de production et/ou de réinjection, ce qui entraîne des pertes de charge significatives [4].

Historiquement, c'est cette dernière conséquence qui a d'abord été observée. Les difficultés d'exploitation, sur certains des doublets réalisés depuis 1969, sont apparues avec une baisse des caractéristiques hydrauliques, un colmatage partiel des puits de production et/ou de réinjection et un encrassement des échangeurs thermiques. De nombreuses opérations de réhabilitation des puits (curage et mise en place d'un dispositif de traitement anticorrosion) effectuées depuis l'été 1986 ont permis de corriger les problèmes de l'exploitation à la présence de dépôts. Ces travaux ont montré que les puits produisant un fluide ayant une forte teneur en HS<sup>-</sup> sont les plus touchés par la corrosion et le colmatage.

Ces dépôts de sulfures se forment à partir du sulfure d'hydrogène présent dans les fluides et des produits issus de la corrosion des tubages en acier au carbone, le fer ferreux principalement. Des mesures de vitesse de corrosion effectuées par différentes méthodes sur des puits sans traitement par inhibiteur de corrosion donnent fréquemment des valeurs de l'ordre de 1 mm/an. La part du fer provenant du réservoir n'est pas déterminée précisément, mais elle dépasserait la solubilité de la pyrite dans le réservoir et semble limitée par la solubilité de la mackinawite en tête des puits de production [5]. Les dépôts sont constitués à près de 70 % de sulfures de fer: mackinawite (Fe<sub>1+x</sub>S), pyrite (FeS<sub>2</sub>) et pyrrhotite (FeS<sub>1+x</sub>) sont les principaux minéraux observés. On trouve en petites quantités des carbonates de fer (FeCO<sub>3</sub> ou sidérite), des hydroxydes de fer FC(OH)<sub>2</sub>, des oxyhydroxydes de fer (FeOOH) et hydroxychlorures de fer (Fe<sub>2</sub>(OH)<sub>3</sub>Cl), ainsi que de la calcite (CaCO<sub>3</sub>) principalement dans les échantillons de fond (entre 10 et 20 %). Des traces de Cr, Ni, Mo, Cu, As ont été dosées mais elles ne forment pas véritablement de sulfures métalliques. La stoechiométrie des sulfures de fer évolue avec la profondeur (mackinawite en surface et pyrite en fond de puits) et au sein du dépôt (mackinawite côté tubage et pyrite côté fluide). La chronologie des dépôts est complexe et semble résulter de plusieurs phénomènes statiques et dynamiques (précipitation, transport, vieillissement [2, 3] ; mais peut refléter également les conditions d'exploitation [1]. Les observations faites sur les dépôts formés à la surface métallique des aciers au carbone, retirés de l'eau géothermale après différentes périodes d'immersion, révèlent l'existence de deux couches principales de produits de corrosion, bien distinctes et de compositions différentes. La première, peu épaisse, adhérente au métal, est essentiellement formée d'oxy-hydroxydes de fer et d'hydroxy-chlorures de fer. La seconde couche, externe du côté fluide géothermal, peut être plus épaisse (>1 mm) et se détache facilement du support. Elle est essentiellement formée d'un mélange de sulfures de fer. L'examen des épaisseurs des couches de dépôts, révèle la croissance des deux couches en fonction du temps d'immersion.

Pour pallier ces problèmes de corrosivité des fluides et le colmatage des puits, deux niveaux de réflexion se sont développés : d'une part, la prévention des risques de corrosion par l'utilisation de matériaux nouveaux (revêtement anti-corrosion, aciers spéciaux, échangeurs en titane, ... ), d'autre part, la protection des ouvrages existants par traitement du fluide.

La mise en oeuvre de traitements anti-corrosion depuis 1989 par l'injection (soit au fond du puits de production, soit au niveau de la pompe d'exhaure) d'agents tensio-actifs cationiques a permis de résoudre la plus grande partie des problèmes de corrosion/dépôts identifiés. La période écoulée a permis la mise en place de dispositifs de traitement et la sélection d'inhibiteurs de corrosion efficaces à des teneurs aussi faibles que possible (2,5 ppm en moyenne) et à des coûts acceptables. Ces produits, constitués en majorité de dérivés azotés du type sels d'ammonium quaternaires, ont une durée de rémanence de quelques heures et permettent de créer un film protecteur à l'interface entre les parois des tubages et le fluide. Toutefois, il apparaît aujourd'hui sur certains sites des problèmes nouveaux auxquels l'ingénierie de la géothermie n'était pas préparée. Il s'agit principalement :

- des phénomènes de dépôt qui persistent et de corrosion sous-dépôt qui, dans la majorité des cas, prend la forme de piqûres,
- de l'inadaptation des inhibiteurs à la spécificité de chaque fluide (pH, teneurs en  $\text{HS}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ).
- de la croissance de l'activité bactérienne dans certains puits.

Concernant ce dernier problème, des interrogations subsistent sur l'activité microbiologique dans les puits, notamment les souches présentes, la localisation et l'évolution de l'activité bactérienne (tubage, proche réservoir, réservoir lointain), sur une éventuelle recirculation du fluide géothermal déjà produit et injecté qui annoncerait l'arrivée prochaine du front froid et sur les conséquences sur les exploitations qu'engendrerait une activité bactérienne (sulfato-réductrice ou autre) croissante.

Cet article présente l'état des connaissances actuelles sur l'activité microbiologique des eaux géothermales exploitées en région parisienne. Il porte notamment sur l'identification des souches, la localisation et l'évolution de l'activité bactérienne dans les installations et réservoirs géothermaux, et les conséquences de celle-ci sur la corrosion et le colmatage des tubages des puits géothermaux.

## II. Les bactéries dans les puits géothermaux exploitant l'aquifère du dogger du bassin de Paris

La composition minérale des eaux induit et transcrit la composition biologique du milieu. Les données sur les compositions minérales et les caractéristiques physico-chimiques (pH, Eh, température, etc ...) des eaux géothermales n'ont pas été corrélées à l'écologie des milieux géothermaux du dogger du bassin de Paris. Toutefois, il apparaît que des microflore peuvent se développer aisément dans ces eaux, où elles trouveraient des conditions physico-chimiques et nutritives favorables. Les substrats utilisés par certaines bactéries comme les sulfato-réductrices conduisent, à des développements bactériens préférentiels, dont les conséquences en corrosion sont de gravité variable.

Différents types bactériens ont été mis en évidence dans les fluides prélevés en surface de divers sites géothermiques. L'étude de Daumas *et al.* [6, 7] révèle la prédominance des microflore anaérobies sur les aérobies et des microflore thermophiles sur les mésophiles. La mesure d'activité microbienne autotrophe et hétérotrophe au moyen de traceurs radioactifs dans les eaux a montré que l'activité biologique dominante est de type chemolithotrophe. La microflore responsable de cette activité est essentiellement thermophile [8].

Il est probable que cette activité autotrophe importante soit la conséquence d'une réduction ou d'un épuisement de la réserve organique initiale, au cours des temps géologiques, de cet aquifère profond du dogger peu renouvelé et isolé de toute production photosynthétique. Les bactéries hétérotrophes sont donc mal adaptées à ces conditions de faible potentialité organique [8].

De plus, ces dernières semblent être mésophiles (développement optimum entre 20 et 44°C), traduisant bien leur mauvaise adaptation aux températures élevées de l'aquifère (65-70°C). Cette inadaptation au milieu pose le problème de l'origine de ces bactéries qui de plus s'avèrent être aérobies. Or, le fluide géothermal du dogger étant très réducteur (anaérobie), on suppose que ces bactéries sont d'origine allochtone, très probablement introduites lors des opérations de forage et/ou par percolation des eaux de surface. Par contre, la microflore autotrophe s'avère être thermophile (température optimale > 45°C) et anaérobie. Ces thermophiles chemolithotrophes anaérobies, particulièrement bien adaptées aux conditions de l'aquifère (T, pH, anaérobiose, salinité, potentiel rédox, présence de sulfates et de donneurs d'électrons), capables d'y proliférer et d'y exercer une activité métabolique dans l'aquifère pourraient être d'origine autochtone [6].

Une part importante de l'activité autotrophe décelée serait due à des bactéries méthanogènes (anaérobies). La détection de ces bactéries est à relier aux concentrations en méthane détectées dans les fluides géothermaux du dogger atteignant en moyenne 20 à 30% des gaz libres.

Peu de travaux ont été consacrés à l'identification des espèces. Concernant les bactéries sulfato-réductrices, quelques souches ont été identifiées : *Desulfovibrio desulfuricans* et *Desulfotomaculum geothermicum* [9]. Cette dernière est autotrophe stricte utilisant l'hydrogène et le sulfate comme source d'énergie, et le dioxyde de carbone comme unique source de carbone. Elle se développe de manière optimale dans les conditions suivantes : température 54°C, pH 7,2-7,4 et salinité 25-35 g/l de NaCl.

Toutefois, Magot *et al.* [10] ont identifié dans des émulsions brut-eau en tête de puits pétroliers du dogger du bassin parisien trente six genres de BSR. Leur présence semble être liée à la température et la salinité du milieu. Pour l'intervalle de température de 60 à 70°C et une faible salinité (< 1%) deux genres de *Desulfotomaculum sp.* et deux de *Thermodesulfobacterium sp.* ont été identifiés, alors que pour, une température inférieure à 40°C, ont été identifiés deux genres *Desulfovibrio desulfuricans*, un genre *Desulfovibrio longue* et deux genres *Desulfovibrio vulgaris*. Pour une faible température (<30°C) et une salinité moyenne haute (4 à 10,5%), ont été identifiés quatorze genres *Desulfovibrio desulfuricans*, un genre *Desulfovibrio longus*, trois *Desulfovibrio sp.*, quatre *Desulfotomicrobium sp.*, un *Desulfotomaculum sp.* et deux genres inconnus.

D'autres types de bactéries du fer comme les genres *Leptothrix*, *Gallionella*, *Thiobacillus* ont été recherchés. Seule l'espèce *Thiobacillus denitrificans* a été détectée de manière non systématique dans les eaux du Dogger, qui, du fait de sa capacité à utiliser le nitrate (présent à une concentration inférieure à 0,5 mg/l) à la place de l'oxygène, est particulièrement adaptée aux conditions du Dogger.

Dans les prélèvements d'eau en surface, seules sont dénombrées les bactéries entraînées par l'eau, sans donner une indication sur l'activité réelle des bactéries fixées sur les surfaces (dépôts, réservoir). Les bactéries dénombrées sur les coupons de corrosion sont en nombre très grand (par rapport à celles présentes dans le fluide circulant) et variable (de quelques cellules par cm<sup>2</sup> à quelques millions par cm<sup>2</sup>). Par exemple des densités bactériennes de l'ordre de 10<sup>9</sup> cellules/g de produit de corrosion ont été relevées sur les sites géothermiques du nord parisien. Une différence importante en nombre a été constatée entre les bactéries dénombrées sur les coupons en acier au carbone et celles dénombrées sur les coupons en acier inoxydable exposés pendant la même période (tabl. 1). Les deux nuances d'acier testées, affectées par la corrosion, possèdent une couche de dépôts de produits de corrosion dont l'examen par diffractométrie de rayons X indique la présence très abondante de mackinawite (sulfure de fer) sur l'acier au carbone et peu abondante sur l'acier inoxydable. Ceci démontre que le nombre des bactéries est lié à la présence d'un dépôt abondant. Ces produits constituent à la fois un site préférentiel d'accrochage et de développement de bactéries et qu'ils résultent d'une activité bactérienne. En effet, l'observation des sections polies au microscope métallographique a révélé que la mackinawite s'est formée au sein même des cadavres bactériens [2, 3, 1 1].

**Tableau 1.** Analyses bactériologiques d'eau et de dépôts.

Fluide de Fontainebleau (non traité par inhibiteur). Dépôts obtenus après 30 jours d'exposition. Les densités bactériennes sont exprimées en nombre de bactéries par ml pour l'échantillon & eau et par cm<sup>2</sup> pour les coupons.

Échantillon prélevé	Densités bactériennes	
	microflore sulfato-réductrice	microflore hétérotrophe anaérobie
eau géothermale	0,250 10 <sup>6</sup>	0,0005 10 <sup>6</sup>
surface acier au carbone API K55	50,000 10 <sup>6</sup>	2,000 10 <sup>6</sup>
surface acier 316L	0,005 10 <sup>6</sup>	0,005 10 <sup>6</sup>

Le dénombrement des microflores présentes sur des fragments de dépôts ramenés en surface depuis des profondeurs de 700 à 1890 m du puits de réinjection a révélé la présence de différents types physiologiques microbiens. On observe une dominance des bactéries hétérotrophes aérobies mésophiles par rapport aux hétérotrophes anaérobies thermophiles qui sont mieux adaptées aux conditions désaérées et de forte température des fonds de puits. Par contre, au niveau des microflores sulfato-réductrices, les bactéries thermophiles sont plus abondantes que les mésophiles avec des effectifs importants pouvant atteindre 10<sup>5</sup> bactéries/ml. Par ses caractéristiques et par son abondance, la microflore sulfato-réductrice pourrait être métaboliquement active dans les conditions des dépôts riches en éléments soufrés. Du point de vue taxonomique, cette dernière paraît être du genre *Desulfotomaculum* capable de produire une forme de résistance et possédant des représentants thermophiles.

### III. La cartographie initiale des teneurs en sulfure dans les fluides géothermaux du Dogger du Bassin parisien

Des études analytiques systématiques ont mis en évidence l'existence d'une zone particulièrement riche (de 30 à 100 mg/l) en sulfure au nord, nord-ouest et ouest de Paris, le reste de l'aquifère présentant des valeurs beaucoup plus basses (0 à 10 mg/l). Une cartographie a été effectuée en 1985 [12, 13]. La répartition géographique des teneurs en sulfure en tête de puits de production correspond à celle de l'isotope stable du soufre <sup>34</sup>S des sulfates [14, 15] montrant une zone confinée (fluide réduit) au Nord et Ouest et un fluide moins réduit au Sud et Est de Paris. Les zones à fortes teneurs en sulfure correspondent également à celles où le colmatage des puits est important [4].

### IV. Évolution de la teneur en sulfure d'hydrogène dans les fluides géothermaux et origine des évolutions

Depuis 1988, les analyses des eaux prélevées en tête des puits de production montrent pour certains puits (ceux du Sud et de l'Est de Paris) une augmentation de leur teneur en sulfure. À débit constant, cette teneur augmente régulièrement depuis la mise en service de ces puits. Cette augmentation semble ne concerner que les puits où la teneur initiale en sulfure est nulle ou faible (<5 mg/l).

En 1989, nous avons entrepris une étude globale de l'importance et du développement du sulfure contenu dans les fluides prélevés en tête des puits de production. Il s'agissait d'établir une nouvelle cartographie de la répartition du sulfure et un classement par zones homogènes, mettre en évidence les variations de la teneur en sulfure liées au débit d'exploitation des puits, d'interpréter et de quantifier les phénomènes de production de sulfure et finalement, de mettre en évidence l'origine de la hausse des teneurs en sulfure observée.

#### IV.1 La cartographie de 1991 des teneurs en sulfure dans le Bassin parisien

La nouvelle cartographie des teneurs en sulfure a été réalisée en 1989-91 sur l'ensemble du réservoir du Dogger et à différents débits d'exploitation [16]. Cette étude concorde avec celle réalisée en 1985. Du fait de la variation du débit, deux zones et deux types de variations se distinguent :

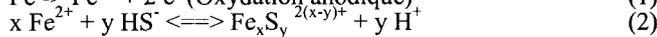
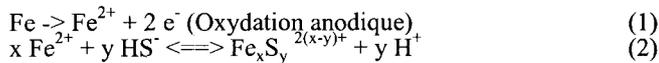
- **Une zone à fortes teneurs en sulfure** (de 30 à 100 mg/l), **située au Nord et à l'Ouest de Paris (départements 93 et 95) et secteur Melun-Fontainebleau dans le sud.** Dans cette zone, qui présentait déjà une forte teneur initiale en sulfure, on a constaté qu'il n'y avait pas de variations significatives de cette teneur en fonction du temps et du débit d'exploitation.
- **Une zone à faibles teneurs en sulfure** (de 0 à 30 mg/l), **située au sud et à l'est de Paris (départements 91, 94 et 77 sauf secteur Melun-Fontainebleau) :** à faible concentration initiale, cette zone a révélé des teneurs en sulfure supérieures à celles observées en 1985, et ces teneurs en sulfure varient avec le débit d'exploitation.

Les deux types de variations sont :

- **A l'échelle régionale**, les teneurs en sulfure varient de plusieurs ordres de grandeurs entre certains puits du sud et de l'est de Paris et quelques sites de la Seine-Saint-Denis (variation régionale), alors que la salinité totale sur l'ensemble des puits géothermiques ne change que d'un facteur 5 à 6 (5,8 à 35 g/l). Il n'y a pas de corrélation globale entre les teneurs en sulfure, les températures et/ou les salinités des fluides.
- **A l'échelle locale**, les teneurs en sulfure ne sont pas constantes au cours du temps, surtout dans les zones dites à faible concentration, le Val-de-Marne et la Seine-et-Marne.

#### IV.2 Suivi de la chimie des fluides en fonction du débit d'exploitation et du traitement bactéricide des puits

Il est avant tout nécessaire de considérer précisément toutes les causes pouvant induire des évolutions des teneurs en sulfure et en fer dissous en tête des puits de production et par la suite de définir les expériences à conduire pour provoquer ces évolutions afin de les étudier. Le sulfure et le fer dissous sont en rapport avec les phénomènes de corrosion-dépôts dans les tubages des puits selon :



La demi-réaction (1) explique la production de  $\text{Fe}^{2+}$  par la corrosion des tubages, alors que la seconde réaction montre la consommation du  $\text{Fe}^{2+}$  et du sulfure par la précipitation des sulfures de fer. On peut imaginer que cette dernière réaction s'inverse sous certaines conditions (diminution de pH), c'est-à-dire, que les sulfures de fer présents sur les tubages se redissolvent (passage du sulfure et du  $\text{Fe}^{2+}$  en solution). À ces possibilités de production-consommation des espèces  $\text{Fe}^{2+}$  et sulfure, s'ajoute la production du sulfure par la réduction bactérienne des sulfates, schématisée simplement par  $\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HS}^-$ . En effet, les BSR sont connues pour avoir la possibilité de produire du sulfure en réduisant les sulfates dans les eaux anaérobies. Ainsi, au niveau de la boucle géothermale, il est nécessaire de définir les deux systèmes : le réservoir  $S_1$  et le puits de production  $S_2$ .

S<sub>1</sub> constitue le réservoir éventuellement composé de différents niveaux producteurs appelés n<sub>1</sub>, n<sub>2</sub>, ..., n<sub>n</sub>. Ces niveaux contribuent au débit global mesuré en surface, Q<sub>T</sub>, avec leurs débits respectifs q<sub>1</sub>, q<sub>2</sub>, ..., q<sub>n</sub> (Q<sub>T</sub> = ∑ q<sub>i</sub>). La température entre le niveau producteur supérieur et le niveau producteur inférieur varie peu (de 1 à 3°C). L'eau produite par chaque niveau producteur peut avoir sa propre composition chimique et microbiologique. Les études antérieures n'ont pas permis de connaître les amplitudes des éventuelles variations entre les différents niveaux producteurs. Les teneurs en sulfure et en fer dissous dans le fluide du réservoir profond, c'est-à-dire avant tout contact avec l'acier du tubage, ne sont pas connues (faute de pouvoir être dosées) pour un site déterminé à un instant donné.

S<sub>2</sub> constitue le puits proprement dit, c'est-à-dire les tubages et les dépôts qui y sont accrochés. On pourrait étendre le système S<sub>2</sub> au proche réservoir, c'est-à-dire la partie du réservoir toute proche du puits de production et susceptible d'être perturbée par une opération lourde sur le puits de production (curage). Des BSR (et d'autres types de bactéries) sont présentes dans le fluide circulant, mais également sur ou sous les dépôts. Ces bactéries peuvent produire du sulfure par réduction des sulfates. Le sulfure est évacué par le fluide à une vitesse constante à un temps t et à un débit donné. Si le débit varie, la vitesse de diffusion du sulfure dans le fluide peut varier. Mais le sulfure peut précipiter sous forme Fe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> par réaction avec le fer qui provient du réservoir ou de la corrosion des tubages. Ces sulfures de fer peuvent s'accrocher aux parois des tubages ou être entraînés par le fluide circulant.

Dans tous les cas, les mesures et analyses sont effectuées en surface, en tête du puits de production, où la composition du fluide est la conséquence de la contribution des deux systèmes S<sub>1</sub> et S<sub>2</sub>. Pour comprendre les évolutions possibles à débit d'exploitation variable, il est nécessaire d'effectuer un paramétrage des concentrations (en considérant les systèmes S<sub>1</sub> et S<sub>2</sub>) et d'introduire la notion du flux d'ion. Les flux totaux en sulfure et en fer en tête de puits de production à chaque instant s'écrivent respectivement :

$$Q_T[S^{2-}]_T = \sum q_i \cdot [S^{2-}]_i + \Phi_{\text{sulfbact}} - \Phi_{\text{sulfdépôts}} \tag{3}$$

$$Q_T [Fe^{2+}]_T = \sum q_i \cdot [Fe^{2+}]_i + \Phi_{\text{fer corr}} - \Phi_{\text{fer dépôts}} \tag{4}$$

Q<sub>T</sub> est le débit total mesuré en tête de puits (unité en m<sup>3</sup>/h). [S<sup>2-</sup>]<sub>T</sub> et [Fe<sup>2+</sup>]<sub>T</sub> sont respectivement les teneurs en sulfure et en fer dissous dosées en tête du puits de production. [S<sup>2-</sup>]<sub>i</sub> et [Fe<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> sont respectivement les teneurs en sulfure et en fer dissous produits par chaque niveau i du réservoir profond. ∑ q<sub>i</sub>·[S<sup>2-</sup>]<sub>i</sub> et ∑ q<sub>i</sub>·[Fe<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> sont respectivement les flux de sulfure et de fer produits par le réservoir profond composé de différents niveaux producteurs produisant avec des débits respectifs q<sub>i</sub> (avec 1 < i < n). Si la concentration est exprimée en mg/l et le débit en m<sup>3</sup>/h, le flux est en g/h. Φ<sub>sulfbact</sub> est le flux du sulfure produit au temps t par les bactéries dans le casing et le proche réservoir. Φ<sub>fer corr</sub> est le flux de fer produit au temps t par la corrosion dans le casing. Φ<sub>sulfdépôts</sub> et Φ<sub>fer dépôts</sub> sont respectivement les flux de sulfure et de fer déposés sous forme de Fe<sub>x</sub>S<sub>y</sub> sur les parois du casing (en g/h).

Si on considère que les niveaux producteurs du réservoir profond produisent un fluide de même concentration en sulfure et en fer dissous, alors Q<sub>T</sub> = ∑ q<sub>i</sub> les relations précédentes deviennent :

$$[S^{2-}]_T = [S^{2-}]_{\text{réservoir}} + \Phi_{\text{sulfbact}} / Q_T - \Phi_{\text{sulfdépôts}} / Q_T \tag{5}$$

$$[Fe^{2+}]_T = [Fe^{2+}]_{\text{réservoir}} + \Phi_{\text{fer corr}} / Q_T - \Phi_{\text{fer dépôts}} / Q_T \tag{6}$$

Dans ce cas, la teneur en sulfure dépend de l'inverse du débit pour sa partie produite par les bactéries et pour sa partie déposée sous forme de sulfures de fer. En parallèle, la concentration en fer dissous dépend de l'inverse du débit pour sa partie produite par la corrosion et pour sa partie déposée sous forme de sulfures de fer.

Avec ces définitions et considérations théoriques préliminaires, deux méthodes ont été définies pour provoquer et étudier les évolutions éventuelles de la composition du fluide prélevé en tête des puits de production :

- le suivi physico-chimique de la composition du fluide<sup>1</sup> à débits d'exploitation variables,
- le suivi physico-chimique de la composition du fluide avant et après un traitement bactéricide du puits de production.

#### **IV.2.1 Suivi physico-chimique en fonction du débit dans la zone à forte teneur en sulfure**

Pour la zone nord, à forte concentration en sulfure, un programme de suivi journalier des paramètres physico-chimiques et des concentrations des espèces chimiques effectué en été et en hiver a permis de montrer qu'il n'y a pas de variation significative entre les concentrations en sulfure à débit de ces saisons. D'ailleurs, dans cette zone, les concentrations en sulfure restent stables depuis plusieurs années. De plus, ce suivi a mis en évidence l'absence d'hétérogénéité chimique horizontale et verticale dans le réservoir [ 17].

#### **IV.2.2 Suivi physico-chimique d'un puits artésien de la zone sud avant et après un traitement bactéricide**

Dans la zone sud, à faible teneur initiale en sulfure, un traitement bactéricide des parois internes du doublet géothermique d'Orly 1 a permis de mettre en évidence la contribution des BSR à l'augmentation des teneurs en sulfures dissous en tête du puits. La concentration en sulfure dans le fluide en tête du puits de production a été diminuée de 60% par rapport à la concentration avant le traitement. Aucune variation notable n'a été observée dans les concentrations en anions et cations majeurs [18].

#### **IV.2.3 Suivi physico-chimique en fonction du débit d'exploitation dans la zone à faible teneur en sulfure**

Un suivi physico-chimique de la composition du fluide en fonction du débit d'exploitation a été réalisé sur deux puits de l'Est parisien (Meaux Beauval 1 (GMX5) et Meaux Beauval 2 (GMX8) et deux autres puits du Sud-Est parisien (Créteil (GCRTI) et Fresnes (GFR2) entre le 9 et le 12 juillet 1990 puis entre le 6 et le 12 septembre 1990. Les expérimentations ont consisté à doser sur site les teneurs en sulfure, en fer dissous et en fer total pour plusieurs débits (100 %, 50 %, 33 % et 25 % du débit nominal) correctement stabilisés pendant 24 h. Des prélèvements d'échantillons ont été également effectués, dans les mêmes conditions, pour les analyses au laboratoire des anions, des cations et la détermination des rapports isotopiques  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$  du soufre des sulfures et des sulfates et de  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  de l'oxygène des sulfates [16].

---

#### **1 méthodologie analytique :**

Analyses chimiques : L'échantillonnage et les méthodes analytiques ont été décrites en détail par Marty *et al.*, (1988) pour les gaz et par Criaud *et al.*, (1988) pour les substances dissoutes.

Analyses isotopiques : Le soufre des sulfures dissous et sulfates est analysé isotopiquement suivant la méthode de Thode *et al.*, (1953, 1961). les solutions sont filtrées immédiatement après échantillonnage dans le but d'éliminer les bactéries qui pourraient réduire les sulfates en sulfures et les espèces réduites du soufre sont précipitées par l'acétate de cadmium acidifié. Au laboratoire le sulfure de cadmium précipité est séparé par une seconde filtration de façon à éviter toute oxydation qui pourrait altérer la composition isotopique du soufre dans les sulfures et les sulfates.

#### IV.2.3.1 Analyse de la composition générale des fluides et particulièrement des concentrations en fer et sulfure dissous.

La salinité totale (TDS) des fluides prélevés à différents débits ne varie pas significativement (fig. 1). Cette stabilité de la composition du fluide en fonction du débit d'exploitation dans les différents puits permet de penser qu'il y a une homogénéité de la composition chimique des fluides provenant de différents niveaux producteurs (si toutefois ces derniers ont une existence réelle) c'est-à-dire que ces niveaux produisent des fluides de même composition chimique  $[ion]_i = [ion]_T$  ou la contribution relative des différents horizons producteurs reste stable aux différents débits. Les concentrations en fer dissous et en fer total (et leurs flux) ne suivent pas de façon remarquable une loi en fonction du débit (ou l'inverse du débit). Sur tous les sites les concentrations en fer dissous et en fer total montrent une stabilité ou une très légère augmentation en fonction du débit (fig. 2).

Les teneurs en sulfure dissous varient de façon importante en fonction du débit d'exploitation (fig. 3a). Parallèlement, le flux du sulfure dissous reste relativement constant, comme si le débit d'exploitation n'intervenait que sur la dilution plus ou moins grande du sulfure présent (et produit) par unité de temps. On remarque que le tracé de  $[S^{2-}]_T$  en fonction de l'inverse du débit d'exploitation est linéaire dans les quatre cas traités (fig. 3b). Si l'on émet l'hypothèse que le réservoir profond produit un fluide dont la concentration en sulfure ne dépend pas du débit, alors l'ordonnée à l'origine de la droite  $[S^{2-}]_T$  tracée en fonction de  $1/Q_T$  serait  $[S^{2-}]_{réservoir}$  et la pente de cette droite serait égale à  $:\Phi_{sulfbact} - \dots_{sulfdépôts}$ . Il convient d'expliquer l'augmentation de la concentration en sulfures lorsque le débit d'exploitation diminue. En écartant les problèmes analytiques, trois hypothèses a priori possibles ont été considérées et explorées. Elles sont décrites ci-dessous :

**1) Une diminution de la précipitation des sulfures de fer ( $Fe_xS_y$ ) dans le puits de production** (diminution du terme  $_{sulfdépôts}$ ) soit par une diminution de la corrosion des tubages, soit par une diminution du pH du fluide. Cette première hypothèse est en rapport avec les vitesses de corrosion et de dépôt des sulfures de fer en fonction du débit d'exploitation. Si la corrosion augmentait avec le débit, on aurait à faible débit une teneur plus faible en fer dans l'eau qui précipiterait une quantité équivalente de sulfures. Or, on sait expérimentalement que la corrosion augmente à faible débit [1]. Une diminution du pH à faible débit engendrerait l'augmentation de la concentration en fer dans le fluide. Or, le pH ne varie pas en fonction du débit et de plus on n'observe pas d'augmentation de la concentration en fer à faible débit. Il est évident que l'on ne peut mettre en corrélation directe l'augmentation des teneurs en sulfure avec cette hypothèse puisque cette augmentation est si forte à faible débit que l'on ne peut pas l'expliquer uniquement par une corrosion et/ou une précipitation plus faibles.

**2) Une redissolution, suite à une diminution du pH, des sulfures de fer ( $Fe_xS_y$ ) déjà précipités.** Cette seconde hypothèse suppose une variation du pH du fluide. Or le pH du fluide ne varie pas significativement en fonction du débit. De plus, il y a incompatibilité avec l'observation, car une diminution du pH devrait entraîner une corrosion plus forte et une redissolution des sulfures de fer, ce qui entraînerait dans les deux cas une augmentation de la concentration en fer (et en sulfures) en solution. Or, on ne constate pas d'augmentation significative de la concentration en fer à faible débit (fig. 2).

Ces deux hypothèses ne sont pas satisfaisantes. En effet, il semble hautement improbable que de telles teneurs en sulfure soient produites uniquement par une diminution de la corrosion à faible débit, par la redissolution des sulfures de fer déjà précipités dans le puits ou par une hétérogénéité dans les compositions chimiques du réservoir. De plus, ces hypothèses ne correspondent pas à la réalité, car nous n'observons pas de variation de pH, ni de variation notable de la teneur en fer dans le fluide à débit variable.

**3) Une production de sulfure constante - à un instant t donné - due à l'activité bactérienne actuelle dans le système  $S_2$  étendu au proche réservoir.** Cette hypothèse est en rapport avec la production actuelle des sulfures par les BSR. Dans ce cas l'hypothèse que nous cherchons à

valider est plus raisonnable parce que les BSR sont les seules connues à pouvoir produire du sulfure en réduisant les sulfates dans les eaux anaérobies. Si nous considérons que la production actuelle du sulfure par les BSR est constante dans un intervalle de temps relativement court, alors dans ce cas la teneur en sulfure diminuera lorsque le débit augmentera (ou vice-versa), simplement parce que la quantité de sulfure produite pendant une période donnée sera plus ou moins diluée en fonction du débit d'exploitation. Autrement dit, la concentration du sulfure, dont on suppose la production régulière sur un certain laps de temps, décroît lorsque le débit du fluide qui l'évacue croît.

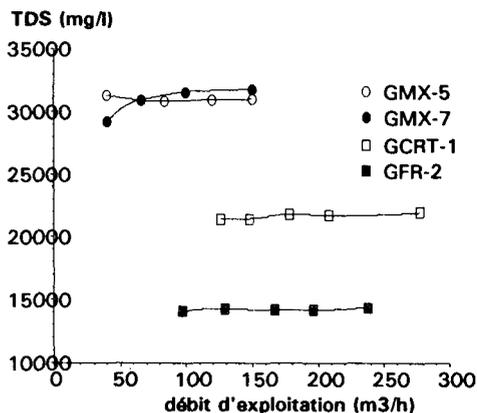


Fig. 1. Variation de la salinité totale (TDS) dans l'eau géothermale prélevée en tête de 4 puits à l'est et au sud du Bassin parisien en fonction du débit d'exploitation

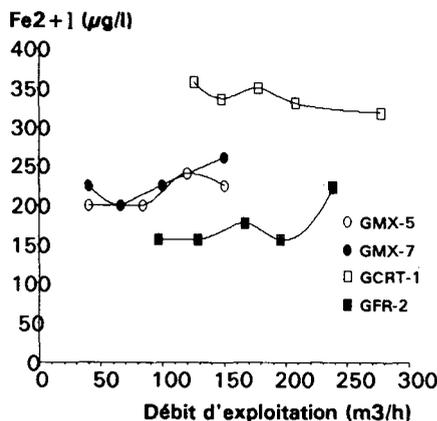


Fig. 2. Variation de la concentration en fer dissous dans l'eau géothermale prélevée en tête de 4 puits à l'est et au sud du Bassin parisien en fonction du débit d'exploitation

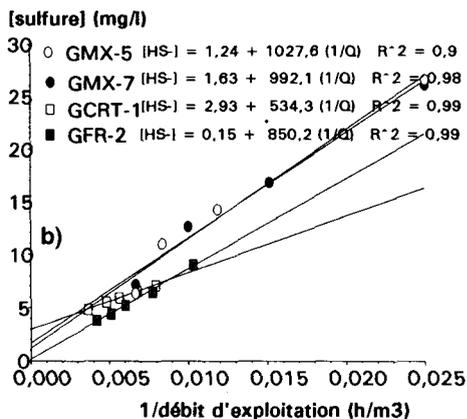
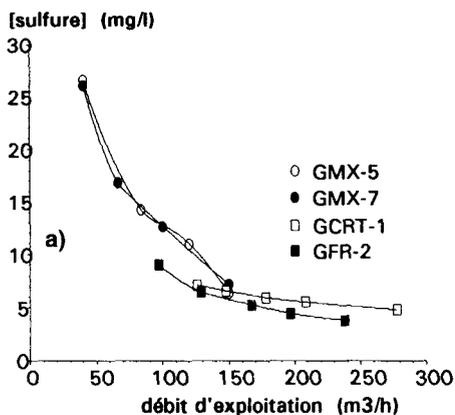


Fig. 3. Variation de la concentration en sulfure dissous dans l'eau géothermale prélevée en tête de 4 puits à l'est et au sud du Bassin parisien en fonction a: du débit d'exploitation; b: de l'inverse du débit d'exploitation.

Cette dernière hypothèse est la plus vraisemblable puisque le tracé de la concentration en sulfure  $[S^{2-}]_T$  en fonction de l'inverse du débit d'exploitation donne une droite dans les quatre cas (fig. 3b), d'ordonnée à l'origine  $[S^{2-}]_{\text{réservoir}}$  et de pente égale à  $\Phi_{\text{sulfbact}} - \text{sulfdépôts}$ . D'après les hypothèses 1 et 2 on ne peut éliminer le terme  $\text{sulfdépôts}$ , mais on peut supposer qu'il dépend peu du débit. L'hypothèse d'une activité bactérienne actuelle et croissante comme origine de l'augmentation de la teneur en sulfure dans l'eau prélevée en tête des puits de production de certains puits est ici renforcée. Il en ressort que la seule hypothèse raisonnable parmi les trois avancées ci-dessus est celle ayant trait à l'activité bactérienne actuelle dans les puits.

*IV 2.3.2 Analyse de la composition isotopique du soufre ( $^{34}S^{32}S$ ) du sulfure et des sulfates en fonction du débit d'exploitation*

Bien que les expériences précédentes aient mis en évidence la présence d'une activité bactérienne, une méthode innovante a été utilisée pour obtenir des informations complémentaires sur la variation des concentrations en sulfure avec le débit et confirmer cette hypothèse. Cette méthode est basée sur la variation avec le débit de la composition isotopique du soufre, dans le sulfure et les sulfates.

L'étude systématique de la composition isotopique du soufre dans les divers composés naturels permet de mettre en évidence un certain nombre de variations systématiques et de compositions types. L'élément soufre possède deux isotopes stables le  $^{34}S$  et le  $^{32}S$ . Comme il est difficile de doser précisément les abondances absolues, on compare alors les isotopes entre eux. Le rapport isotopique du soufre dans un échantillon est le rapport de l'abondance de l'isotope lourd et rare sur celle de l'isotope léger et abondant :  $R_{\text{échan}} = (^{34}S/^{32}S)_{\text{échan}}$ . Comme ces variations de composition sont extrêmement faibles, on les exprime en une unité particulière, l'unité  $\delta$ . On compare généralement les abondances relatives dans les échantillons à celles dosées dans un standard international qui est le Canyon Diablo Troilite (CDT) pour le soufre. Les concentrations en isotopes lourds peuvent alors être exprimées sous forme de  $\delta$  ‰ :

$$\delta^{34}S_{\text{échan}} \text{ ‰} = [(R_{\text{échan}}/R_{\text{réf}}) - 1] \cdot 1000 \text{ par rapport à CDT.}$$

L'unité  $\delta$  est donc l'écart relatif par rapport au standard (ce dernier est choisi tel que les variations se produisent de part et d'autre de la valeur  $\delta = 0$  qui, par définition, est celle du standard).

Dans les eaux anaérobies, telles que celles du Dogger du Bassin parisien, la réduction des sulfates en sulfures par les BSR, schématisée par  $SO_4^{2-} \rightarrow HS^-$ , induit une augmentation du  $^{34}S$  dans les sulfates résiduels (donc leur  $\delta^{34}S(SO_4^{2-})$  augmente) et une diminution du  $^{34}S$  dans les sulfures produits (donc leur  $\delta^{34}S(HS^-)$  diminue). En effet, les sulfates résiduels sont d'autant plus enrichis en  $^{34}S$  que le fluide a été réduit [15, 19, 20, 21, 22, 23].

**Tableau 2.** Concentrations en sulfure et sulfates, et  $\delta^{34}S(\text{sulfure})$  et  $\delta^{34}S(\text{sulfate})$  dans l'eau géothermale en tête de deux puits de production au sud et à l'est parisien, aux débits mentionnés.

puits	Débit (m <sup>3</sup> /h)	[sulfure] (mg/l)	[sulfate] (mg/l)	$\delta^{34}S(\text{sulfate})_T$ (‰)	$\delta^{34}S(\text{sulfure})_T$ (‰)
GMX7 Meaux Beauval 2	40	26,15	1040	25,1	3,9
	66	16,83	1040	24,1	5,8
	100	12,72	1065	23,8	7,6
	150	7,21	1065	24,2	7,5
GFR2 Fresnes	97	9,06	765	25,7	0,3
	129	6,46	780	26,1	1,0
	167	5,28	785	25,8	1,4
	196	4,46	780	27,0	2,4
	238	3,82	780	26,0	1,9

Le tableau 2 indique les teneurs en sulfure et les  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$  et  $\delta^{34}\text{S}(\text{SO}_4^{2-})$  correspondants mesurés à débits différents dans deux puits. Une variation remarquable dans les  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$  (et de la teneur en sulfure) en fonction du débit d'exploitation (fig. 4) est constatée.

Le  $\delta^{34}\text{S}(\text{SO}_4^{2-})$  (et la teneur en sulfates) dépend faiblement du débit. Toutes ces variations sont significatives et il convient de les comprendre afin de mettre en évidence l'activité bactérienne actuelle dans les puits.

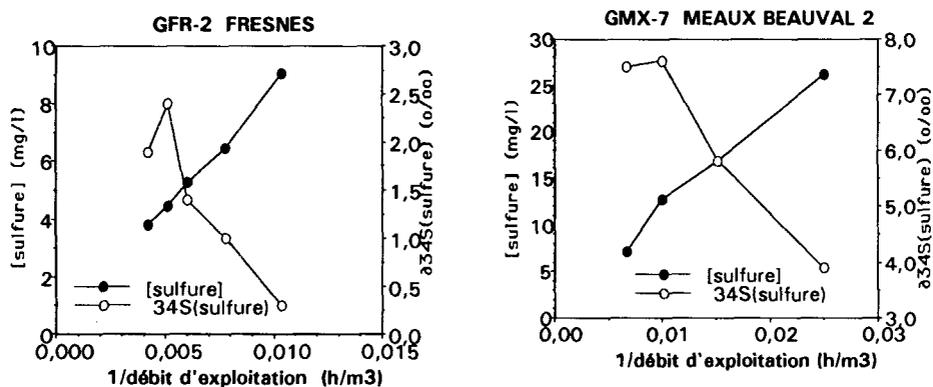


Fig. 4. Variation des concentrations en sulfure dissous et des  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$  en fonction de l'inverse du débit d'exploitation dans l'eau géothermale prélevée en tête de 2 puits (à l'est et au sud du Bassin parisien).

Considérons le schéma simplifié d'un puits de production dont le casing et le proche réservoir sont envahis par les BSR. Cette situation comprend deux systèmes  $S_1$  (le réservoir) et  $S_2$  (le casing et la partie du proche réservoir). Le système  $S_1$  peut produire un fluide à différents débits mesurés en surface. Si l'on considère que le réservoir produit un fluide de même composition chimique à tous les débits, alors le fluide du réservoir profond sera caractérisé par des teneurs en sulfates et en sulfures et des  $\delta^{34}\text{S}(\text{SO}_4^{2-})$  et  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$  constants. Le système  $S_2$  est composé du casing (sa surface est de l'ordre de 1000 à 5000 m<sup>2</sup>), des dépôts qui y sont accrochés et du proche réservoir (1m<sup>3</sup> de carotte du Dogger a une surface de contact de l'ordre d'un million de m<sup>2</sup>). Des BSR sont présentes sur ou sous les dépôts dans le casing et dans le proche réservoir. Ces bactéries produisent des sulfures par réduction des sulfates. La quantité du sulfure produit est constante dans un intervalle de temps court (le flux de production est constant). Les analyses sont effectuées en surface (en tête du puits de production) où la composition du fluide est la conséquence des actions des deux systèmes  $S_1$  et  $S_2$ . Lorsque le fluide géothermal passe à travers la zone polluée du proche réservoir et par la suite dans les tubages, il s'enrichit en sulfures produits par les bactéries à flux constant (la production est constante dans un intervalle de temps relativement court). La teneur dosée en tête du puits de production est donc sensible au débit de production. Elle est d'autant plus grande que le débit d'exploitation est faible. Mais les sulfures produits par les bactéries sont pauvres en <sup>34</sup>S et leur  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$  est plus faible que celui du fluide natif du réservoir profond. Ainsi à cause du mélange des deux types de sulfure : sulfure du réservoir et sulfure bactérien, le  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$  du sulfure mesuré en tête, Soit  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)_T$ , est d'autant plus faible que le débit d'exploitation est faible. En considérant que les sulfures qui arrivent en surface proviennent de deux pôles de mélange, les deux systèmes  $S_1$  et  $S_2$ , on peut écrire

$$\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)_T = x \cdot \delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)_{\text{réservoir}} + (1-x) \cdot \delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)_{\text{bactéries}}$$

où  $x$  est un nombre sans dimension montrant la proportion de mélange. En d'autres termes, la teneur en sulfures mesurée en tête du puits de production est une fonction décroissante du débit d'exploitation, alors que le  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$  est une fonction croissante. L'effet du débit sur  $\delta^{34}\text{S}(\text{SO}_4^{2-})_T$  est inverse et beaucoup moins important que celui de  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)_T$  à cause de la très forte teneur

minitiale en sulfates dans le réservoir profond. Dans les trois cas, les analyses isotopiques indiquent que la quantité de sulfure qui arrive en tête de puits de production est en grande partie la conséquence de l'activité bactérienne actuelle au niveau du système  $S_2$  (état 1991).

## V. Cartographie des teneurs en sulfure et évolutions nouvelles de $\delta^{34}S(HS^-)_T$ en 1994

La cartographie des teneurs en sulfure obtenue en 1994 est présentée sur la figure 5.

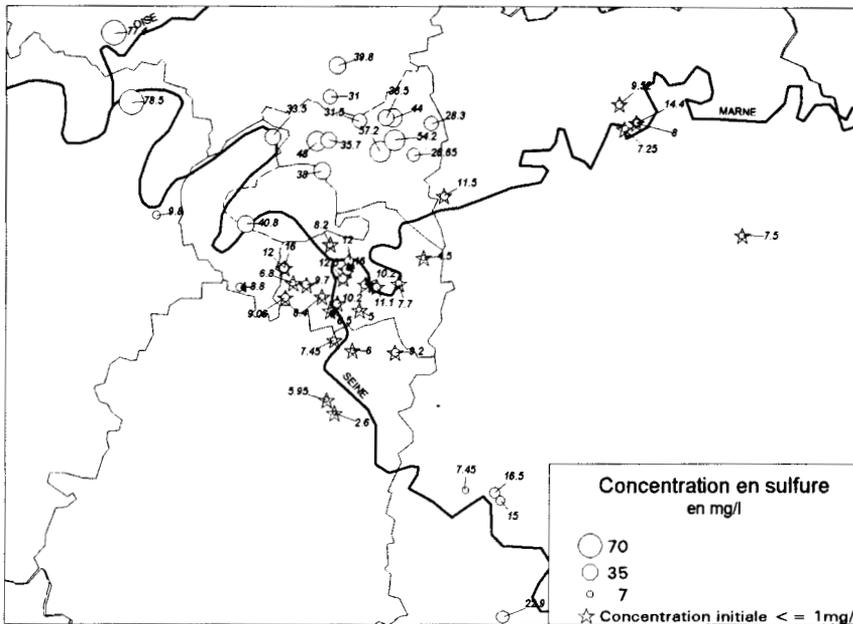


Fig. 5. Carte de répartition des teneurs en sulfure dissous présent dans le fluide en tête de puits de production, relevées ou extrapolées pour un débit de référence de 200 m<sup>3</sup>/h (données en mg/l).

### V.1 Évolution de la teneur en sulfure dissous en fonction du temps et de l'inverse du débit d'exploitation jusqu'en 1994. Mise en évidence de l'augmentation du $[S^{2-}]_{réservoir}$

#### V.1.1 Zone nord et ouest de Paris

Cette zone est caractérisée par la stabilité de la teneur en sulfure  $[S^{2-}]_T$  tant en fonction du débit qu'en fonction du temps (tables 4 et 5). L'évolution de  $[S^{2-}]_T$  en fonction de l'inverse du débit pour trois années différentes (1988, 1990, 1994) concernant le site de la Courneuve Nord (fig. 6) confirme la stabilité de la teneur en sulfure dans le fluide en fonction du temps et du débit. L'ordonnée à l'origine assimilée à la  $[S^{2-}]_{réservoir}$  est comparable à  $[S^{2-}]_T$  car, de part sa valeur élevée, elle n'est pas affectée par le phénomène de dépôts de sulfure de fer sur le tubage. En outre, la stabilité de  $[S^{2-}]_{réservoir}$  témoigne de l'absence d'activité bactérienne récente dans les tubages et le réservoir proche ou lointain.

### V.1 2 Zone sud et est de Paris

Cette zone est caractérisée par une augmentation de  $[S^{2-}]_T$  en fonction du temps et de l'inverse du débit. Les figures 7, 8 et 9 représentent l'évolution de  $[S^{2-}]_T$  en fonction du temps et de l'inverse du débit pour 3 sites géothermaux. Dans tous les cas,  $[S^{2-}]_T$  varie linéairement en fonction de l'inverse du débit et l'ordonnée à l'origine caractérisant  $[S^{2-}]_{\text{réservoir}}$  augmente en fonction du temps. Les résultats obtenus sur plusieurs sites sont résumés dans le tableau 3.

Globalement,  $[S^{2-}]_{\text{réservoir}}$  qui, à l'origine, était inférieure à 1 mg/l est actuellement de l'ordre de 5,5 à 7,0 mg/l, sauf pour les sites de Champigny et de Chevilly-Larue. Cette évolution de réservoir est caractéristique soit d'une récente production bactérienne de sulfure au niveau du proche réservoir contaminé par des BSR suite à des interventions au niveau du casing, soit d'une recirculation d'eau géothermale déjà produite et réinjectée.

**Tableau 3.** Évolution des teneurs en sulfure du réservoir ( $[S^{2-}]_{\text{réservoir}}$ ) en fonction du temps.

Année	Teneur en HS <sup>-</sup> dans le réservoir ou $[S^{2-}]_{\text{réservoir}}$ (mg/l)								
	Créteil	Coulommiers	Meaux Beauval 2	Meaux Collinet	Chevilly Larue	Bonneuil	L'Hay Les Roses	Orly 1	Champigny
origine du forage	0	0,1	0,2	0,1	0,9	0,1	0,66	0,03	0
1987	0,4	1,9							
1988				1,0					
1989						0,5			
1990	2,8		0,9						
1991						2,7		2,4	
1992							4,8		0,6
1993		5,6		2,0		5,7	5,9		
1994	7,0		5,5		1,6	6,9		5,8	

En outre, pour Coulommiers, Créteil, Meaux-Beauval 2, Bonneuil sur Marne, l'Hay-les-Roses, Orly 1, la pente de la droite représentant la variation de  $[S^{2-}]_T$  en fonction de l'inverse du débit est quasiment indépendante du temps, alors qu'elle augmente pour Meaux Collinet. Ceci peut résulter d'une augmentation de la production de sulfure bactérien au niveau du casing puisque la pente représente  $\Phi_{\text{sulfbact}} - \text{sulfdépôts}$ . Cela est vrai dans la mesure où ce dernier paramètre n'est pas significativement affecté par l'intensité du phénomène de dépôt.

### V.2 Évolution de $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)_T$ du sulfure dans le fluide en fonction du temps et de l'inverse du débit dans la zone sud et est de Paris

La figure 10 présente les évolutions comparées de  $[S^{2-}]_T$  et de  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$  au sein du fluide prélevé en tête du puits de production de Bonneuil-sur-Marne en fonction de l'inverse du débit. Le  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$  augmente avec le débit en raison d'un plus fort coefficient de dilution (la contribution du sulfure provenant du réservoir augmente aux dépens du sulfure bactérien produit par les parois qui est plus pauvre en  $^{34}\text{S}$ ).

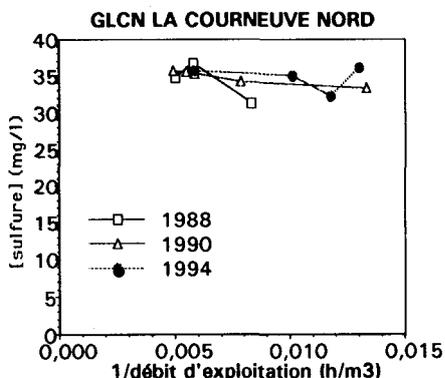


Fig. 6. Variation de la concentration en sulfure dans l'eau géothermale prélevée en tête de puits de Courneuve Nord en fonction de l'inverse du débit pour trois années différentes (1988, 1990, 1994).

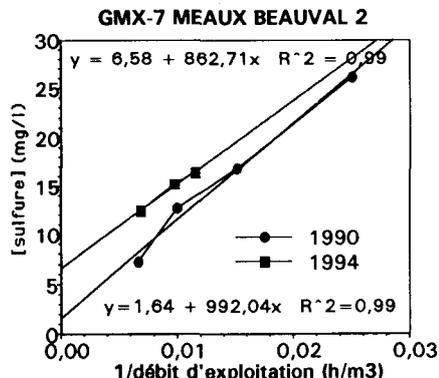


Fig. 7. Variation de la concentration en sulfure dans l'eau géothermale prélevée en tête de puits de Meaux Beauval 2 en fonction de l'inverse du débit pour deux années différentes (1990, 1994).

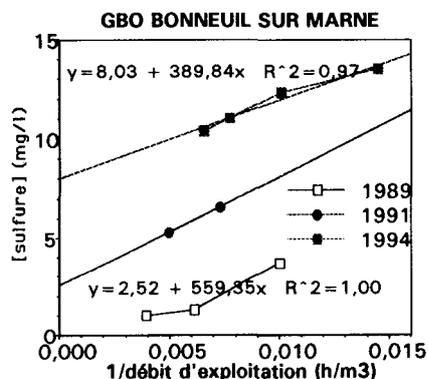


Fig. 8. Variation de la concentration en sulfure dans l'eau géothermale prélevée en tête de puits de Bonneuil sur Marne en fonction de l'inverse du débit pour trois années différentes (1989, 1991, 1994).

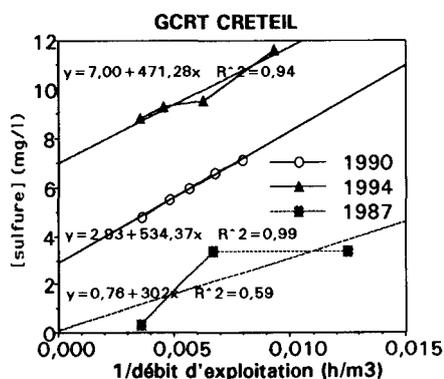


Fig. 9. Variation de la concentration en sulfure dans l'eau géothermale prélevée en tête de puits de Créteil en fonction de l'inverse du débit pour trois années différentes (1987, 1990, 1994).

Le tableau 4 présente les valeurs des  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS})$  de quelques sites en fonction du temps. À débit comparable, le  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS})$  diminue avec le temps pour les neuf sites considérés. Ceci est le témoin d'une activité bactérienne récente au niveau du proche réservoir et/ou au niveau des tubages (la localisation serait prévisible si les valeurs du  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS})$  en fonction du débit étaient connues à différentes dates).

Les sites précédemment étudiés sont supposés être représentatifs (en raison de leur répartition géographique) de l'ensemble des sites de la zone sud et sud-est de Paris qui n'ont pas tous pu faire l'objet du même type de suivi isotopique notamment en raison du coût élevé des analyses.

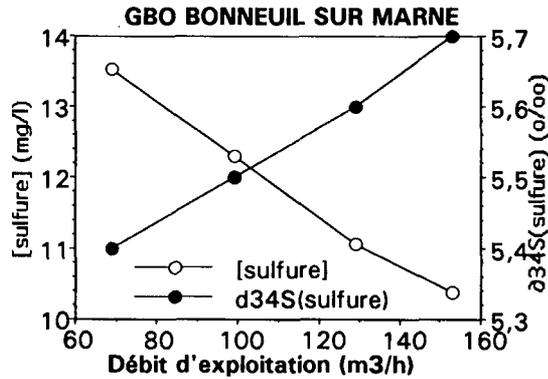


Fig. 10. Évolutions comparées de  $[\text{S}^{2-}]_T$  et de  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$  au sein du fluide prélevé en tête du puits de production de Bonneuil-sur-Mame en fonction de l'inverse du débit.

Tableau 4. Valeurs de  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$  et teneurs en sulfure correspondantes en fonction du temps pour 9 sites géothermaux.

Site	Date	Débit	Teneur en sulfure (mg/l)	$\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$
Meaux Beauval 1	09/07/1990	120	11,05	7,1
	09/02/1995	132	7,70	5,3
Meaux Beauval 2	11/07/1990	150	7,21	7,5
	10/02/1995	155	11,90	5,1
Melun	18/01/1983	-	8,60	10,6
	18/07/1991	-	16,00	3,8
Orly 1	24/11/1989	131	1,87	7,4
	23/02/1995	107	7,70	5,7
Thiais	09/88	-	0,14	12,0
	22/02/1995	120	9,50	4,6
Coulommiers	83/86	-	1,60	9,6
	06/02/95	143	10,00	5,3
Chevilly Larue	10/86	-	0,87	4,1
	02/09/94	142	8,03	0,7
Cachan 2	11/85	-	3,10	3,4
	03/92	-	10,00	-5,4
Villeneuve la Garenne	11/87	55	32,90	-3,0
	13/02/92	55	33,30	-5,0

### V.3 Mise en évidence de l'activité bactérienne sur les parois des tubages par comparaison du $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$ du sulfure dans le fluide et du $\delta^{34}\text{S}(\text{Fe}_x\text{S}_y)$ du sulfure dans les dépôts.

Le  $\delta^{34}\text{S}(\text{S})$  du dépôt de sulfure de fer recueilli dans un filtre à Coulommiers en juillet 1993 est inférieur au  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS}^-)$  du fluide prélevé à faible débit en tête de puits. Le sulfure à l'origine de la formation du dépôt est donc en grande partie bactérien suite à la réduction des sulfates par les

BSR sur le tubage au sein même du dépôt (tabl. 5). Le même phénomène a été identifié sur les puits de Chelles en comparant le  $\delta^{34}\text{S}(\text{S})$  du dépôt de sulfure de fer, récupéré après curage, au  $\delta^{34}\text{S}(\text{HS})$  du fluide. Pour un échantillon de dépôt épais de 5 cm, prélevé sur la paroi du puits de production de Villeneuve La Garenne, les analyses isotopiques ont montré l'évolution du  $\delta^{34}\text{S}$  vers des valeurs de plus en plus négatives depuis la partie la plus exposée au fluide vers celle la plus proche de l'acier cela signale une croissance du dépôt par l'intérieur à lieu qui trouve sa source de sulfure dissous dans l'activité des BSR dont le métabolisme se traduit par une consommation préférentielle du  $^{32}\text{S}$  des sulfates du fluide et une production de sulfure riche en  $^{32}\text{S}$ . En effet, le dépôt a été découpé en 9 tranches d'égales épaisseurs et numérotées de 0 (côté fluide) à 8 (côté métal). L'analyse isotopique a concerné les tranches 1, 4 et 7 référencées respectivement GVG 1, GVG 4 et GVG 7 (tabl. 5), les deux tranches extrêmes (côté fluide et côté tubage) ont été écartées à cause de leur contact avec le milieu ambiant pendant les opérations de remontée et de récupération. Dans tous les cas, il semble que les bactéries se développent préférentiellement à l'intérieur du dépôt, où elles trouvent les conditions de stabilité nécessaires à leur croissance (pas d'arrachement par le fluide).

*Tableau 5 : Analyse isotopique du  $\delta^{34}\text{S}(\text{S})$  dans l'eau et les dépôts de trois sites géothermaux.*

<b>Échantillon (date)</b>	<b><math>\delta^{34}\text{S}(\text{sulfure})</math> en ‰ ± 0,3</b>
eau Villeneuve la Garenne (9/93)	-5,0
tranche de dépôt GVG 1 (12/93)	-5,6
tranche de dépôt GVG 4 (12/93)	-6,7
tranche de dépôt GVG 7 (12/93)	-6,9
eau Coulommiers (7/93)	+4,2
dépôt Coulommiers(7/93)	+2,5
eau Chelles (5/92)	+9,2
dépôt Chelles (9/93)	-5,4

## **VI. Influence du sulfure et du débit de production sur le comportement corrosif des fluides géothermaux vis-à-vis des tubages des puits**

L'eau géothermale diffère d'un puits à un autre par ses caractéristiques physico-chimiques et les conditions de son exploitation. La variation de ces paramètres induit de grandes différences dans le comportement électrochimique des tubages, constitués d'acier au carbone. Les facteurs essentiels de la corrosion en géothermie, agissant directement sur la forme et la vitesse de la corrosion, sont l'ion chlorure, le sulfure d'hydrogène, le dioxyde de carbone, les dépôts non protecteurs présents sur le métal, les BSR présentes dans le milieu et sur les parois des tubages ainsi que les conditions d'exploitation telles que le débit de production et la nature de l'inhibiteur de corrosion utilisé.

Le  $\text{CO}_2$  et l' $\text{H}_2\text{S}$  sont des espèces agissant à la fois sur le pH du milieu aqueux et sur la corrosion des aciers. L' $\text{H}_2\text{S}$  intervient aussi dans la formation des dépôts, qui jouent un rôle déterminant dans la cinétique de la corrosion. L'effet du pH est prédominant dans les processus de corrosion des aciers au carbone et du fer dans les solutions contenant de l' $\text{H}_2\text{S}$ . En effet, la valeur du pH conditionne tous les équilibres chimiques influençant les réactions de corrosion et de formation des dépôts.

L'ajout d' $\text{H}_2\text{S}$  en très faible quantité dans une solution d'acide carbonique, augmente fortement la vitesse de corrosion des aciers et contrôle la cinétique des processus anodique et cathodique [24, 25, 26]. Les propriétés physiques et chimiques des dépôts changent et les sulfures de fer

deviennent généralement majoritaires. Pour des pH proches de la neutralité (6,2 à 6,8) et dans des rapports de pressions partielles entre le  $\text{CO}_2$  et l' $\text{H}_2\text{S}$  de 40 à 450, l'acier au carbone dans les fluides du Dogger est d'autant plus exposé aux problèmes de corrosion-dépôts que la teneur en  $\text{H}_2\text{S}$  est plus élevée. En effet, une faible pression en  $\text{H}_2\text{S}$  peut réduire la vitesse de corrosion des aciers au carbone pour une raison thermodynamique liée à la faible activité de l'ion sulfure en solution. Par contre, aux pressions plus élevées, l'effet prédominant est d'ordre cinétique : le contrôle de la diffusion de l'ion sulfure à travers les produits de corrosion est lié à la qualité des dépôts formés. La pression partielle de  $\text{H}_2\text{S}$  peut donc affecter la nature, la structure et la perméabilité des dépôts de sulfures de fer. La corrosion du fer et des aciers au carbone par l' $\text{H}_2\text{S}$  est le plus souvent de type généralisée au cours des premières heures d'attaque. Les sulfures de fer ont la particularité d'être peu solubles, rendant cette corrosion génératrice de grandes quantités de dépôts renfermant différentes phases de sulfures de fer dans la majorité des cas. La création de telles hétérogénéités à la surface métallique crée des surfaces anodiques et des surfaces cathodiques distinctes et stables au cours du temps [27], d'où la formation de cellules locales par couplage galvanique. La corrosion localisée en présence de  $\text{H}_2\text{S}$  a plus de chance de se produire lorsque le milieu contient d'autres agents corrosifs tels que l'ion chlorure [28, 29], le soufre élémentaire [30, 31], les polysulfures [32] ou de faibles traces d'oxygène [33]. D'autres aspects peuvent expliquer les causes de la corrosion localisée en présence d' $\text{H}_2\text{S}$  et des dépôts formés. Dans le cas de milieux stagnants ou faiblement agités, les dépôts sont épais et favorisent le confinement. Un tel milieu favorise le développement de la corrosion localisée ainsi que la création et la prolifération de certaines souches bactériennes qui accentuent de leur part ce phénomène [16, 34]. La non protectivité des dépôts de sulfures de fer accentue l'agressivité du milieu et pénalise l'exploitation des ressources géothermale. En effet, il s'établit un cycle et une succession d'effets rendant l'exploitation défaillante (fig. 11).

Pour montrer l'effet des paramètres précurseurs de ces problèmes de corrosion-dépôts, nous avons mesuré l'effet de la variation de la teneur d'une eau géothermale en  $\text{H}_2\text{S}$  ainsi que la vitesse de circulation du fluide dans le tubage en absence et en présence de 2,5 mg/l de Solamine 129<sup>R</sup>.

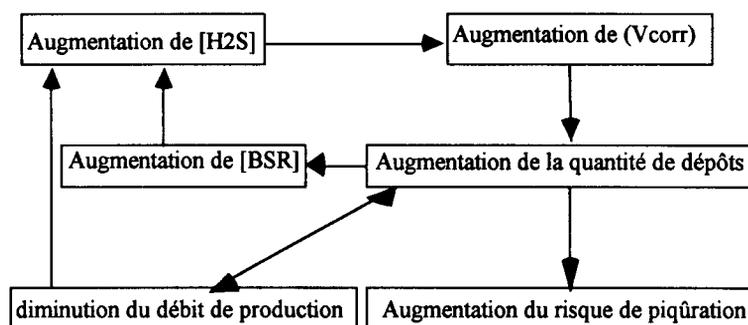


Fig. 11. Schéma représentant l'influence mutuelle des différents paramètres intervenant dans les processus de corrosion-dépôts dans les puits géothermiques.

## VI.1 Étude de l'effet de la variation de la teneur de l'eau géothermale en $\text{H}_2\text{S}$ sur la corrosion de l'acier au carbone

Les travaux effectués sur le site géothermique de Melun l'Almont [35] visent à la mise en évidence du comportement électrochimique de l'acier au carbone (électrodes statiques et rotatives à 1000 rpm) immergé dans une eau géothermale contenant de teneurs en  $\text{H}_2\text{S}$  croissantes : 0, 14, 50 et 100 mg/l. La température du fluide géothermal est de 60 °C.

Le suivi électrochimique du comportement de l'acier au carbone aux différentes teneurs en H<sub>2</sub>S, pendant les premières six heures d'immersion, nous ont permis de comprendre les mécanismes de la corrosion de l'acier au carbone dans les fluides géothermaux. Des expériences de plus longues durées nous ont permis d'identifier le rôle des dépôts concernant la poursuite de la corrosion sous dépôts.

**VI.1.1 Comportement en absence d'inhibiteur de corrosion**

Le suivi des paramètres électrochimiques dans les différentes conditions montre que la présence de l'H<sub>2</sub>S dans l'eau géothermale provoque de grands changements dans le comportement électrochimique de l'acier au carbone. Ces changements se traduisent par une augmentation du potentiel libre de corrosion (fig. 12) et de la vitesse de corrosion (fig. 13) ainsi que par la disparition de tout domaine de passivation du métal. Les courants de corrosion mesurés après 3 et 5,5 heures d'immersion montrent que la vitesse de corrosion augmente au cours du temps. La mesure des impédances électrochimiques des électrodes statiques et rotatives montre que la résistance de polarisation diminue et la capacité de double couche augmente proportionnellement à la teneur du fluide en sulfure d'hydrogène (tabl. 6). Au cours des six heures d'immersion, trois types de comportements de l'acier au carbone dans l'eau géothermale, à différentes teneurs en H<sub>2</sub>S, peuvent être distingués. Ces comportements correspondent à trois étapes qui sont décrites ci-dessous :

Une première étape commence juste à l'immersion qui dure moins d'une heure. Sa durée totale décroît quand croît la teneur en sulfure et la solution. Durant cette période, le potentiel libre de corrosion (E<sub>corr</sub>) et la résistance de polarisation (R<sub>p</sub>) sont d'autant plus bas que la teneur du fluide géothermal en H<sub>2</sub>S est plus élevée. Ce comportement est le résultat d'une grande activité anodique et cathodique, proportionnelle à la teneur en H<sub>2</sub>S de la solution.

Cette action se rapproche donc des effets connus de l'H<sub>2</sub>S aux pH acides, qui augmente l'activité anodique en augmentant le nombre de sites actifs et l'activité cathodique en participant à la réaction de réduction de l'hydrogène. En effet, dans ces deux cas de figure (milieu acide et en début d'immersion), la surface de l'acier est en grande partie exempte de dépôts.

*Tableau 6. Paramètres électrochimiques des électrodes statiques et rotatives dans l'eau géothermale en fonction de la teneur en H<sub>2</sub>S en présence de 2,5 mg/l de Solamine 129<sup>R</sup>.*

	[H <sub>2</sub> S] (mg/l)	E <sub>c</sub> (mV/ECS)	temps (h)	DEc (mV)	β <sub>a</sub> (mV)	β <sub>c</sub> (mV)	I <sub>c</sub> (μA/cm <sup>2</sup> )	R <sub>p</sub> (1h) (ohm.cm <sup>2</sup> )	R <sub>p</sub> w (1h30) (ohm.cm <sup>2</sup> )	C (1h30) (mF/cm <sup>2</sup> )
S	0	-769	3	-17			3,4	1200	1750	1,7
			5,5	-23	70	151	2,4			
A	15	-771	3	60	54	229	4,2	1487	705	4,52
			5,5	73	48	222	5,6			
I	50	-777	3	95	64	283	3,87	2315	1129	1,72
			5,5	132	82	176	5,78			
			2,5							
U	100	-798	3	113	76	427	12,79	1646	1633	2,2
			5,5	128	84	359	9,23			
R	0	-668	3	-12	57	342	1,9	900	2100	1,4
			5,5	-20			4,47			
T	15	-730	3	80	120	257	14,63	2410	2420	0,98
			5,5	102	116	194	14,78			
A	50	783	3	108	85	346	23,86	850	662	5,7
			5,5	130	120	126	13,49			
I	100	-797	3	151	98	132	36,08	664	675	9,58
			5,5	136	104	116	43,38			

Une deuxième étape où  $E_{CORR}$  et  $R_p$  sont d'autant plus élevés que la teneur du fluide géothermal en  $H_2S$  est plus élevée. Au cours de cette période, la surface de l'acier se couvre de dépôts de sulfure de fer et se dote d'une passivation. En effet, une forte teneur du fluide en  $H_2S$  provoque, durant la première période et le début de la seconde, une forte dissolution du fer et donc une forte teneur de la solution en ions ferreux. Ainsi le produit de solubilité du sulfure de fer ( $FeS$  amorphe) qui précipite le premier dans ces conditions [26, 36], est rapidement atteint et le sulfure de fer se dépose à la surface métallique. Ces dépôts réduisent momentanément l'arrivée de l' $H_2S$  à la surface métallique en bloquant les sites actifs et protègent ainsi la surface de l'acier contre la corrosion. Durant cette période, les processus de corrosion sont de plus en plus contrôlés par la diffusion de l' $H_2S$  à travers les dépôts de sulfure de fer. Ceci justifie les fortes valeurs des constantes cathodiques de Tafel et les faibles courants de corrosion mesurés pendant les premières polarisations linéaires des électrodes statiques et rotatives après 3 heures d'immersion.

La limitation de la diffusion de l' $H_2S$  à travers le dépôt provoque un appauvrissement en  $H_2S$  à l'interface métal-dépôt et le début de la cristallisation du sulfure de fer amorphe en mackinawite. Cette transformation marque la fin de la deuxième étape et le début de la troisième où la vitesse de corrosion augmente jusqu'à des valeurs élevées proportionnelles à la teneur du fluide en  $H_2S$ . Notons que la "vitesse de cristallisation" des dépôts amorphes est d'autant plus élevée que la teneur du fluide en  $H_2S$  est plus forte. Les mesures électrochimiques ont montré que la cristallisation du sulfure de fer amorphe en mackinawite s'accompagne d'une activation des processus cathodiques. Cela est dû au transfert des sites cathodique depuis la surface de l'acier jusqu'à la surface des dépôts, conducteurs, ce qui facilite la décharge des ions hydrogène.

Les augmentations de la vitesse de corrosion à la suite de la cristallisation du sulfure de fer amorphe sont suivies d'une baisse et puis une stabilisation à une vitesse proportionnelle à la teneur du fluide en  $H_2S$  dans la gamme de teneur et des conditions physico-chimiques des fluides du Dogger du Bassin parisien. L'ensemble de ces mécanismes est parfaitement traduit par le comportement des électrodes rotatives à 50 et 100 mg/l d' $H_2S$  où les trois étapes se distinguent bien durant les six heures d'immersion. La deuxième étape est très lente dans le cas des électrodes statiques. Après six heures d'immersion, la résistance de polarisation des électrodes est encore ascendante. Ces différentes étapes sont bien distinctes sur les courbes représentant l'évolution de la vitesse de corrosion et le potentiel libre de corrosion des électrodes statiques et rotatives du même acier dans l'eau géothermale de Melun l'Almont, 14 mg/l de  $H_2S$ , pendant des temps d'immersion suffisamment longs (fig. 14 et 15).

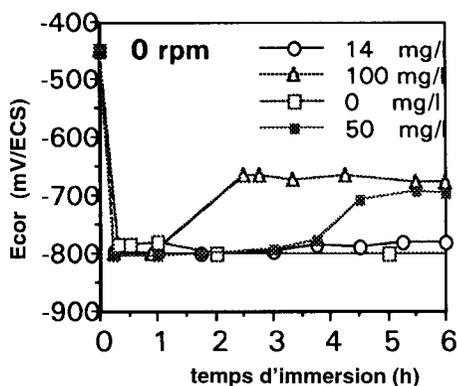


Fig. 12 : Variation du potentiel libre de corrosion de l'acier au carbone (électrode statique) en fonction de la teneur en sulfure dans le fluide de Melun l'Almont.

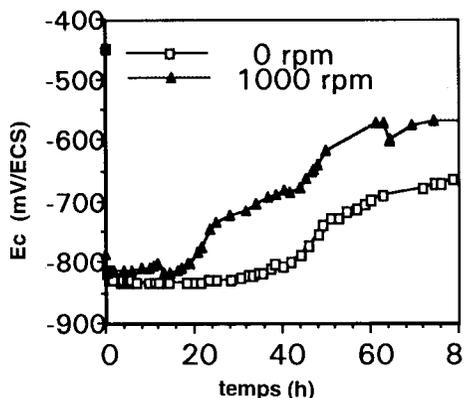


Fig.14 : Évolution du potentiel libre de corrosion de l'acier au carbone en fonction (électrodes statique et en rotation) en fonction du temps d'immersion dans le fluide de Melun l'Almont.

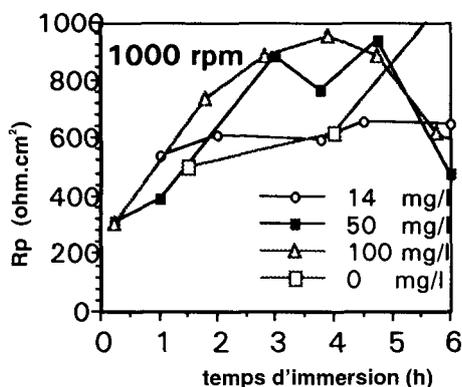


Fig. 13 : Évolution de la résistance de polarisation de l'acier au carbone (électrode rotative à 1000 rpm) en fonction de la teneur en sulfure dans le fluide de Melun l'Almont.

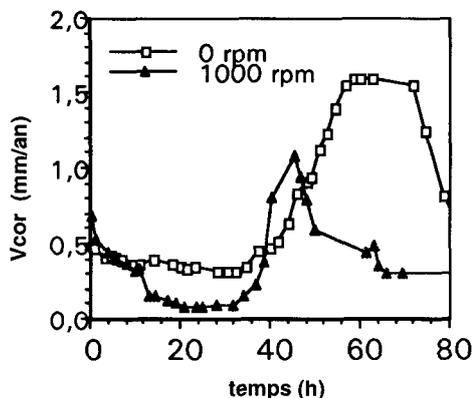


Fig. 15 : Évolution de la vitesse de corrosion de l'acier au carbone dans le fluide de Melun l'Almont en fonction de la rotation ou non de l'électrode

### VI 1. 2 Comportement en présence de 2,5 mg/l de Solamine 129<sup>R</sup>

L'allure des courbes représentant l'évolution en fonction du temps de la résistance de polarisation des électrodes statiques et rotatives en présence de la Solamine 129<sup>R</sup>, montre une baisse progressive, due certainement à la présence des dépôts de sulfures de fer. Ces dépôts limitent l'accès de l'inhibiteur à la surface métallique et par suite son efficacité.

En présence d'un inhibiteur de corrosion, la Solamine 129, l'acier voit son potentiel libre de corrosion augmenter au cours de l'immersion. Le courant de corrosion varie suivant la nature de l'électrode et la teneur du fluide en sulfure d'hydrogène. Dans ce cas, les processus de corrosion paraissent être contrôlés par l'interaction des molécules de l'inhibiteur avec les ions sulfures à la surface métallique. Le comportement global du métal, dans ces conditions, peut également être partagé en trois étapes avec des durées différentes par rapport à celles obtenues en l'absence de Solamine 129<sup>R</sup> :

La première étape garde les mêmes caractéristiques que précédemment, mais dure beaucoup moins longtemps. Durant cette période, le potentiel libre de corrosion et la résistance de polarisation sont d'autant plus faibles que la teneur du fluide géothermal en sulfure d'hydrogène est plus élevée, mais restent légèrement plus élevées qu'en l'absence de l'inhibiteur.

La deuxième étape est très courte en présence de l'inhibiteur et pratiquement absente dans le cas des électrodes rotatives. Durant cette période, le potentiel libre de corrosion augmente pour atteindre sa stabilité en moins d'une heure. Cette forte vitesse d'anoblissement de l'acier est due à la présence de l'inhibiteur qui s'adsorbe à la surface de l'acier et réduit la vitesse de corrosion. La présence du sulfure d'hydrogène facilite et active l'adsorption de la Solamine 129<sup>R</sup>, surtout dans le cas des électrodes statiques [35]. La présence des dépôts de sulfure de fer et l'augmentation de leur épaisseur réduisent l'efficacité de l'inhibiteur au cours du temps.

La troisième étape résulte de cette perte d'efficacité de l'inhibiteur. Au cours de cette période, il tend à s'établir un équilibre entre la quantité d'inhibiteur injectée et la quantité de dépôts de sulfure de fer produits. La vitesse de corrosion est d'autant plus élevée que la teneur du fluide

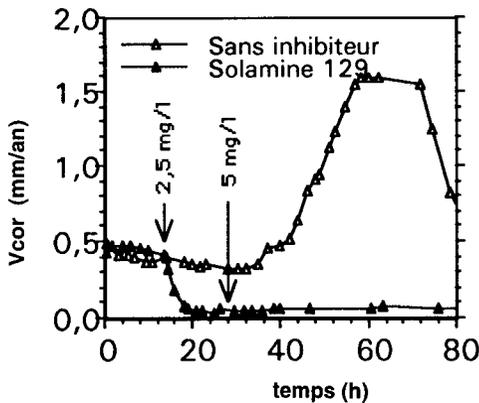
en  $H_2S$  est plus élevée d'où la réduction de l'efficacité de l'inhibiteur au fur et à mesure que la teneur du fluide en sulfure d'hydrogène augmente.

A partir des courants de corrosion mesurés avec et sans traitement nous avons calculé l'efficacité de l'inhibiteur à 2,5 mg/l en fonction de la teneur de l'eau géothermale en  $H_2S$  (table 7). On constate que :

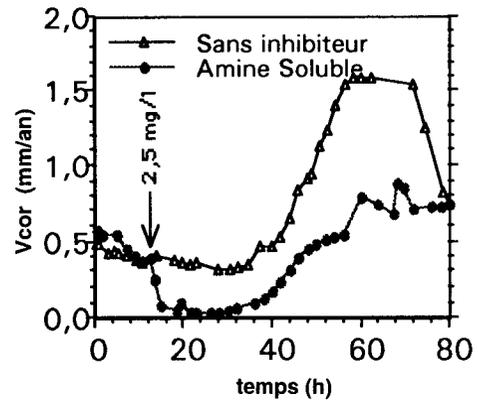
- la présence d'une faible quantité de sulfure d'hydrogène augmente l'efficacité de l'inhibiteur dans les premières heures d'immersion où les dépôts sont minces. Par contre, l'inhibiteur perd de son efficacité au cours du temps d'immersion, certainement à cause de l'augmentation de l'épaisseur du dépôt et la cristallisation du sulfure de fer amorphe en mackinawite.
- l'efficacité de l'inhibiteur diminue à mesure que la teneur du fluide en sulfure d'hydrogène augmente. Au delà de 15 mg/l de sulfure d'hydrogène, l'ajout de 2,5 mg/l d'inhibiteur devient insuffisant pour contrecarrer l'agressivité du fluide et limiter l'augmentation de l'épaisseur des dépôts de corrosion.

**Tableau 7 :** Efficacité de la Solamine 129 à 2,5 mg/l, dans la réduction de la vitesse de corrosion des électrodes statiques et rotatives au cours des 6 premières heures d'immersion en fonction de la teneur en sulfure d'hydrogène.

temps d'immersion [H <sub>2</sub> S] (mg/l)	Efficacité %			
	3 heures		5,5 heures	
	statiques	rotatives	statiques	rotatives
0	24	84,1	7	52,6
14	86,7	66,75	88,4	69,2
50	88,8	0	0	38,68
100	0	0	0	0



**Fig. 16 :** Effet de l'ajout de 2,5 et 5 mg/l de Solamine 129 sur la vitesse de corrosion de l'acier au carbone (électrode statique) dans le fluide de Melun l'Almont



**Fig. 17 :** Évolution de la vitesse de corrosion de l'acier au carbone (électrode statique) dans le fluide de Melun l'Almont traité par 2,5 mg/l d'amine soluble.

Le suivi du comportement électrochimique de l'acier au carbone dans l'eau géothermale de Melun l'Almont pendant de longues durées d'immersion a montré que l'ajout d'inhibiteur à une teneur de 5 mg/l réduit la vitesse de corrosion et arrête la cristallisation des dépôts de sulfure de fer amorphe en mackinawite (fig. 16). A 2,5 mg/l, l'amine soluble réduit la vitesse de corrosion pendant les premières heures d'immersion, mais perd de son efficacité à cause de la cristallisation du sulfure de fer amorphe en mackinawite et par conséquent l'activation de la réaction cathodique (fig. 17). Ces résultats montrent que pour obtenir une réduction suffisante de la vitesse de corrosion de l'acier au carbone dans les fluides géothermaux, la quantité d'inhibiteur injectée devra être adaptée à la teneur de l'eau en sulfure d'hydrogène.

### VI.2 Étude de l'effet du débit de production sur le comportement des tubages en acier au carbone

Le débit de production ou plus exactement la vitesse de circulation du fluide géothermal dans les tubages des puits géothermiques influence pour beaucoup le comportement électrochimique de l'acier au carbone ainsi que la quantité et la nature des dépôts de corrosion formés. Au cours d'une opération du suivi du comportement de différents matériaux disposés dans deux conduites de différents diamètres en amont de la tête du puits de production de Fontainebleau, nous avons suivi leurs comportements à deux vitesses de circulation du fluide, 3 et 0,3 m/s. L'expérience a duré 4 mois en absence (fig. 18) et en présence de 2,5 mg/l de Solamine 129 (fig. 19 et 20).

Les mesures de vitesses de corrosion ont montré qu'à faible vitesse de circulation du fluide les coupons se corrodent beaucoup plus rapidement (fig. 18). Même en présence de l'inhibiteur, la vitesse de corrosion est restée élevée par rapport aux électrodes immergées dans la conduite à forte vitesse de circulation du fluide géothermal (fig. 19). Les dépôts de corrosion formés à 0,3 m/s sont plus épais et plus friables que ceux formés à 3 m/s (fig. 18). Dans le premier cas, la corrosion localisée s'est développée sous les dépôts qui sont en majorité formés de mackinawite. Même en présence de l'inhibiteur, l'épaisseur de dépôts de corrosion est restée élevée par rapport aux électrodes immergées dans la conduite à forte vitesse de circulation du fluide géothermal (fig. 20).

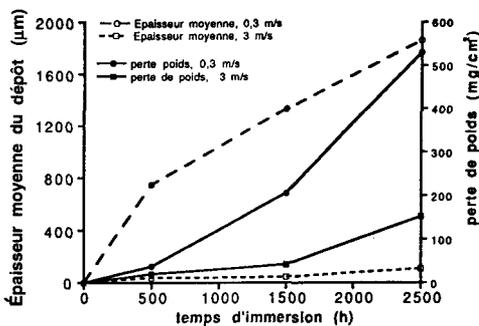


Fig. 18. Perte de masse de l'acier au carbone et épaisseur de dépôts sur les échantillons à deux vitesses de circulation en fonction du temps d'exposition au fluide géothermal non traité.

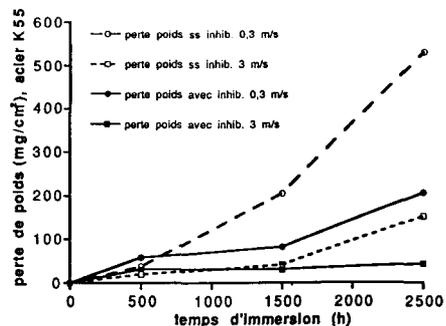


Fig. 19. Variations de la perte de masse des électrodes en acier au carbone dans le fluide géothermal de Fontainebleau en absence et en présence de 2,5 mg/l de Solamine 129<sup>R</sup>, en fonction de la vitesse de circulation du fluide.

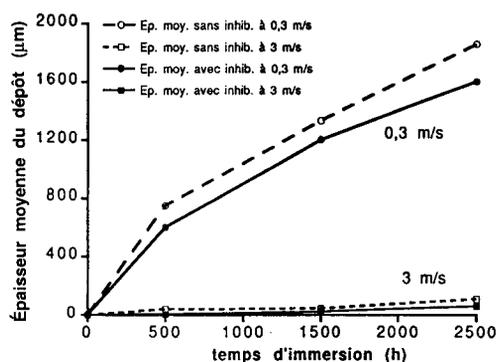


Fig. 20. Variations de l'épaisseur des dépôts de corrosion formés sur les électrodes en acier au carbone dans le fluide géothermal de Fontainebleau en absence et en présence de 2,5 mg/l de Solanène 129, en fonction de la vitesse de circulation du fluide.

## VII. Conclusion

La plupart des installations géothermiques exploitant l'aquifère du Dogger du Bassin parisien ont connu des problèmes de corrosion et de dépôts. Les tubages des puits sont en acier au carbone, ils ne résistent donc pas à l'eau géothermale qui est un milieu anaérobie et légèrement acide caractérisé principalement par la présence de  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{HS}^-$ . Les puits produisant un fluide de forte teneur en sulfure d'hydrogène sont les plus touchés par la corrosion et le colmatage.

Ce chapitre présente l'état des connaissances actuelles sur l'activité microbiologique des eaux géothermales exploitées en région parisienne. Il porte notamment sur l'identification des souches, la localisation et l'évolution de l'activité bactérienne dans les installations et réservoirs géothermaux et les conséquences de celle-ci sur la corrosion et le colmatage des tubages des puits géothermaux.

Différents types bactériens ont été mis en évidence dans les fluides prélevés en surface de divers sites géothermiques. On constate la prédominance des microflore anaérobies sur les aérobies et des microflore thermophiles sur les mésophiles. La mesure d'activité microbienne autotrophe et hétérotrophe au moyen de traceurs radioactifs dans les eaux a montré que l'activité biologique dominante est de type chemolithotrophe. La microflore responsable de cette activité est essentiellement thermophile.

Peu de travaux ont été consacrés à l'identification des espèces. Concernant les bactéries sulfato-réductrices, quelques souches ont été identifiées dans le fluide circulant et dans des dépôts recueillis sur coupon de corrosion : *Desulfovibrio desulfuricans* et *Desulfohalobium geothermicum*. Cette dernière est autotrophe stricte utilisant l'hydrogène et le sulfate comme source d'énergie et le dioxyde de carbone comme unique source de carbone. Elle se développe de manière optimale dans les conditions suivantes : température 54°C, pH 7,2-7,4 et salinité 25-35 g/l de NaCl.

Depuis 1989, il a été constaté une évolution de la teneur en sulfure d'hydrogène dans l'eau prélevée en tête de certains puits de production. A débit d'exploitation constant cette teneur augmente régulièrement depuis la mise en service de ces puits, et varie lorsque ce débit n'est pas constant.

Une étude de l'importance et du développement du sulfure contenu dans les eaux produites a été effectuée en 1990. La cartographie des teneurs en sulfure sur l'ensemble des puits a fait apparaître deux zones distinctes. On a expérimenté deux méthodes, une à forte et une à faible teneur en sulfure, et deux types de variation, régionale et locale. On a expérimenté deux méthodes pour provoquer et étudier les évolutions de la composition des eaux prélevées en tête des puits de production deux méthodes ont. Elles sont basées sur le suivi physicochimique de la composition de l'eau à débits d'exploitation variables. Ces expériences ont permis d'expliquer l'augmentation de la teneur en sulfure en tête de certains puits lorsque le débit diminue et de confirmer que cette augmentation est due à une activité bactérienne sulfato-réductrice actuelle et croissante. Un nouvel outil isotopique original, basé sur l'évolution de la composition isotopique du soufre (isotopes  $^{34}\text{S}$  et  $^{32}\text{S}$ ) du sulfure en fonction du débit d'exploitation a été utilisé. Il a validé l'hypothèse que les puits où la teneur en sulfure varie en fonction du débit d'exploitation sont le lieu d'une activité bactérienne sur les tubages. Cette technique permet d'estimer les quantités respectives des sulfures qui proviennent d'une part de l'activité bactérienne actuelle dans le puits et d'autre part du réservoir et pourrait donc être parfois utilisée pour la mesure de l'activité bactérienne actuelle au même titre que l'analyse bactériologique du fluide.

En 1994, des expériences similaires ont révélé que l'activité bactérienne sur les tubages des puits n'est pas totalement responsable de l'augmentation de la teneur en sulfure constatée dans l'eau de certains sites, puisqu'il a été déterminé que le réservoir produisait une eau de plus en plus riche en sulfure. Des causes possibles sont actuellement recherchées comme la prolifération bactérienne dans le réservoir proche du puits de production et la recirculation dans la boucle géothermale d'une eau déjà produite et réinjectée.

Afin d'étudier l'impact de la concentration en sulfure dans le fluide géothermal et donc l'influence de la prolifération bactérienne sur les phénomènes de corrosion-dépôts, le comportement électrochimique de l'acier au carbone a été suivi dans un milieu géothermal réel et modifié permettant d'explorer le domaine de teneur en sulfure allant de 0 à 100 mg/l. La vitesse de corrosion de l'acier au carbone, l'épaisseur du dépôt et la vitesse de cristallisation du sulfure de fer amorphe en mackinawite sont d'autant plus élevées que la teneur en sulfure de l'eau est forte. En présence de certains inhibiteurs de corrosion et de croissance cristalline, la cristallisation du sulfure de fer amorphe en mackinawite est arrêtée ou retardée en fonction de la quantité d'inhibiteur injectée. Toutefois, l'efficacité des inhibiteurs de corrosion (parmi ceux qui sont actuellement utilisés aux teneurs habituelles de 2 à 3,5 mg/l) est d'autant plus faible que la teneur en sulfure est plus élevée. L'efficacité d'inhibition est nulle par exemple dans une eau géothermale contenant 50 mg/l de sulfure et traitée par 2,5 mg/l d'inhibiteur. Il apparaît ainsi évident que la quantité d'inhibiteur doit être adaptée à la physico-chimie du fluide et principalement à sa teneur en sulfure d'hydrogène.

La vitesse de circulation du fluide a une influence sur le comportement des tubages des puits géothermiques ainsi que sur la teneur du fluide en sulfure d'hydrogène dans le cas d'une forte activité bactérienne dans les tubages ou le proche réservoir. Cette étude a montré qu'à faible débit, la vitesse de corrosion est plus élevée et les dépôts de corrosion sont plus épais. Sous ces dépôts épais se développent dans la majorité des cas une corrosion localisée. Ainsi, l'augmentation de la teneur en sulfure d'une eau géothermale et donc la prolifération bactérienne, peut générer des quantités importantes de dépôts et ainsi réduire le débit de production et par conséquent favoriser le confinement et le développement bactérien. Ceci a pour conséquence une augmentation du potentiel réducteur du milieu et une acidification locale engendrant un processus de corrosion localisée pouvant aboutir au percement des tubages.

## Remerciements

Cet article est la contribution BRGM N°95039. Le travail, effectué dans le cadre du projet S08 de la Direction de Recherche du BRGM, a reçu le soutien financier de l'Union Européenne (contrat N°JOUG-0005-C) et de l'Ademe (convention N4.05.0040).

## Références

- [1] Amalhay M., Gauthier B. and Ignatiadis I. (1994a) - Influence of some physicochemical parameters and exploitation conditions on corrosion and scaling in geothermal wells in the Paris basin. In : Proceedings of the International Symposium, Geothermics 94 in Europe, from Research to Development, BRGM (ed), Orléans, France, 8-9 February 1994, pp. 233-240.
- [2] Amalhay M., Abou Akar A. and Ignatiadis I. (1994b) - Study of the déposition phenomena in geothermal wells in the Paris Basin. In : Proceedings of the International Symposium, Geothermics 94 in Europe, from Research to Development, BRGM (ed), Orléans, France, 8-9 February 1994, pp. 223-232.
- [3] Amalhay M., Abou Akar A. and Ignatiadis I. (1995) - Overview of the déposition phenomena in geothermal wells in the Paris Basin. In : Proceedings of the World Geothermal Congress, Worldwide utilisation of geothermal energy, Florence (Italy), 18-31 May 1995, Volume 4, pp. 2497-2502.
- [4] Fouillac C., Criaud A., Honegger J.L. et Czernichowski-Lauriol I. (1989) - Sulfide déposition and well clogging in the Dogger aquifer of Paris Basin (France). European Geothermal Update, Florence, (Italie), Avril 1989, EEC Contract n° EN3G - 0033-F.
- [5] Ignatiadis I. et Peyrot N. (1995) - Estimation of the solubility product of the iron sulphide controlling  $Fe^{2+}$  and  $S^{2-}$  solubilities in geothermal waters. Poster présentation in the 8th European Union of Geosciences, 9-13 April 1995, Strasbourg, France, 9-30 April 1995. In : Proceedings of EUG8, Terra abstracts, Abstract supplément N°1, to Terra nova, Volume 7, 1995 pp.322.
- [6] Daumas S., Goyeneche O. et Bianchi A. (1984) - Étude bactériologique des eaux géothermales du Dogger et du Trias du Bassin Parisien. *C R. Acad. Sc. Paris*, t. 299, Série III, n°9, pp. 343-345.
- [7] Daumas S., Lombart R. et Bianchi A. (1986) - A Bacteriological study of Geothermal Spring Waters Dating from the Dogger and Trias Period in the Paris Basin. *Geomicrobiology Journal*, Volume 4, n°4, pp. 423-433.
- [8] Daumas S., Goyeneche O. et Bianchi A. (1985) - Activités métaboliques des bactéries des eaux géothermales du Dogger et du Trias du Bassin Parisien. *C R. Acad. Sc. Paris*, t. 301, Série III, n°6, pp. 295-297.
- [9] Daumas S., Cord-Ruwisch R. et Garcia J.L. (1988) - *Desulfotomaculum geothermicum* sp. nov. a thermophilic fatty acid degrading sulfate-reducing bacterium isolated with  $H_2$  from geothermal ground water. *Antonie van Leeuwenhoek*, Volume 54, pp. 165-178.
- [10] Magot M., Tardy C., Caumette C., Hurtevent C. and Crolet J.L. (1993) Identification of sulfate-reducing bacteria from production water of various oil fields. In : 'Progress in the understanding and prévention of corrosion'. Institute of materials, London, 1993, pp. 573-575.
- [11] Abou Akar A. and Lafforgue M. (1994) - Étude de la corrosion par coupons en acier au carbone placés en zones monophasique et diphasique sur la centrale géothermique de Chelles (Seine-et-Marne). Rap. BRGM R 37832 GGP-DR-94, 91pp.
- [12] Lemale J., Pivin M. (1987) - La filière géothermique - Premier bilan - AFME, 2e édition, 80 P.
- [13] Rojas J., Giot D., Le Nindre Y.-M., Criaud A., Fouillac Ch., Brach M., Menjot A., Martin J.-C., Lambert M., Chiles J.-P., Fouillac A.M. and Pauwels H. (1989) Caractérisation et modélisation du réservoir géothermique du Dogger, Bassin parisien, France, rapport final. Rap. BRGM R 30169 IRG SGN 89, 249pp.
- [14] Fouillac C., Fouillac A.M., Criaud A., Iundt F. et Rojas R. (1986) - Isotopic studies of oxygen hydrogen and sulfur in the Dogger aquifer from Paris Basin. In : Proceedings of the 5th Inter. Symposium on Water-Rock Interaction, Reykjavik, pp. 201-205.
- [15] Fouillac C., Fouillac A.M. et Criaud A. (1990) - Sulphur and oxygen isotopes of dissolved sulphur species in formation waters from the Dogger geothermal aquifer, Paris Basin, France. *Applied Geochemistry*, Volume 5, N° 4 p. 415-427.

- [16] Ignatiadis I., Cheradame J.M., Lafforgue M. et Castagne S. (1991) - Évolution des teneurs en sulfures dissous dans les fluides géothermaux. Rapport BRGM n° R 33518 IRG SGN 91, 160 p.
- [17] Ignatiadis I., Brach M., Le Dinh Bao B. et Lafforgue M. (1990a) - Suivi journalier physico-chimique d'hiver et d'été de fluides géothermaux du Dogger du Bassin Parisien. Rapport BRGM n°R 31928 IRG SGN 90, 77p.
- [18] Ignatiadis I., Cheradame J.-M., Brach M., Castagne S. et Guezennec J. (1990b) Reduction by biocide treatment of hydrogen sulfide teneur in a geothermal brine. In : "Microbially influenced corrosion and biodeterioration". Ed. N.J. Dowling, M.W. Mittelman, J.C. Danco. In : Proceedings of the International Congress on "Microbially Influenced Corrosion" Knoxville USA 7-12 october 1990, section 8, pp 33-36.
- [19] Harisson A.G. et Thode H.G. (1958) - Mecanism of bacterial réduction of sulfate from isotope fractionation studies. *Trans. Farafay Soc.*, Volume 54, p. 84-92.
- [20] Kaplan I.R. et Rittenberg J.C. (1964) - Microbiological fractionation of sulfur isotopes. *J. Gen. Microbiol.*, Volume 34, p. 195-212.
- [21] Kemp A.L.W. et Thode H.G. (1968) - The mechanism of the bacterial réduction of sulfate end of sulfite from isotopes fractionation studies. *Geochim. Cosmochim. Acta*, Volume 32 p. 71-91
- [22] Kaplan I.R. (1975) - Stable isotopes as a guide to biogeochemical processes. *Proc. R. Soc. London*, Ser. B, Volume 189, p. 183-211.
- [23] Krouse H.R. (1980) - Sulfur isotopes in our environment in P. Fritz and J.C. Fontes (Editors) Handbook of environmental isotope geochemistry, Volume 1, p.445-471.
- [24] Ikeda A., Ueda M. and Mukai S. (1985) - In : Proc. Inter. Corr. Forum. Corrosion 85 at Boston. Paper n°. 29, (NACE).
- [25] Greco E. C. and Wright W. (1961) - Corrosion NACE, Volume 18, pp. 119-124t.
- [26] Smith S. N. and Wright E. J. (1994) - Corrosion 94, NACE, paper n°1.
- [27] Gonik A. A. (1976) - 'Nedra', Moskova, p.49.
- [28] Morice C. (1979) - Place, Jr. 54th Ann. conf. Soc. Petrol. Eng. of AIME, Las Vegas, Proc. paper N°. 8310.
- [29] Hamby T. W. (1981) - Petrol. Technol., 792.
- [30] Kennelley K. J., Smith S. N. and Ramanarayanan T. A. (1990) - *Mat. Perfor.* February 1990, pp. 48-52.
- [31] Ramanarayanan T.A. and Smith S.N. (1989) - Corrosion-January 1990, pp. 66-391. NACE
- [32] Rhodes P.R. (1976) - *Electrochemical Soc. Fall Meeting*, Las Vegas, USA., Volume 76-2, N°. 107, 300.
- [33] Crolet J.L., Pourbaix M. and Pourbaix A. (1991) - Corrosion 91, NACE, paper 22, Houston.
- [34] Ignatiadis I. (1994) - Origins of the increased sulphide concentrations noted in geothermal fluids at production wellheads in the south and east of the Paris basin. In : Proceedings of the International Symposium, Geothermics 94 in Europe, front Research to Development, BRGM (ed), Orléans, France, 8-9 February 1994, pp. 241-248.
- [35] Amalhay M. (1994) - Contribution à l'étude des phénomènes de corrosion-dépôt et de leur inhibition dans les tubages en acier au carbone des puits géothermiques. Thèse d'Université. Université de Provence Aix Marseille 1, BRGM/DR/GGP. Décembre 1994, 216 p.
- [36] Peyrot N., Ignatiadis I., Amalhay M. and Abou Akar A. (1995) - Experimental concentration versus time curves for the iron(II) sulphide précipitation reaction in partly reconstituted geothermal waters and their interprétation. Poster présentation in the 8th European Union of Geosciences, 9-13 April 1995, Strasbourg, France, 9-30 April 1995. In : Proceedings of EUG8, Terra abstracts, Abstract supplément N°1, to Terra nova, Volume 7 (1995), pp.72.



## Chapitre 17

### La corrosion des structures métalliques dans les ports maritimes

Brahim BENAÏSSA

**Résumé.** Les structures métalliques dans les ports maritimes sont exposées aux agressions de l'atmosphère marine, de l'eau de mer (ou en estuaire) et du sol (remblais ou sol perméable). La connaissance du matériau constitutif et celle du milieu en contact permettent la prise en compte d'une perte d'épaisseur (0,1 à 0,2 mm/an pour l'acier au carbone) due à la corrosion généralisée. Pour une durabilité donnée de l'ouvrage, on conçoit la structure avec une épaisseur sacrificielle suffisante pour sa sûreté (sécurité et disponibilité) de fonctionnement. Dans beaucoup de cas, on se trouve en présence de corrosions localisées, plus perfides et génératrices de désordres graves (perforations, déchirures et accélération de l'usure des parties mobiles). Une autre approche dans le choix du matériau, des méthodes de mise en œuvre et d'adaptation au milieu est nécessaire pour prévenir et protéger la structure contre la corrosion localisée.

Dans ce qui suit, nous nous proposons de décrire les structures et leurs fonctions principales, d'analyser les modes de défaillance et les causes probables des désordres relevés sur les ouvrages métalliques dans les sites portuaires. Des cas d'endommagement engendrés par des corrosions localisées seront présentés pour susciter les débats et rechercher des remèdes ou des dispositions correctives à recommander.

## I. Les structures métalliques des ouvrages maritimes et la corrosion

### I.1 Description des structures métalliques

Les structures métalliques généralement rencontrées dans les ports sont constituées de :

- palplanches (plates, en U ou en Z) pour les murs de soutènement et les gabionnades ;
- pieux tubulaires ou en caissons pour supporter des quais ;
- poutrelles en H ou en I qui constituent la charpente des portes et des vannes ;
- tôles plates ou courbées pour les bordages.

Les ouvrages peuvent être fixes (rideaux de palplanches, ducs d'Albes et autres pieux) ou mobiles (portes d'écluses, vannes) et présentent la spécificité d'être simultanément en immersion-émersion et posséder des parties enfouies dans le sol ou en contact avec des remblais perméables.

Les structures métalliques assurent la retenue de certaines charges d'eau et leur écoulement, et possèdent des formes complexes et tridimensionnelles (coques, bordages raidis, caissons etc.). Elles comprennent en plus de l'ossature principale, un ensemble d'organes critiques (articulations, appuis, organes de fixation, dispositifs d'étanchéité etc.) qui nécessitent des liaisons et assemblages (soudures, boulons et rivets). Ces liaisons où se concentrent des efforts constituent des zones propices à la corrosion.

### I.2 Fonctions et sollicitations des structures métalliques

Les quais en palplanches ou sur pieux sont des structures fixes dimensionnées pour supporter d'importantes charges (marchandises diverses, engins de manutention et autres charges lourdes) et résistent aux pressions importantes et variables de la terre, des marées et des houles. Certaines structures sont dimensionnées pour des surcharges accidentelles tels que les ducs d'Albes qui absorbent les chocs de navires par flexion.

Les portes d'écluses et les vannes retiennent des masses importantes d'eau avec variations de pressions au gré des marées, houles et courants, et sont soumises à des chocs répétés d'objets flottants (glaces, débris ou chocs accidentels).

Selon la fonction principale de l'ouvrage ces structures travaillent en

- compression (pieux droits ou inclinés),
- traction (tirants d'ancrages, pieux inclinés, serrures de palplanches, etc.),
- flexion (pieux pour duc d'Albe, palplanches),
- combinaison de plusieurs contraintes (gabions en palplanches).

Les charges sont appliquées d'une manière permanente, variable (mur de soutènement) ou accidentelle (pieux sous les quais de chargement et déchargement, ducs d'Albe). La spécificité de ces structures est leur sensibilité aux dégradations dues à la fatigue, aux vibrations et à l'usure accélérée par le milieu en contact (eau de mer, embruns marins, remblais perméables etc.). Selon les caractéristiques du milieu électrolytique (oxygène dissous, salinité, prolifération bactérienne et autres pollutions), la corrosion peut accélérer l'affaiblissement des structures (usure et perte d'épaisseur) jusqu'à provoquer la fissuration, la déchirure et la rupture ou la perforation qui rompra la stabilité de l'ouvrage et entraînera de graves dommages.

### I.3 Désordres observés

À ce jour, le projeteur des ouvrages métalliques utilise des matériaux imposés par le marché avec, comme critère principal, le coût d'acquisition (tubes déclassés pour les pieux, palplanches disponibles sur le marché sans spécifications liées au site). Les paramètres tels que:

- les conditions climatiques de la région (température, humidité et vent),
- les caractéristiques du milieu marin (salinité, courants, marées et pollutions),
- les actions mécaniques liées au trafic, aux vagues, et aux corps flottants,
- les conditions de fonctionnement (mobilité, sollicitations, frottements etc.),

sont généralement déterminants pour la vitesse de corrosion et sont souvent sous estimées et passés en seconde priorité par le projeteur.

L'enquête menée par le STCPMVN auprès des ports maritimes de la Métropole et d'Outre-Mer a montré la présence de désordres d'origine corrosive au niveau des zones de marnage à des cotes au dessus de la ligne des hautes eaux (marée haute) et au dessous de celles des basses eaux (marée basse). Ce résultat confirme les indications relevées dans la littérature et les exposés des intervenants dans les colloques, tables rondes et autres manifestations d'informations et de formation sur la corrosion.

Les principales dégradations sont des pertes importantes d'épaisseur entraînant déchirures et perforations des rideaux de palplanches et des pieux. Les portes d'écluses, généralement protégées par système de peinture présentent des usures accélérées au niveau des organes critiques d'appuis, articulations et autres organes de manoeuvres (tiges de vérins). L'enquête a surtout révélé l'absence de moyens et méthodes d'inspection systématique des ouvrages ce qui rend difficile l'exploitation des réponses collectées.

L'analyse des cas de corrosion relevés et la recherche des causes met en évidence des modes de dégradation par actions électrochimiques et mécaniques (zone de roulement de galets sur pieux guides de pontons) ou pour certains sites par actions bactériennes. D'autres cas signalés concernent la rupture de l'ancrage des tirants immergés ou enterrés. Celle-ci apparait au niveau de la liaison avec le rideau de palplanches, causée principalement par le non respect de l'homogénéité des matériaux métalliques constituant les éléments de liaison (lièrme, pièce d'appui, écrou et tirant) qui se trouvent en contact électrique dans un milieu conducteur.

D'autres cas relèvent de la pollution par rejets industriels qui cause des dégâts importants aux piles et murs en palplanches de certains quais au voisinage des émissaires.

## II. Étude de cas

### II.1 Cas du quai de l'Europe à BOULOGNE sur MER

L'ouvrage est constitué par deux files de piles colonnes en béton armé coulé dans des viroles en acier de 1,50 m de diamètre. Ces piles sont surmontées par une ossature en béton armé qui vient s'accrocher à des gabions de palplanches pour transmettre l'ensemble des efforts horizontaux<sup>1</sup>. Le quai présente une longueur d'accostage de 758 m, avec une hauteur de 22 m (souille à -11,00 CM). Il a été construit en deux phases en 1967 et 1973.

Les premiers désordres ont été constatés en 1979 (perforation de palplanches). Depuis 1988 une campagne d'inspection et de mesures d'épaisseur a révélé des corrosions localisées plus importantes au niveau des basses eaux (marée basse). L'analyse des résidus de corrosion, la non détection de courants vagabonds et les mesures *in situ* des caractéristiques physiques et chimiques du milieu environnant ont conduit à l'hypothèse d'une corrosion bactérienne.

L'identification et le dénombrement des bactéries sulfato-réductrices (BSR) ont fait l'objet d'une étude et recherche de l'équipe de la station CNRS de Roscoff (1990-1992) Les résultats obtenus confirment la présence d'une activité bactérienne anormalement élevée dans certaines zones du quai. Cette activité se traduit par la production d'un liquide noir sous la gangue (composée de végétaux et de coquillages) qui recouvre les palplanches. À l'arrachement de cette gangue et après nettoyage de la surface métallique à l'eau (sans pression), le métal apparaît dans tout son éclat à l'exemple d'un nettoyage à l'acide. Une campagne plus systématique de mesures d'épaisseurs sur l'ensemble du quai a révélé une certaine répartition des zones où se situent les désordres<sup>2</sup>.

Les conclusions du diagnostic ont montré l'influence des hétérogénéités (états de surface, milieu, degré de sollicitations et aération) dans le développement de la corrosion et son implantation dans une zone plutôt que dans une autre. Les mesures correctives étudiées nécessitent une définition de conditions de mise en oeuvre pour assurer la stabilité de l'ouvrage sans perturber le trafic du port.

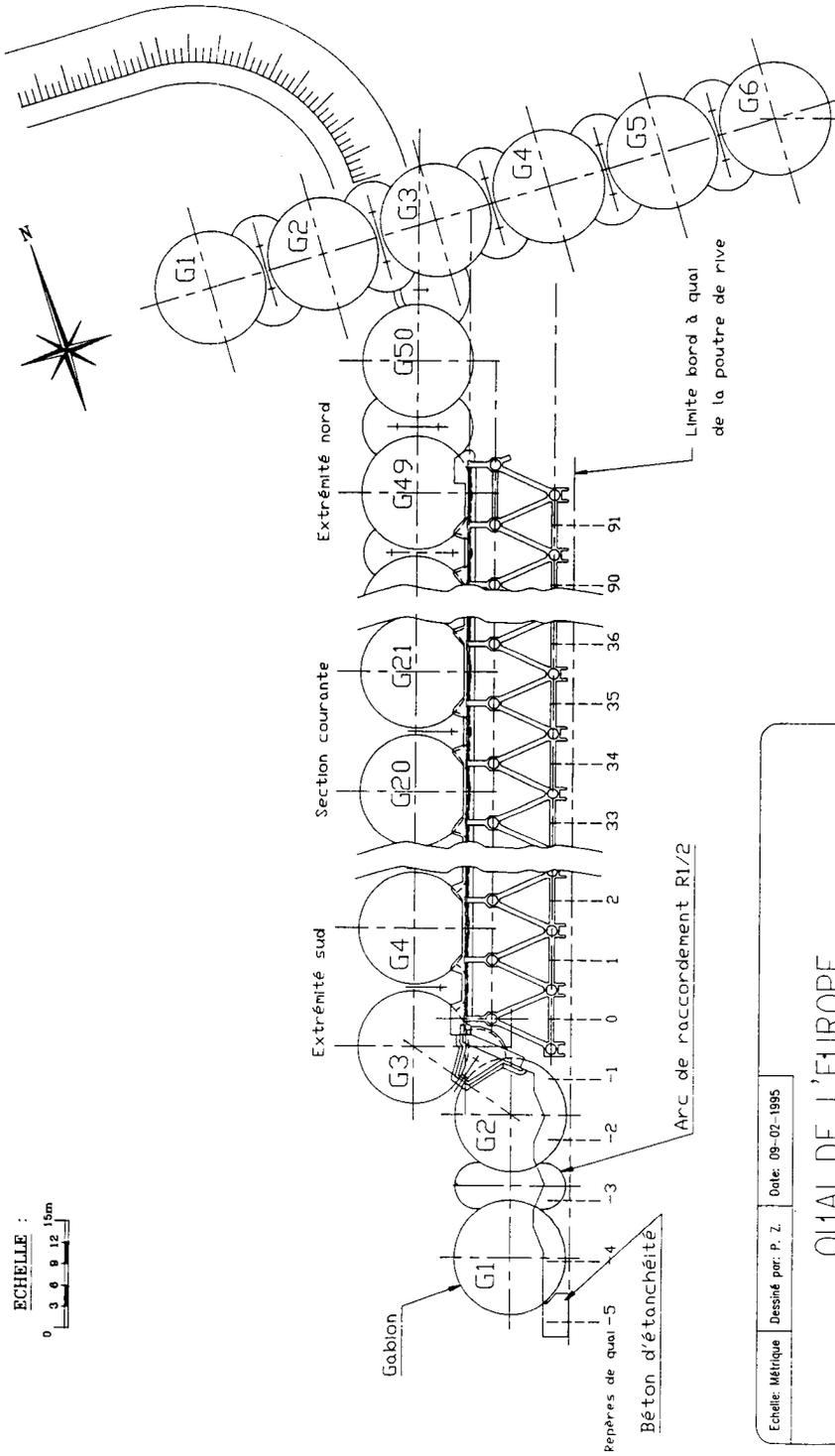
Des essais ont été menés pour fixer les critères de choix du système de peinture qui doit être appliqué dans des conditions rendues difficiles par la position des gabions sous le couronnement en béton et par la marée. Pour le système de protection cathodique, la difficulté provient de la mise en place de connexions et conducteurs pour assurer une continuité électrique entre les piles et les palplanches des gabions.

L'ensemble des dispositions retenues consiste à :

- localiser les zones avec une épaisseur résiduelle insuffisante pour la stabilité<sup>3</sup> ;
- conforter les gabions par soudure de tôles (renforcement et reprise d'efforts) ;
- nettoyer les surfaces métalliques et appliquer un système de peinture sur toute la partie en zone de marnage ;
- mettre en place un système de protection cathodique pour protéger l'ensemble des surfaces immergées, enfouies ou en contact avec les remblais à l'intérieur des gabions.

<sup>1</sup>Plan synthétique de la gabionnade du Quai de l'Europe.

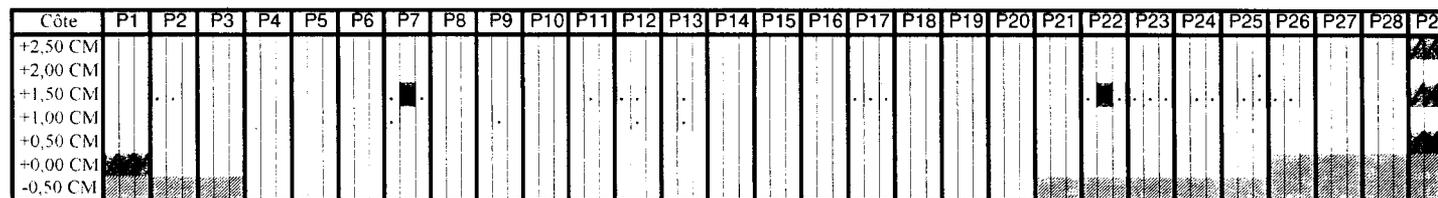
<sup>2</sup>Visualisation des désordres sur un gabion.



Echelle: Métrique Dessiné par: P. Z. Date: 09-02-1995  
**QUAI DE L'EUROPE**  
 VUE EN PLAN SYNTHÉTIQUE A (+8.00) REMBLAI ENLEVÉ

## VISUALISATION

Gabion n°43

**Légende:**

Pi : palplanche n°i avec 3 zones "gauche", "centre" et "droite" visualisées par un pavé de couleur.

■ zone d'épaisseur moyenne résiduelle  $\leq 3$ mm.

◻ 3mm < zone d'épaisseur moyenne résiduelle  $\leq X$ mm.

■ zone non mesurée (accès restreint).

■ zone non mesurée (enrochements).

## II.2 Cas de la station de pompage du port de DUNKERQUE

La station de pompage pour le remplissage du bassin du port comporte trois pompes à axe vertical d'un débit unitaire de 10 m<sup>3</sup>/s entraînée par des moteurs électriques de 640 kW. L'ouvrage date de 1977. À la suite d'une mise à sec et inspection des parties immergées (rouet en alliage CuAl et fond du corps de pompe en fonte GS) on a relevé des dégradations à la surface du fond de corps de pompe. Ces dégradations sont localisées dans une zone particulière qui correspond à la partie usinée de la pièce et plus précisément au niveau du chanfrein. Le décapage de toute la surface a mis en évidence des cavités profondes (jusqu'à 2 cm) et d'un diamètre voisin de 5 cm.

L'absence de contact électrique entre les parties en alliage (rouet) et en fonte (fond de corps de pompe) écarte la possibilité d'une corrosion d'origine galvanique. Une analyse microbiologique du milieu (très prolifique en coquillages et autres balanes) a révélé la présence d'un nombre élevé de bactéries de type BSR. Ce cas révèle deux aspects à prendre en compte :

- l'importance à accorder lors d'une application d'un système de peinture aux zones présentant une courbure ou saillie qui généralement sont le siège d'un décollement et de la rupture de la protection passive ;
- le confinement du milieu électrolytique (espace de la volute) qui favorise le développement et la prolifération bactérienne dès que la station de pompage est en arrêt prolongé (absence de turbulence et de renouvellement d'électrolyte).

La remise en état de la station nécessite le remplacement du fond de corps de pompe avec utilisation d'un alliage de même nuance que celui du rouet pour s'affranchir de la corrosion galvanique, et le nettoyage régulier du fond de corps de pompe par injection ou circulation d'eau pour éviter toute prolifération bactérienne.

## III. Conclusion

Les cas cités ci-dessus constituent un échantillon des cas possibles et fréquents qui apparaissent sur les structures métalliques en site portuaire. La démarche suivie par les projeteurs dans le choix et la mise en oeuvre des structures, qui répondait essentiellement aux exigences de fonctionnement et de coût, doit être améliorée avec la prise en compte des mécanismes de corrosion pouvant se développer à l'interface entre la structure et le milieu électrolytique.

Il apparaît évident qu'il faut rechercher une compatibilité entre les caractéristiques mécaniques et électrochimiques des matériaux qui apportent une réponse satisfaisante aux exigences fonctionnelles d'une part, et les caractéristiques physiques, chimiques et microbiologiques du milieu ambiant d'autre part.

Cet équilibre peut être rompu dès qu'un paramètre du milieu varie (pollution) ou qu'une nouvelle sollicitation est imposée au matériau (surcharge, fréquence de charge).

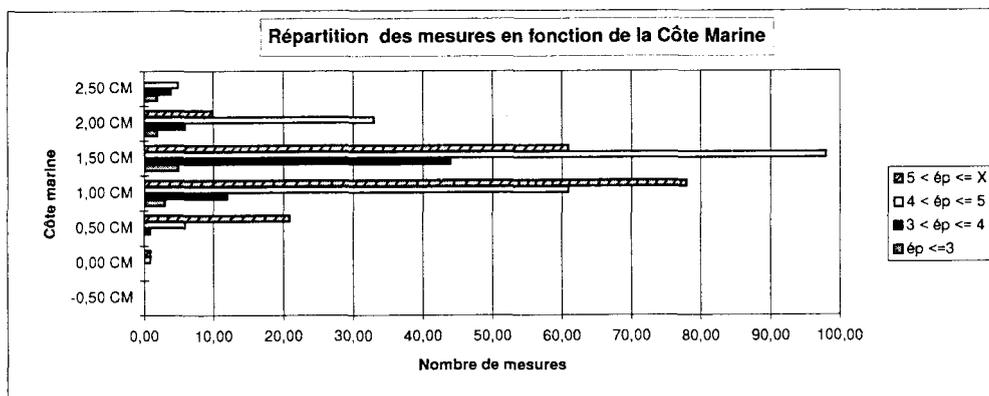
La protection active ou passive demeure la meilleure garantie pour éviter l'apparition de désordres, encore faut-il assurer la compatibilité entre les systèmes de protection et réaliser régulièrement toutes les opérations de maintenance (surveillance, contrôle, réglage, réparation et rénovation).

<sup>3</sup>Graphique de répartition des zones corrodées

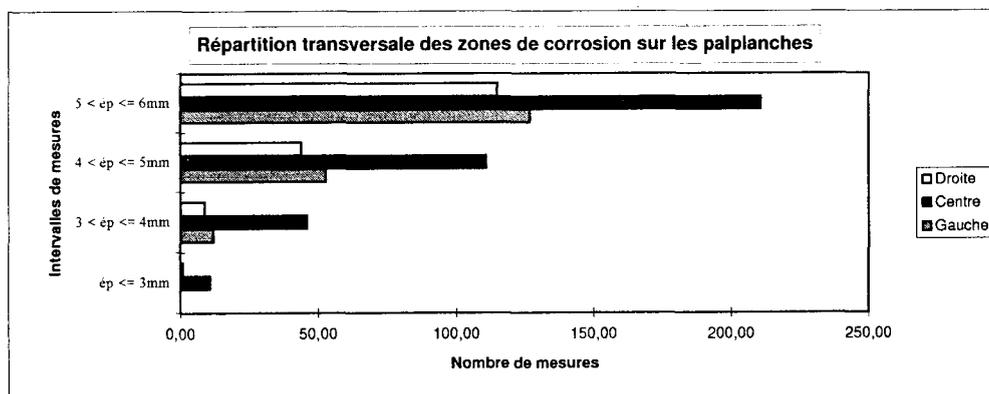
## GRAPHIQUE DE RÉPARTITION DES ZONES CORRODÉES

Nombre de palplanches 600  
 Nombre total de moyennes 9580  
 N.B: X=épaisseur minimale théorique

Cote Marine	Intervalles				Total
	ép <=3	3 < ép <= 4	4 < ép <= 5	5 < ép <= X	
-0,50 CM	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,00 CM	0,00	0,00	1,00	1,00	2,00
0,50 CM	0,00	1,00	6,00	21,00	28,00
1,00 CM	3,00	12,00	61,00	78,00	154,00
1,50 CM	5,00	44,00	98,00	61,00	208,00
2,00 CM	2,00	6,00	33,00	10,00	51,00
2,50 CM	2,00	4,00	5,00	X=4,86mm	11,00
Total	12,00	67,00	204,00	171,00	454,00



Intervalles	Zones			Total
	Gauche	Centre	Droite	
ép <= 3mm	0,00	11,00	1,00	12,00
3 < ép <= 4mm	12,00	46,00	9,00	67,00
4 < ép <= 5mm	53,00	111,00	44,00	208,00
5 < ép <= 6mm	127,00	211,00	115,00	453,00
Total	192,00	379,00	169,00	740,00





## Chapitre 18

### Corrosion bactérienne dans l'industrie pétrolière

Jean-Louis CROLET

**Résumé.** Pour la première fois, une collaboration entre experts de chaque discipline a permis d'éclairer bien des mystères historiques de la corrosion bactérienne anaérobie, en respectant les trois étapes fondamentales de toute étude :

- analyse de la corrosion en service : dommages et avaries, déviations interprétatives (dépoliarisation cathodique et électron à tout faire) ;
- de la microbiologie à la chimie du milieu corrosif : métabolisme des bactéries sulfato-réductrices (métabolismes de base et métabolismes dérivés), autres métabolismes sulfurogènes, assemblage des pièces du puzzle ;
- de la chimie du milieu à la corrosion : corrosion uniforme et corrosion localisée.

## I. Introduction

Un gisement de "pétrole" ne produit pas que de l'huile. Il produit également de l'eau et du gaz. Ces eaux "de production" ont des compositions et des salinités très diverses (de ~ 0 à 300 g/l). Toutefois, elles sont toutes naturellement désaérées et plus ou moins acidifiées par la dissolution de  $\text{CO}_2$  et, le cas échéant, d' $\text{H}_2\text{S}$ .

Pour maintenir le plus longtemps possible la pression des gisements, les volumes extraits sont compensés par une injection de volumes équivalents d'eau. En "offshore", l'eau "d'injection" est le plus souvent de l'eau de mer. Cette eau est également désaérée, mais cette fois artificiellement, dans le but de limiter la corrosion des équipements de puits en acier ordinaire.

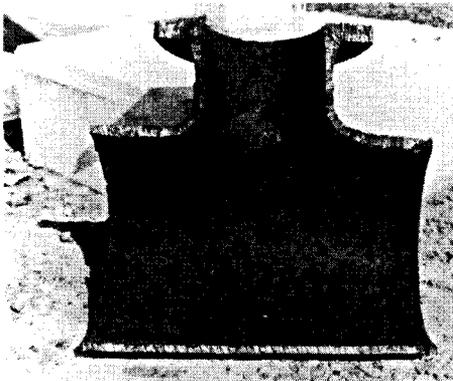
Pour manipuler sûrement et économiquement des millions de  $\text{m}^3/\text{j}$  d'eaux désaérées, plus ou moins sulfatées, dans des installations en acier ordinaire, l'industrie pétrolière doit donc se prémunir de la corrosion bactérienne du fer par les bactéries sulfato-réductrices (BSR).

Or, si ce type de corrosion est peut-être l'un des plus anciennement connu [1], il nous réserve encore bien des surprises. Nous passerons ainsi successivement en revue la corrosion en service... et toutes les déviations interprétatives qui lui ont été associées, autrefois ou même récemment. Nous suivrons ensuite la méthode indiquée au premier chapitre, à savoir l'analyse du lien amont entre la microbiologie et la chimie locale du milieu corrosif, puis celle du lien aval entre cette chimie effective de la solution et le processus de corrosion [2].

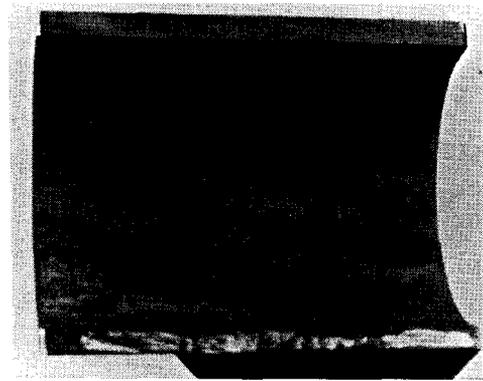
## II. La corrosion en service

### II.1. Dommages et avaries

La corrosion en service n'est jamais uniforme, mais toujours plus ou moins localisée. En eau de mer désaérée, elle prend souvent la forme de larges plages attaquées (figure 1). Dans le passé, on a souvent pris de tels faciès pour des "chancres bactériens", ce qui amenait à raisonner localement en corrosion uniforme. En fait, on sait aujourd'hui que les biofilms sont présents partout, et que la limitation de ces plages par des bords d'arrêt bien nets est la signature d'un couple galvanique local entre deux zones adjacentes [3]. Les plages attaquées ne sont donc pas localement des corrosions uniformes, mais bel et bien des corrosions localisées au sens fort [3].



**Figure 1** : plages attaquées en eau de mer désaérée



**Figure 2** : piqûres sur une tige de forage travaillant dans une boue de forage à pH 11 [4]

Ceci ne signifie pas qu'il ne puisse pas y avoir des écarts microbiologiques plus ou moins contrastés entre les deux zones. La figure 2 montre ainsi des piqûres observées sur une tige de forage ayant travaillé dans une boue de forage à pH 11. Il est clair que même avec une forte contamination, la densité bactérienne était, sans doute, plafonnée à pH 11. On peut donc imaginer que ce faciès de piqûre soit lié à une synergie locale :

croissance bactérienne → acides organiques → neutralisation de la boue → croissance bactérienne

Une telle "neutralisation différentielle" et un fort contraste pH 11/pH neutre constituent une excellente force motrice pour des piqûres. Heureusement, cette avarie est, à ce jour, restée unique [4].

Des contaminations non détectées existent sans doute assez souvent dans les eaux de production. Certains biofilms ne conduisent à aucune corrosion vraiment sérieuse, si ce n'est une dissolution uniforme résiduelle [5] proche du seuil fatidique de 0,1 mm/an. Il existe également des corrosions par piqûres foudroyantes. La figure 3 correspond ainsi au percement d'une conduite sous-marine vitale, survenu en 1990 au Congo en un an au plus (vitesse de pénétration  $\geq 1$  cm/an). Shell au Brunei (1975) et BP en Alaska ont également déploré des dommages similaires.

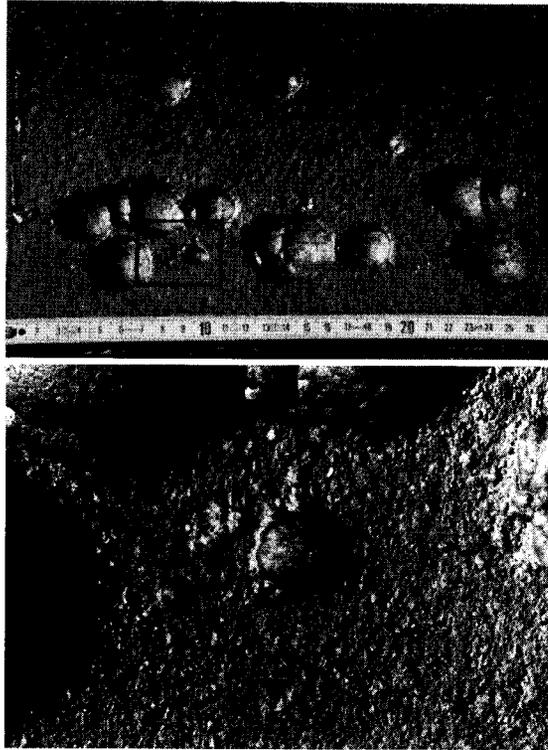


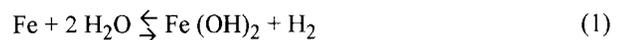
Figure 3 : piqûres dans une conduite d'eau de production [3]

La **vraie question** de la corrosion bactérienne est l'identification des réels facteurs de risques pouvant faire passer brutalement le dommage d'un niveau quasi imperceptible à une avarie foudroyante majeure.

## II.2. Les déviations interprétatives

### II.2.1. La dépolarisation cathodique

La corrosion par les BSR était connue bien avant que la corrosion ne soit comprise [1]. Au tout début de l'histoire de la science de la corrosion, on lui a donc immédiatement appliqué les raisonnements de l'époque en terme de réactions réversibles et d'équilibre. Dans les années 1920 à 1930, on écrivait ainsi un "équilibre de corrosion" [6]:



En 1934, Von Wolzogen Kuhr (VWK) qui connaissait l'existence, sinon des hydrogénases, du moins les bases du métabolisme des BSR, avait alors appliqué à cet équilibre la loi de Le Chatelier : si les BSR consomment  $\text{H}_2$ , elles "déplacent l'équilibre (1) vers la droite" [7].  $\text{H}_2$  étant le produit de la réaction cathodique, on disait que cela "dépolarisait" la réaction cathodique. D'où le nom de "dépolarisation cathodique" donné à l'hypothèse de VWK.

On sait aujourd'hui que cette hypothèse est impossible [2]. La corrosion est en effet une cinétique irréversible, sur laquelle le raisonnement de VWK ne s'applique pas. Les vitesses de réaction dépendent de l'état de la surface au moment de l'étape intermédiaire particulière qui détermine cette vitesse, et tout ce qui peut arriver ensuite ne saurait avoir d'effet rétroactif [6]. La seule chose qui demeure aujourd'hui est que l'hydrogène cathodique doit être considéré comme un élément parmi d'autres de la niche écologique des BSR dans les biofilms.

### II.2.2. L'électron à tout faire

Le trou représenté à la figure 4 illustre une "image" souvent utilisée, mais en général à tort [2].

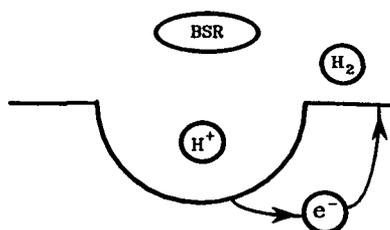


Figure 4 : exemple d'une "image" souvent utilisée faussement comme "modèle physique".

Tout d'abord, elle mélange des échelles totalement incompatibles :

- l'échelle macroscopique :  $\varnothing$  trou  $\sim 1$  mm
- l'échelle microscopique :  $\varnothing$  BSR  $\sim 1 \mu\text{m}$  ( $= 10^{-3}$  mm)
- l'échelle atomique :  $\varnothing$   $\text{H}^+$   $\sim 1 \text{ \AA}$  ( $= 10^{-7}$  mm)
- l'échelle quantique :  $\varnothing$   $e^-$   $\sim 10^{-11}$  mm

Or les lois et les concepts physiques ne sont pas les mêmes d'une échelle à l'autre, et les connexions trop directes sont souvent aventureuses. En particulier, la suggestion d'un petit trou à l'échelle atomique, pour illustrer le processus anodique élémentaire, répète à coup sûr l'erreur historique des microanodes et microcathodes (cf. chap. 1).

Enfin, l'électron figuré est en réalité un électron de conduction du métal, **disponible partout**. Il faut donc bien se garder de connecter localement un tel schéma avec les électrons figurés par ailleurs dans les "cycles biologiques" (cycles du soufre, de l'azote, etc...). Ces derniers sont, en effet, des électrons de valence, représentant uniquement des degrés d'oxydation. Or, il ne peut pas y avoir de lien direct entre les processus d'oxydo-réduction **chimique** intervenant dans les cellules, et les processus de réduction **électrochimique** intervenant à l'interface métal-électrolyte. Le lien entre eux ne peut donc être qu'indirect, à travers la présence dans l'eau d'espèces chimiques communes.

Dans les deux cas, il est clair qu'il faut s'abstenir d'utiliser comme des modèles physiques de simples images à vocation de vulgarisation.

### III. De la microbiologie à la chimie du milieu corrosif

#### III.1. Métabolisme des bactéries sulfato-réductrices

##### III.1.1. Métabolismes de base

L'étude des BSR représente une finalité microbiologique à part entière, liée à la compréhension globale du métabolisme des êtres vivants, et à l'élucidation des cycles biogéochimiques sur la planète, en particulier du soufre et du carbone (minéralisation ultime de la biomasse). Il en résulte que le métabolisme des BSR a donc été très largement étudié [8,9,10], et sa diversité amplement démontrée.

Il en résulte aussi que seuls les aspects radicalaires de ces mécanismes ont été étudiés. Les flux d' $H^+$  ne sont en effet l'objet d'aucun enjeu dans les exemples cités. Le pH est certes toujours pris en compte, mais uniquement en tant que grandeur intensive. Le tamponnement des milieux naturels rend d'ailleurs en général inaccessible toute implication potentielle de  $H^+$  dans le métabolisme lui-même.

La littérature microbiologique rend ainsi compte du métabolisme des BSR sous la forme d'une équation chimique approchée, à  $H^+$  près :

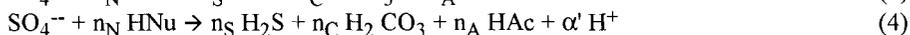
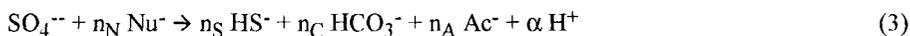
##### Métabolisme approché



Dans (2),  $Nu^-$  représente le "nutriment", qui en laboratoire se trouve être souvent l'ion lactate  $CH_3CHOHCOO^-$ .  $Ac^-$  est une notation abrégée commode pour l'ion acétate  $CH_3COO^-$ . Si  $n_A = 0$ , le métabolisme est dit "oxydant complet", et "oxydant incomplet" si  $n_A \neq 0$ .

Néanmoins, une équation chimique doit être équilibrée. En outre,  $H^+$  est une espèce chimique qu'il n'est jamais bon négliger en corrosion. Il faut donc équilibrer l'équation (2), deux options restant ouvertes, l'une à haut pH, en normalisant toutes les espèces sous leur forme ionique, et l'autre à bas pH, en privilégiant les formes acides non dissociées.

##### Métabolismes bruts



Les deux versions sont liées par la relation:

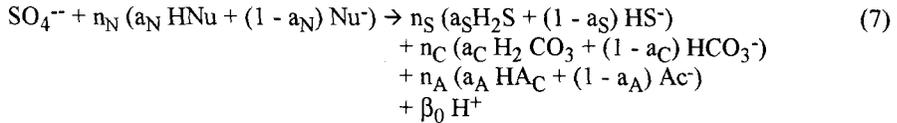
$$\alpha' = \alpha + n_N - (n_S + n_C + n_A) \quad (5)$$

Toutefois, ni l'une, ni l'autre ne représentent encore la réalité. Dans le domaine de pH concerné, entre pH 3 et 9, les pH sont en effet souvent voisins des pK des acides faibles impliqués dans les équations. Toute espèce chimique  $X$  sera donc présente simultanément sous ses deux formes  $HX$  et  $X^-$ , son taux d'association spécifique  $a_X$  étant fonction de son pK et du pH :

$$a_X = \frac{[HX]}{[X]} = \frac{[HX]}{[HX] + [X^-]} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K} = \frac{1}{[1 + 10^{pH - pK}]} \quad (6)$$

Le métabolisme bactérien exact s'écrit finalement :

### Métabolisme net



$$\text{avec} \quad \beta_0 = \alpha + n_N a_N - (n_S a_S + n_C a_C + n_A a_A) \quad (8)$$

Si les métabolismes approchés ou bruts sont bien une propriété intrinsèque de chaque souche de BSR, le métabolisme net est aussi une fonction du pH. La valeur de  $\beta_0$  varie en effet de façon continue entre ses deux limites  $\alpha$  et  $\alpha'$ .

Pour les métabolismes répertoriés dans la littérature,  $\alpha$ ,  $\alpha'$  et  $\beta_0$  peuvent être calculés facilement [11]. Pour des substrats carbonés tels que lactate, acétate ou alcools,  $\alpha$  est en général positif et  $\alpha'$  négatif. Il en résulte alors que pour le métabolisme net de BSR respirant du sulfate (figure 5, courbes BSR/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), ce coefficient  $\beta_0$  correspond à une production de H<sup>+</sup> à haut pH, et à une consommation de H<sup>+</sup> à bas pH. Ceci signifie que la chimie des métabolites tend à réguler le pH du milieu ambiant autour de la valeur où la production et la consommation de H<sup>+</sup> sont toutes deux nulles ( $\beta_0 = 0$ ). Pour les souches classiques *Desulfovibrio desulfuricans* et *vulgaris* croissant sur lactate, le pH régulé serait ainsi de 6,7. On ne voit donc guère comment un tel pH neutre en milieu désaéré pourrait engendrer de la corrosion.

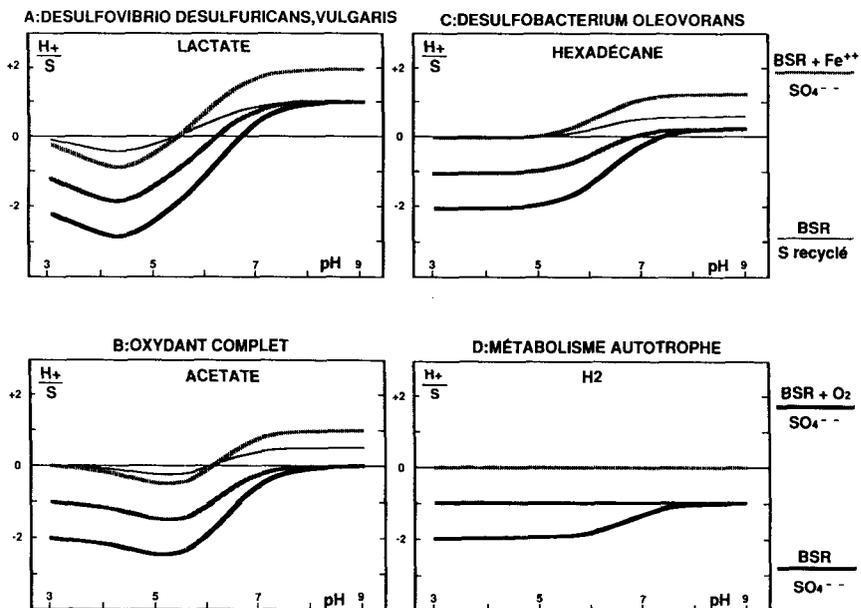


Figure 5 : influence du pH sur la production nette d'acidité, pour différentes souches croissant sur sulfate

Bien plus, les souches autotrophes ou mixotrophes, c'est-à-dire dont l'énergie ne provient que de l'oxydation de  $H_2$  par des hydrogénases, ont un métabolisme consommant systématiquement  $H_2$  et  $H^+$ . D'où à  $pH < 6$  :



Une souche H ase positive devrait donc encore moins corroder que les autres !

Ces valeurs de  $\beta_0$  que l'on vient de calculer [11] peuvent également être directement mesurées [12]. Il suffit de supprimer la fixation usuelle du pH par un tampon chimique, et de la remplacer par une régulation électronique du pH. La comparaison de la production d'espèces sulfurées par les BSR aux quantités d'HCl ou NaOH ajoutées par le "pHstat" donne alors directement la valeur de  $\beta_0$ . Toutefois, comme pour la corrosion bactérienne, la réalisation de bonnes mesures physico-chimiques sur de bonnes cultures bactériennes demande d'apprécier et de maîtriser les difficultés de la multidisciplinarité [12].

### III.1.2. Métabolismes dérivés

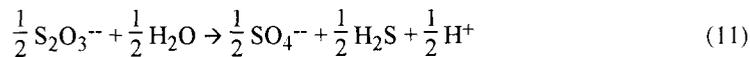
Cette chimie de base du métabolisme bactérien peut également être couplée à d'autres réactions chimiques, et donner des effets d'acidification différents, ou simplement décalés. Dans des piqûres par exemple, la production massive d'ions  $Fe^{++}$  par la réaction anodique peut entraîner la précipitation totale du sulfure bactérien en sulfure de fer.



D'où une acidification supplémentaire par rapport au métabolisme de base, et un nouveau coefficient  $\beta_1$ , pour une réaction globale qui deviendrait (7) + (9) [11] :

$$\beta_1 = \beta_0 + 1 + \alpha_S \quad (10)$$

De même, les BSR sont capables d'utiliser des espèces soufrées autres que le sulfate ( $S^{VI}$ ), et notamment le sulfite ( $S^{IV}$ ), le thiosulfate ( $S^{II}$ ) et le soufre élémentaire ( $S^0$ ), d'où à chaque fois, d'autres coefficients potentiels  $\beta_i$  dans les équations chimiques correspondantes. Malheureusement, celles-ci ont rarement été décrites avec précision. Pour le thiosulfate par exemple, Widdel [9] fait l'hypothèse que "cela ne change rien par ailleurs". Ceci signifie qu'il faudrait simplement rééquilibrer une nouvelle équation au thiosulfate avec d'autres coefficients stoechiométriques. Du fait de la conservation de la matière, ces nouveaux coefficients peuvent être dérivés mathématiquement de ceux de l'équation précédente au sulfate (7), en la faisant précéder par une réaction virtuelle de dissociation du thiosulfate :

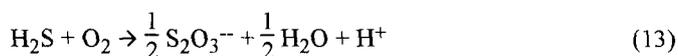


D'où un nouveau coefficient théorique  $\beta_2$  pour le métabolisme décrit par les équations (7) et (11) [13]:

$$\beta_2 = \frac{1}{2} (\beta_0 + 1 - \alpha_S) \quad (12)$$

Dans la pratique cependant,  $\beta_2$  n'a jamais pu être mesuré. La réduction du thiosulfate semble en effet un processus beaucoup plus complexe que celle du sulfate. On observe des stoechiométries évoluant dans le temps, et des effets de relargage différé des sulfures. Sous réserve d'études plus approfondies, la comparaison présentée  $\beta_2/\beta_0$  ne doit donc être considérée que comme une tendance.

Enfin, le sulfure bactérien peut être remanié, par exemple par réoxydation en thiosulfate en cas d'apport d'oxygène depuis l'extérieur du biofilm [14]:



D'où un nouveau coefficient [13] :

$$\beta'_0 = \beta_0 + a_S \quad (14)$$

Enfin, ce thiosulfate régénéré peut être recyclé dans un métabolisme au thiosulfate, fonctionnant alors au circuit fermé, et sans aucun apport de soufre extérieur [13] :

$$\beta'' = \frac{1}{2} (\beta_0 + 1 + a_S) \quad (15)$$

Enfin, toutes ces variantes par le soufre peuvent être couplées à une précipitation de sulfure de fer. D'où au total les dix  $\beta$  différents du tableau ci-dessous.

Variation de la production nette d'acidité par les BSR en fonction de l'espèce soufrée utilisée, sans ( $\beta_{2n}$ ) ou avec ( $\beta_{2n+1}$ ) excès de fer. (dans tous les cas :  $\beta_{2n+1} = \beta_{2n} + 1 + a_S$ )

Espèces soufrées	Sans Fe <sup>++</sup>	Avec Fe <sup>++</sup>
Soufre élémentaire S <sup>°</sup>	$\beta_4 = -(\beta_0 + 5 - 3 a_S)$	$\beta_5 = \beta_1 / 4 + 2$
Thiosulfate S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	$\beta_2 = -(\beta_0 + 1 - a_S)$	$\beta_3 = \beta_1 / 2 + 1$
Sulfate SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	$\beta_0$	$\beta_1 = \beta_0 / 1 + a_S$
Sulfite SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	$\beta_6 = 3/4 \beta_0 - (1 + a_S)$	$\beta_7 = 3/4 \beta_1$
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> + O <sub>2</sub>	$\beta'_0 = \beta_0 + a_S$	
S recyclé	$\beta'' = -(\beta_0 + 1 a_S)$	

Au total, l'action des BSR sur l'acidification locale se révèle donc extrêmement variable.

La figure 5 montre ainsi la variabilité microbiologique ou taxonomique, c'est-à-dire le rôle de la souche sur  $\beta_0$  et les variantes  $\beta'_0$ ,  $\beta''_0$  et  $\beta_1$ . Pour les souches mixotrophes et autotrophes en particulier, la conjonction d'une réduction de thiosulfate et d'une précipitation de sulfure de

fer entraîne un  $\beta_3$  nul à tout pH (figure 5). Ceci signifie qu'en corrosion uniforme ou dans une piqûre, le pH peut être quelconque, et donc éventuellement bas, alors que dans l'entourage cathodique d'une piqûre, le pH est nécessairement élevé.

Inversement, pour des souches classiques *D. desulfuricans* ou *D. vulgaris* croissant sur lactate, la figure 6 montre la variabilité chimique ou physiologique, liée à la nature de l'espèce soufrée utilisée pour la respiration.

Dans tous les cas, on constate que sur une anode (BSR + Fe) ou sur la cathode environnante (BSR), les régulations locales de pH sont sensiblement différentes, avec une acidification nettement plus marquée pour l'anode. C'est potentiellement le moteur idéal pour une corrosion par piqûre de l'acier ordinaire.

Sous cet angle, le soufre élémentaire pourrait apparaître comme le plus dangereux (figure 6A). Toutefois,  $S^0$  est très peu soluble, et les cinétiques réelles d'une telle chimie apparaissent problématiques. À l'opposé, le sulfite est très soluble, mais les pH correspondants sont systématiquement moins acides, et donc moins dangereux que pour le sulfate (figure 6D). C'est donc le thiosulfate qui apparaît globalement comme le plus dangereux (figure 6B), avec à la fois des pH plus acides et un contraste de pH plus marqué que pour le sulfate.

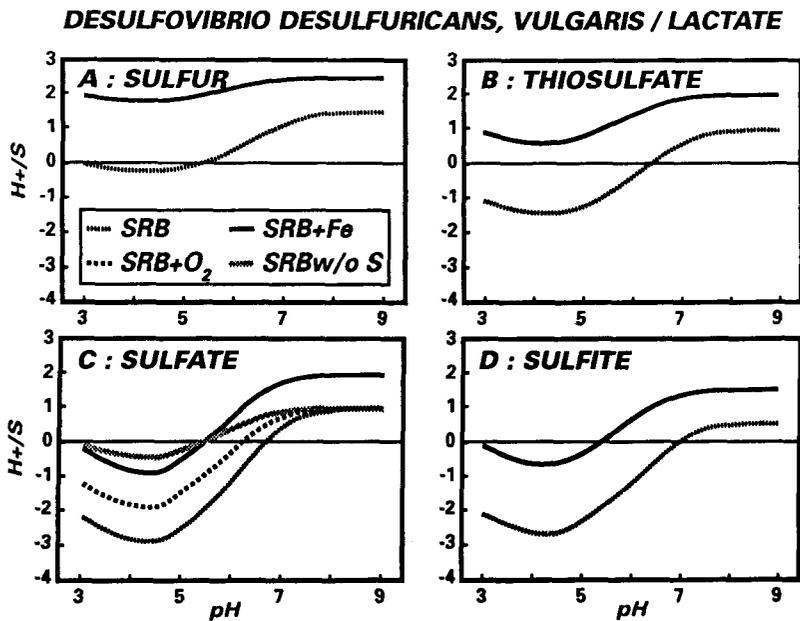


Figure 6 : influence du pH sur la production nette d'activité de *D. desulfuricans* et *D. vulgaris*, croissant sur lactate et différents composés du soufre [13].

### III.2. Autres métabolismes sulfurogènes

Dans tout ce qui précède, le fondement du lien entre la microbiologie et la corrosion réside dans les produits du métabolisme, c'est-à-dire dans le second terme de l'équation (7). Or, si la caractéristique de la famille des BSR est de réduire les sulfates en sulfures, et d'avoir un  $\beta_0$  et des  $\beta_1$ , il existe également des souches sulfurogènes non BSR. Celles-ci réduisent par exemple le thiosulfate en  $H_2S$ , mais pas le sulfate. Elles ont donc un  $\beta_2$ , mais pas de  $\beta_0$ . Mais pour la corrosion, c'est l' $H_2S$  et le  $\beta$  qui comptent, et pas l'indice 0 !

A la suite de l'avarie du Congo (figure 3), une vaste étude épidémiologique a donc été lancée dans l'ensemble du groupe Elf [15]. Elle a ainsi permis de collecter de nombreuses souches nouvelles de BSR, par exemple *Desulfovibrio longus* [16]. On peut noter au passage que toutes les souches du Congo croissaient plus vite sur thiosulfate que sur sulfate [17]. Cette campagne de prélèvements a également permis d'identifier un métabolisme sulfurogène jusqu'alors inconnu [18] pour les genres *Thermoanaerobacter* [19] et *Thermotoga*, ainsi à nouveau que des souches totalement inconnues, par exemple *Thermotoga elfii* [20]. Toutes ces souches ont en commun un métabolisme fermentaire : elles croissent sur des sucres élémentaires, et produisent de l'hydrogène. Or cet hydrogène est plus ou moins toxique pour elles. Elles utilisent alors la présence de thiosulfate pour oxyder  $H_2$  en  $H_2S$  [19]. Étant moins sensibles que les BSR à l'accumulation d' $H_2S$  dans leur milieu, elles peuvent en produire des concentrations bien supérieures.

En retour, cette possibilité de "détoxification" leur permet peut-être d'utiliser des nutriments autres que les sucres usuels. Elles sont ainsi capables d'utiliser des peptides (oligomères d'acides aminés), parfois seulement en présence de thiosulfate. Or, de tels nutriments sont disponibles à profusion dans tout biofilm. Les nouveaux métabolismes sulfurogènes n'ont donc pour unique limitation écologique que la présence de thiosulfate, et plus la présence de tel ou tel nutriment.

En résumé, ces nouveaux "métabolismes sulfurogènes" ne correspondent plus comme pour les BSR à une respiration d'espèces soufrées, mais à un processus de régulation physiologique, associé à un métabolisme fermentaire, lui-même sans aucun rapport avec la corrosion. Ces nouveaux métabolismes sont encore très mal connus. Les seules certitudes sont l'ampleur de la sulfurogénèse et l'utilisation spécifique (mais non exclusive) du thiosulfate.

### III.3. Les pièces du puzzle

Du thiosulfate était effectivement présent dans l'eau de production du site du Congo où a été relevée l'avarie de la figure 3 : environ 0,5 mM/L, soit la réduction cumulée de 30 ppm d'oxygène (à la suite d'entrées d'air répétées en amont de cette ligne à  $H_2S$ ).

En outre, les piqûres les plus éloignées du percement, c'est-à-dire a priori les moins sévères, étaient entièrement remplies d'épais sulfure de fer foisonnant. Ces dépôts de type "insoluble anionique" (cf. chapitre 1, § III.4.2) sont bien connus à Lacq pour être particulièrement non protecteurs [21].  $HS^-$  étant l'anion précipitable et le tampon de l'acide sulfhydrique, son épuisement local augmente à la fois l'acidité du milieu et la solubilité du fer. Cela induit également la stabilisation possible d'un couplage galvanique fort avec un entourage cathodique, et la croissance d'une corrosion localisée (cf. chapitre 1, figure 17).

Enfin, les piqûres les plus sévères, car les plus proches du percement, étaient au contraire vides. Ceci signifie que les pH locaux étaient encore plus acides que plus loin, ce qui permettait de maintenir en solution l'essentiel du fer corrodé.

En conclusion, l'analyse des dommages et avaries en service, et l'analyse parallèle de la chimie locale résultant du métabolisme bactérien fournissent tous les prémisses d'un nouveau mécanisme de corrosion localisée [3]. Il n'y a plus qu'à mettre en forme.

## IV. De la chimie du milieu à la corrosion

On connaît depuis longtemps le rôle de l' $H_2S$  sur la dissolution anodique du fer [22], et plus généralement le rôle de  $CO_2$ ,  $H_2S$  et du pH sur la corrosion de l'acier [21] et la protectivité des dépôts de corrosion [23]. Il "n'y a donc plus qu'à" assembler ces connaissances avec celles du paragraphe précédent [2].

### IV.1. Corrosion uniforme

En présence de dépôts de corrosion, toute polarisation appliquée est potentiellement destructrice [24]. Les seules méthodes d'études applicables sont donc les mesures de perte de masse ou de résistance de polarisation.

En laboratoire comme en service, les vitesses de corrosion uniforme ne sont jamais très élevées. Les seules valeurs significatives concernent souvent les métabolismes autotrophes ou mixotrophes [25], sans que cela puisse être clairement expliqué. La déviance de la dépolarisation cathodique a en effet détourné la plupart des auteurs de chercher dans des voies réellement constructives.

En dehors de ce cas, les vitesses de corrosion uniforme sont toujours très faibles. Certains auteurs ont effectivement eu conscience de ce paradoxe [5]. Beaucoup cependant ne l'ont pas vu [26], ou ont feint de ne pas le voir [27]. D'autres ont même poussé le paradoxe jusqu'à conclure à un "effet bénéfique" des BSR [28], ce qui constitue tout de même une vision quelque peu schizophrène de la corrosion bactérienne. C'est pourquoi pour éviter toute ambiguïté, il est toujours nécessaire de traduire toute mesure de vitesse de corrosion dans des unités significatives [29], à savoir le mm/an et ses dérivés (cf. chapitre 1)

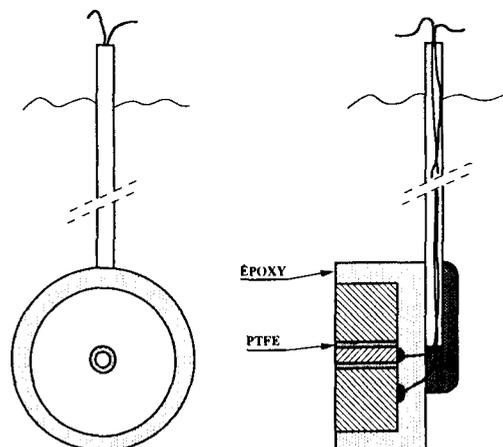


Figure 7 : petite anode et grand cathode concentriques en vis-à-vis [30].

## IV.2. Corrosion localisée

Sur des milliers de  $m^2$  et des dizaines d'années d'exploitation, il y a toujours quelques part une dissolution aléatoire pouvant servir de germe de piqûre. La question n'est donc pas de savoir s'il y a germination en service, mais si ces germes peuvent se stabiliser en piqûre permanente. Inversement, sur quelques  $cm^2$  et quelques jours d'essai, la germination spontanée n'est jamais assurée en laboratoire. D'où l'idée d'évaluer le risque de piqûre, non pas sur des observations incertaines de germination, mais en étudiant la stabilité naturelle de germes artificiels. Pour cela, on simule la piqûre et son entourage [30] par une petite électrode centrale et une grande électrode concentrique en vis-à-vis (figure 7)

Ces deux électrodes sont tout d'abord "conditionnées", en étant respectivement anode et cathode par une polarisation imposée [31,32]. Après quelques heures ou quelques jours de ce traitement, elles sont ensuite mises en court-circuit, à travers un ampèremètre à résistance nulle. En milieu stérile, en présence de bactéries productrices d'acide ou même de BSR minoritaires, le couple galvanique initial devient vite instable, et le courant de couplage retombe rapidement à zéro (figure 8). En présence de BSR seules (ou majoritaires), le courant diminue, mais se stabilise à des valeurs non nulles, parfois impressionnantes. C'est donc la valeur relative de la densité de ce courant par rapport à la surface d'anode, exprimée en  $mm/an$ , qui représente le **risque effectif de corrosion bactérienne**.

Dans les essais préliminaires de la figure 8, on avait ainsi "seulement" 0,5  $mm/an$ . Depuis, on a fait beaucoup mieux [30] :

avec BSR et sulfate	: 0,5 à 2 $mm/an$
avec BSR et thiosulfate	: jusqu'à 10 $mm/an$
avec sulfurogène et thiosulfate	: jusqu'à 10 $mm/an$ .

De telles valeurs centimétriques ramènent toute durée de vie d'installation à moins d'un an !

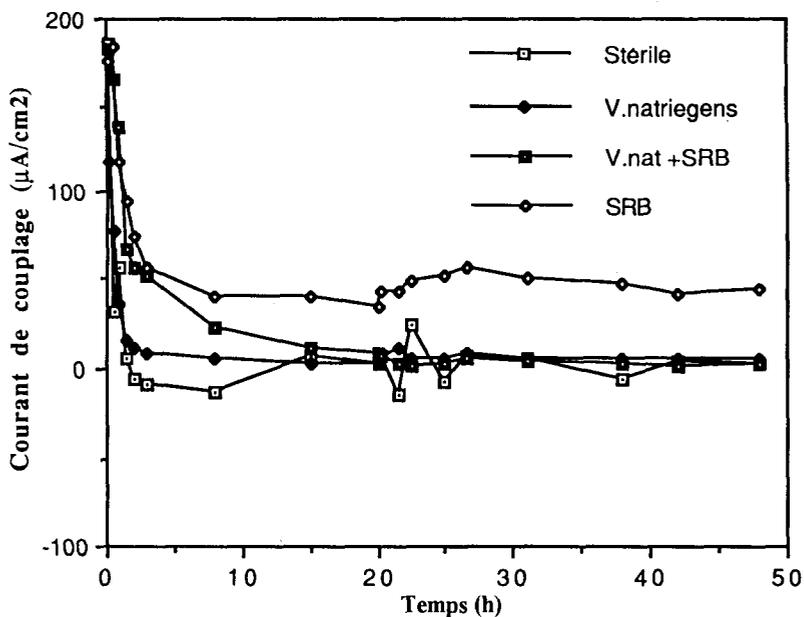


Figure 8 : Évolution du courant de couplage galvanique en présence et en l'absence de BSR [31].

## V. Conclusions

Pour être efficace, l'étude d'un phénomène de corrosion doit être exhaustive. Elle ne doit ainsi négliger ni l'analyse industrielle des dommages en service, ni la compréhension scientifique de tous les phénomènes qui peuvent s'y rapporter. Dans le cas présent, les connaissances des microbiologistes sur les bactéries ont été traduites en termes de chimie, puis en termes de corrosion.

Cette compréhension fondamentale nouvelle [30,32] bouleverse l'approche de la corrosion bactérienne dans l'industrie pétrolière, et probablement ailleurs.

1. La corrosion par l' $H_2S$  bactérien n'est pas due uniquement aux BSR. En conséquence, nous sommes en train de généraliser des "test-kits" de détection spécifique pour bactéries sulfurogènes, ou de kits globaux pour sulfurogènes et BSR.
2. Le facteur de risque principal n'est pas la présence de BSR, mais apparemment celle de thiosulfate. En terme de pH et de potentiel redox, le domaine d'existence du thiosulfate [14] est pratiquement celui de la rouille verte [33]. L'observation de cette dernière devrait signaler la présence éventuelle de thiosulfate.
3. Les connaissances sur la bactéricidie doivent être étendues au cas des thiosulfates, à la fois sur BSR et sulfurogène.

Bien du travail à faire avant de maîtriser totalement cette forme de corrosion bactérienne, pourtant connue depuis un siècle [1].

## Références

- [1] GUEZENNEC J., *Mat. et Techn.* **78**, n° spécial Biocorrosion (Décembre 1990), 1.
- [2] CROLET J.L., *Mat. et Techn.* **78**, n° spécial Biocorrosion (Décembre 1990), 9-13.
- [3] DABOSI F., BERANGER G., BAROUX B., *Corrosion localisée* (Les Éditions de Physique, les Ulis, 1994) p. 383 et 407.
- [4] CROLET J.L., *Bull. Centr. Rech. Explor. - Prod. Elf Aquitaine* **4** (1980), 179-203.
- [5] FREITER E., "A laboratory study of the effects of a corrosion inhibitor on populations of sessile and planktonic bacteria, and its effects on microbial influenced corrosion". *NACE CORROSION* 91, paper 584, (NACE, Houston TX., 1991).
- [6] BOCKRIS J.O.M., REDDY A.K.N., "Modern Electrochemistry". (Plenum Press, New York, 1970).
- [7] Von WOLZOGEN KUR C.A.H., Van der VLUGT I.S., *Water* **18** (1934), 147.
- [8] PANKHANIA I.P., *Biofouling* **1** (1988) 27.
- [9] WIDDEL F., "Microbiology and ecology of sulfate-and sulfur- reducing bacteria", in "Biology of Anaerobic microorganisms", Chap. 10, (John WILEY & Sons, 1988).
- [10] ODOM J.M., RIVERS SINGLETON Jr., "The sulfate-reducing bacteria : contemporary perspectives" (Springer Verlag, Berlin, 1992).
- [11] CROLET J.L., DAUMAS S., MAGOT M., *Mat. Et Techn.* **80** (1992), 71-77.
- [12] DAUMAS S., MAGOT M., CROLET J.L., *Res. Microbiol.*, **144** (1993), 327-332.
- [13] CROLET J.-L., DAUMAS S., MAGOT M., "pH regulation of sulfate-reducing bacteria", *NACE CORROSION* 93, paper 303 (NACE, Houston TX., 1993).

- [14] POURBAIX A., POURBAIX M., CROLET J.L., "Influence de traces d'oxygène sur la corrosivité des milieux H<sub>2</sub>S", Colloque Cefracor-SCI "Corrosion dans les usines chimiques et parachimiques", Lyon, Oct. 1991, (SCI, Paris, 1991).
- [15] MAGOT M., CONNAN J., CROLET J.L., *La Recherche* **25** (1994) 936-937.
- [16] MAGOT M., CAUMETTE P., DESPERRIER J.M., MATHERON R., DAUGA C., GRIMONT F., CARREAU L., *Int. J. Syst. Bacteriol.* **42** (1992), 398-403.
- [17] MAGOT M., TARDY C., CAUMETTE P., HURTEVENT C. and CROLET J.L., Identification of sulphate-reducing bacteria from production water of various oil fields. 10th European Corrosion Congress, Barcelona 5-9 July 93, Vol. 1 (The Institute of Metals, London UK, 1993), p. 576-580.
- [18] CROLET J.L., MAGOT M., "Observations of non SRB sulfidogenic bacteria from oilfield production facilities", *NACE CORROSION* 95, paper 188 (NACE, Houston TX., 1995).
- [19] FARDEAU M.L., CAYOL J.L., MAGOT M., OLLIVIER B., *FEMS Microbiology letters* **113** (1993), 327-332.
- [20] RAVEAU G., MAGOT M., FARDEAU M.L., PATEL B.K.C., PRENSIER G., EGAN A., GARCIA J.L., OLLIVIER B., *Int. J. Syst. Bacteriol.* **45** (1995) 308-314.
- [21] CROLET J.L., *Met. Corr. Ind.* **64**, 764 (1989) 91-106.
- [22] SURY P., WEBER J., *Sülzer Tech. Rev.* **55** (1973) 143.
- [23] CROLET J.L., *Rev. Met. CIT/SGM* **91** (1994) 833-847.
- [24] CROLET J.L., *Met. Corr. Ind.* **63**, 757 (1988), 279-302.
- [25] BRYANT R.D., JANSEN W., BOIVIN J., LAISLEY E.J., COSTERTON J.W., *Applied and Environmental Microbiology* **57** (1991), 2804.
- [26] GAYLARDE C., *International Biodeterioration & Biodegradation* **30** (1992), 331.
- [27] HERNANDEZ G., KUCERA V., PEDERSEN A., THIERRY D., HERMANSSON M., *Corrosion* **50** (1994), 603.
- [28] GABORIAU-SOUBRIER C., SINICKI C., *Biocorrosion Biodeterioration Soc. Occaso Publ.* **5** (1988), 53.
- [29] CROLET J.-L., *Acta Microbiol. Pol.* **43** (1994), 110.
- [30] CAMPAIGNOLLE X., Thèse, Université de Toulouse, 1996.
- [31] GUEZENNEC J., MITTELMANN M.W., BULLEN J., WHITE D.C. and CROLET J.L., "Stabilization of localised corrosion on carbon steel by sulfate-reducing bacteria" dans *UK CORROSION* 92, Oct. 1992 (The Institute of Materials, London, 1992), Vol 3.
- [32] CAMPAIGNOLLE X., CROLET J.L., *Mat. Perform.* (à paraître).
- [33] REFAIT Ph., GENIN J.M.R., *Corros. Sci.*, **34** (1993), 797 et **36** (1994), 55.

## Chapitre 19

# Étude de cas de prolifération bactérienne dans le circuit de réfrigération auxiliaire d'une centrale électrique

L. DUVIVIER, P. DEJONCKHEERE et P. VANMAELE

**Résumé.** Des bactéries *Sphaerotilus natans* se sont développées dans le circuit de réfrigération auxiliaire de la centrale Electrabel de Baudour. Elles augmentent la vitesse de corrosion de l'acier au carbone et génèrent des slimes (graines organo-minérales) qui colmatent les filtres et réduisent le rendement des échangeurs de chaleur. Divers procédés biocides ont été expérimentés au laboratoire : chlore, chloramine, biocides organiques, irradiation UV. En exploitation, on a comparé les conditionnements de l'hypochlorite de soude et à l'ozone. Industriellement, l'injection d'ozone paraît être la meilleur solution.

## I. Introduction

« La centrale ELECTRABEL de Baudour est une unité conventionnelle de 115 Mw. Elle est implantée en Belgique dans la région de Mons.

Pour le refroidissement des condenseurs, l'eau de réfrigération est prélevée dans le canal NIMY-BLATON. Par contre, pour la réfrigération des circuits auxiliaires, et pour assurer la préparation d'eau déminéralisée, on utilise de l'eau prélevée dans la nappe phréatique au moyen de trois puits artésiens.

Au cours de l'été 1991, de nombreux problèmes de bouchage et de colmatage sont apparus, en particulier au niveau des réfrigérants des broyeurs à charbon et des filtres situés à l'aspiration des pompes d'eau à déminéraliser.

Une couche organique de couleur brunâtre a été jugée responsable des diverses obstructions rencontrées dans l'installation. Les prélèvements effectués dans les bâches à eau brute et également sur certains filtres ainsi que les observations réalisées au microscope ont permis d'identifier les responsables du salissement : des bactéries *Sphaerotilus natans*.

Pour limiter au mieux la croissance et la fixation de ces bactéries, des études en laboratoire ont été entreprises afin de comparer l'efficacité de divers traitements biocides : chlore, chloramine, biocides organiques, ozone, irradiations UV.

Au niveau industriel, on a comparé l'efficacité de l'hypochlorite de sodium et de l'ozone.

## II. Description du circuit de réfrigération auxiliaire

La figure 1 représente le schéma de principe du circuit de réfrigération auxiliaire de la centrale de BAUDOUR.

Les puits artésiens A, B et C alimentent deux réservoirs tampons. A partir de ceux-ci, l'eau est distribuée par gravité vers divers collecteurs, appelés "barillets".

Les diverses prises d'échantillon ainsi que les points d'injection d'eau de JAVEL et d'ozone sont mentionnés sur la figure.

### III. Principales caractéristiques des *Sphaerotilus natans*

Les *Sphaerotilus natans* (photos 1 et 2) appartiennent au groupe des ferrobactéries. Ce sont des bactéries gram négatif. Elles sont caractérisées par une activité oxydative vis-à-vis des sels de fer et de manganèse.

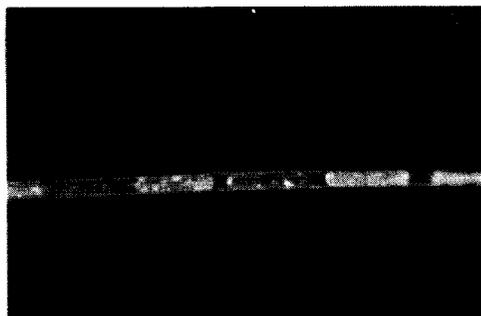


Photo 1 : *Sphaerotilus natans* (× 1000)



Photo 2 : *Sphaerotilus natans* (× 1000)

Les *Sphaerotilus natans* sont des bactéries chémo-hétéro-organotrophes. Leur source d'énergie est chimique (chémo), elle provient d'une part de l'oxydation des ions  $Fe^{2+}$  ou  $Mn^{2+}$  et d'autre part, des réactions d'oxydo-réduction avec la matière organique. Ces bactéries peuvent donc vivre dans l'obscurité. Leur source de carbone est organique (hétéro). Elles utilisent les acides organiques et les sucres comme source de carbone. Leur donneur d'électrons est organique (organo). Cependant, on pense qu'elles sont plutôt mixotrophes, c'est-à-dire que leur source de carbone peut également être d'origine inorganique, le dioxyde de carbone, par exemple.

Leurs dimensions varient de 1.2 – 2.5 à 2 – 10  $\mu m$ .

Leurs conditions de développement sont les suivantes:

- température de 10 à 37 °C, la plage optimum allant de 20 à 30 °C,
- pH idéal de 6.5 à 7.6,
- capables de vivre en milieu très faiblement oxygéné, en-dessous de 0.1 mg  $O_2/l$ .

Elles conduisent à la formation de filaments organiques riches en fer. Mais pas de dépôts d'oxydes de fer ou de manganèse.

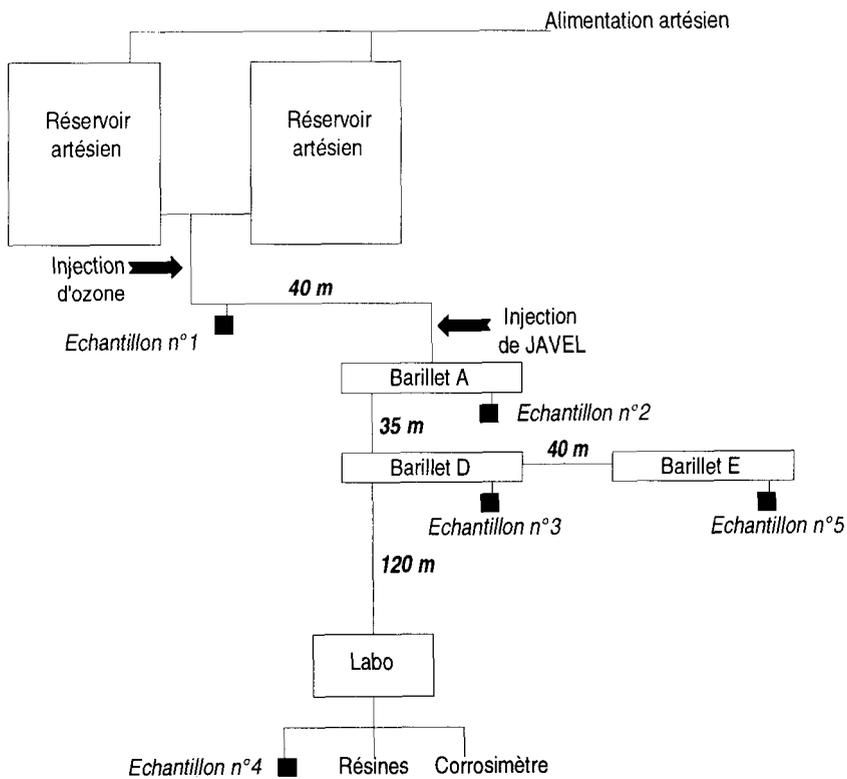
Pour former les gaines (slimes), elles ont besoin de calcium dans leur environnement. La formation de slimes (photo 3) n'apparaît que lorsque la concentration en oxygène dissous est inférieure à 5 mg/l environ.



**Photo 3 :** *Sphaerotilus natans* (slime× 20)

Lorsqu'elles colonisent les rivières, il n'est pas rare qu'elles tapissent le lit sur plusieurs kilomètres. Les problèmes technico-économiques liés à la présence de ces bactéries dans les installations de distribution d'eau ou industrielles sont nombreux:

- corrosion,
- colmatage ou bouchage des filtres,
- obstructions diverses, ...



*Figure 1: Schéma de principe du circuit de réfrigération auxiliaire de la centrale de BAUDOUR*

Olsen [6] pense que le mécanisme de corrosion en présence de ferrobactéries filamenteuses n'est pas une attaque directe de la surface métallique, mais le résultat de conditions réductrices sous la couche organique générée par les bactéries. Ces zones couvertes deviennent anodiques par rapport à la périphérie du dépôt qui, considérablement aérée par l'oxygène dissous contenu dans l'eau, est cathodique. Un courant de corrosion s'établit entre les zones anodiques et cathodiques le  $Fe^0$  en  $Fe^{2+}$ , rapidement oxydé en présence d'oxygène dissous en  $Fe^{3+}$ . Une fois la différence de potentiel établie, le processus de corrosion peut continuer indépendamment de l'activité bactérienne. Chantereau [8] prétend par contre que les ferrobactéries, en tirant leur énergie de la transformation des sels ferreux en sels ferriques, rompent continuellement l'équilibre de dépolarisation simultanée anodique et cathodique. Il est probable qu'à l'origine du phénomène l'hypothèse avancée par Chantereau [8] est correcte, mais que le processus évolue sans doute dans le sens du mécanisme proposé par Olsen[6].

#### IV. Qualité des eaux de puits

Le tableau 1 reprend la composition chimique sommaire des eaux des puits artésiens. Les concentrations en oxygène dissous et en calcium, ainsi que les valeurs de pH, expliquent les possibilités de développement des *Sphaerotilus natans* et de leurs slimes. La température de l'eau prélevée varie entre 12 et 18 °C. L'échauffement général du circuit s'élève à quelques 5 °C.

Tableau 1 : Analyses moyennes des eaux de puits

Paramètres	Puits A	Puits B	Puits C
pH	6.94	6.97	7.02
Oxygène dissous (mg/l)	3.1	4.3	2.3
Fer dissous ( $\mu$ g/l)	22	24	20
BOD (mg O <sub>2</sub> /l)	6.2	15.6	12.8
COD (mg O <sub>2</sub> /l)	32.9	40.7	37.0
TOC (mg C/l)	3.6	6.7	9.6
Matières en suspension (mg/l)	2	3	11
Chlorures (mg/l)	38.8	62	84.3
Nitrates (mg/l)	63.5	54.8	43.8
Sulfates (mg/l)	152	236	240
Fluorures (mg/l)	0.33	0.55	0.56
Azote Kjeldahl (mg/l)	0.78	2.22	1.48
Phosphate (mg/l)	<1	7.5	2
Calcium (mg/l)	193.2	257.6	267.6
Magnésium (mg/l)	9.7	7.2	7.5
Sodium (mg/l)	21.7	43.1	42.4
Bicarbonate (mg/l)	378.2	500.2	488.4

## V. Milieu de culture

Le milieu de culture qui a été utilisé pour les manipulations en laboratoire est identique à celui développé par STOKES [5].

Au cours des nombreux essais que nous avons réalisés, nous avons cependant constaté que la sélectivité de ce milieu n'était pas assurée.

Sa composition est la suivante :

glucose	:	1.0 g/l
peptone	:	1.0 g/l
sulfate de magnésium	:	0.2 g/l
chlorure de calcium	:	0.05 g/l
chlorure ferrique	:	0.01 g/l
agar	:	12.5 g/l

## VI. Essais de laboratoire

Les essais ont pour but d'une part, de faire croître les bactéries et d'autre part, d'étudier divers procédés biocides. De plus, on a étudié le processus de corrosion de l'acier au carbone dans un milieu contaminé par les *Sphaerotilus natans*.

### VI.1. Cultures en laboratoire

Deux types d'essais de développement ont été réalisés. Dans le premier cas, on introduit des plaquettes d'acier au carbone et de verre dans un aquarium contenant de l'eau de ville. L'aquarium est ensuiteensemencé au moyen de slimes prélevés dans les circuits de la centrale. Le système est placé à la lumière ambiante et est aéré en continu au moyen d'une pompe à air. Dans le second cas, on introduit de l'eau, prélevée directement des réservoirs de la centrale, dans un aquarium placé à l'abri de la lumière. On n'ajoute pas de slimes.

Après un jour, on observe dans la première série d'essais une corrosion des plaquettes en acier au carbone. Cependant, la corrosion n'est pas uniforme. Les plaquettes en verre et en acier sont couvertes de slimes.

Après la même période, dans la seconde série d'essais, on note les mêmes phénomènes.

On aensemencé une série de boîtes de PETRI avec les échantillons d'eau prélevés dans chacune des séries de tests. Après 3 jours d'incubation à 30 °C, tous les échantillons se sont révélés positifs.

La concentration en fer des slimes est d'environ 1.5 % en masse.

### VI.2. Essais de désinfection

Tous les essais ont été réalisés au laboratoire à 25 °C et sous agitation continue.

#### VI.2.1. Résultats avec les biocides oxydants chlorés

Différentes concentrations en chlore libre (hypochlorite de sodium) et monochloramine ont été testées. Le temps de contact varie de 15 minutes à 2 heures.

Chlore libre	0.6 mg Cl <sub>2</sub> /l	1.25 mg Cl <sub>2</sub> /l	2.5 mg Cl <sub>2</sub> /l	5 mg Cl <sub>2</sub> /l
15 minutes	+	+	+	+
30 minutes	+	+	-	-
60 minutes	+	+	-	-
120 minutes	+	+	-	-

Tableau 2: Efficacité du chlore libre sur les *Sphaerotilus natans* (+: présence, -: absence)

Monochloramine	0.6 mg Cl <sub>2</sub> /l	1.25 mg Cl <sub>2</sub> /l	2.5 mg Cl <sub>2</sub> /l	5 mg Cl <sub>2</sub> /l
15 minutes	+	+	+	+
30 minutes	+	+	-	-
60 minutes	+	+	-	-
120 minutes	+	+	-	-

Tableau 3: Efficacité de la monochloramine sur les *Sphaerotilus natans*  
(+: présence, -: absence)

Dans le cas du chlore libre et de la monochloramine, la concentration en désinfectant, exprimée en Cl<sub>2</sub>, doit être au moins de 2.5 mg/l et le temps de contact d'au moins 30 minutes pour éviter le développement de ces bactéries.

### 6.2.2. Essais avec les biocides organiques

Ces essais ont pour but de comparer l'efficacité des biocides organiques sur les *Sphaerotilus natans*. Les principales caractéristiques des produits commerciaux testés sont reprises au tableau 4.

Composition	Concentration active (%)	pH	Densité
Méthylène bis thiocyanate	10	4 à 5	0.99
2(thiocyanméthylthio)-benzothiazole	30	3 à 5	1.09
Ethylène bis dithiocarbamate de sodium et diméthyl dithio carbamate de sodium	30	10 à 11	1.16
Tétrahydro 3, 5 diméthyl-2H-1,3,5-thiadiazine 2 -thione	24	> 12	1.14
Isothiazolone	1	3.2 à 4.2	1.09
Ammonium quaternaire (C10)	25	7.3 à 8.3	0.96
Ammonium quaternaire (C16)	33	7.3 à 8.3	0.97

Tableau 4: Principales caractéristiques des biocides organiques utilisés

Les tableaux 5 et 6 reprennent les résultats des essais avec 100 et 200 mg de produit commercial/l.

Composition	15 minutes	30 minutes	60 minutes
Méthylène bis thiocyanate	++	++	++
2(thiocyanméthylthio)-benzothiazole	+++	++	++
Ethylène bis dithiocarbamate de sodium et diméthyl dithio carbamate de sodium	+++	++	++
Tétrahydro 3, 5 diméthyl-2H-1,3,5-thiadiazine 2 -thione	++	++	++
Isothiazolone	++	++	++
Ammonium quaternaire (C10)	-	-	-
Ammonium quaternaire (C16)	+	+	+

*Tableau 5: Efficacité des biocides organiques à 100 mg de produit commercial/l*

Composition	15 minutes	30 minutes	60 minutes
Méthylène bis thiocyanate	-	-	-
2(thiocyanméthylthio)-benzothiazole	+	+	-
Ethylène bis dithiocarbamate de sodium et diméthyl dithio carbamate de sodium	+	+	-
Tétrahydro 3, 5 diméthyl-2H-1,3,5-thiadiazine 2 -thione	+	+	-
Isothiazolone	++	++	+
Ammonium quaternaire (C10)	-	-	-
Ammonium quaternaire (C16)	-	-	-

*Tableau 6: Efficacité des biocides organiques à 200 mg de produit commercial/l*

La légende retenue est la suivante: - : culture négative  
 +: 1 à 10 colonies/ml  
 ++: 10 à 100 colonies/ml  
 +++: plus de 100 colonies/ml

Dans tous les cas de figure, l'utilisation de biocides organiques nécessite des concentrations importantes pour obtenir, pour un même temps de contact, une efficacité comparable à celle du chlore ou de la monochloramine.

### VI.2.3. Irradiation UV

La lampe UV utilisée pour les tests possède les caractéristiques suivantes:

- longueur d'onde: 254 nm
- puissance: 6 W
- pénétration: 0.5 cm

Les résultats des essais d'irradiation UV sont repris au tableau 7.

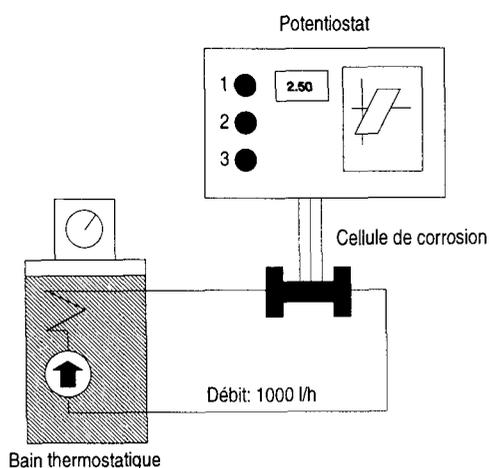
Durée de l'irradiation	Croissance
30''	oui
60''	oui
90''	oui
120''	oui
150''	non
180''	non

*Tableau 7: Résultats des essais d'irradiation UV*

Dans les conditions des essais, il apparaît que l'irradiation UV doit être au moins de 150 secondes pour assurer une stérilisation du milieu. Une telle durée est incompatible avec un traitement en ligne du circuit.

### VI.3. Vitesse de corrosion de l'acier au carbone en présence de *Sphaerotilus natans*

Des mesures de la corrosion ont été réalisées en laboratoire. La figure 2 donne le schéma de l'installation utilisée à cette fin.



*Figure 2: Schéma de l'installation de mesure de la corrosion*

La figure 3 fournit quelques résultats des essais comparatifs.

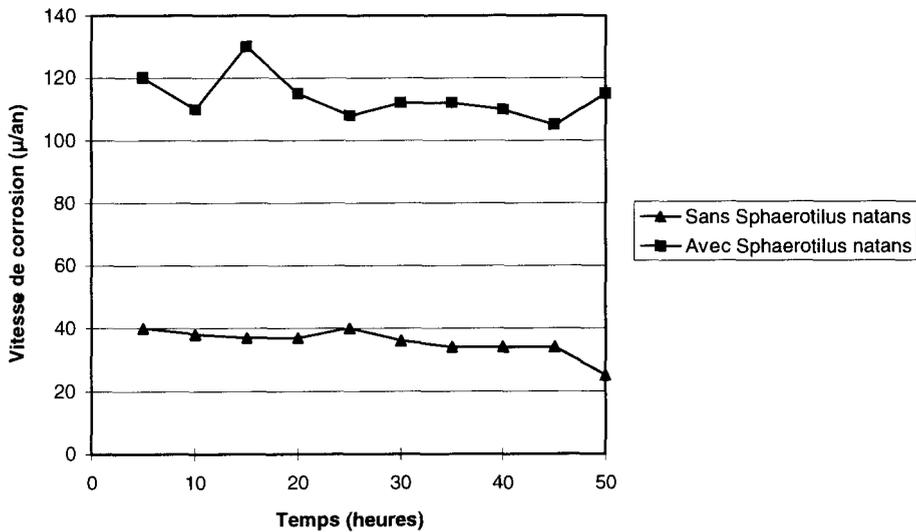


Figure 3: Evolution de la vitesse de corrosion de l'acier au carbone avec et sans *Sphaerotilus natans* (25 °C - pH 8 - Saturation en oxygène)

En présence de ce type de bactéries, la vitesse de corrosion de l'acier au carbone est trois fois plus élevée. Cependant, la corrosion n'est pas uniforme. Généralement, un tiers seulement de la surface est attaquée. Ceci signifie que localement, la vitesse de corrosion pourrait être de 9 à 10 fois plus importante.

## VII. Applications industrielles

La figure 1 reprend le schéma de principe du circuit de réfrigération de la centrale ELECTRABEL de BAUDOUR. Les divers points d'échantillonnage ainsi que les endroits d'injection d'eau de JAVEL et d'ozone ont été indiqués. Les expérimentations réalisées à l'échelle industrielle ont pour objet de comparer l'efficacité du chlore et de l'ozone dans des conditions réelles d'exploitation. C'est uniquement pour des raisons d'implantation que l'injection de chlore n'a pu être située au même endroit que l'injection d'ozone. L'échantillon "labo" représente le point le plus éloigné de l'installation. Il fournit une idée précise de la qualité du rejet.

### VII.1. Suivi de l'injection de chlore

Le chlore est injecté à raison de 5 mg/l. Le but du conditionnement étant de maintenir en fin de circuit une concentration de 2.5 mg Cl<sub>2</sub> libre/l.

Le tableau 8 reprend les principaux résultats moyens des mesures effectuées au cours d'une période d'essais de deux mois.

	Avant chloration	Echantillon "labo"
Chlore libre résiduel (mg/l)	0	2.45
pH à 25 °C	6.82	6.85
Carbone organique total dissous (mg C/l)	2.60	4.45
Organo-halogénés adsorbables (µg Cl/l)	70	256
Flore totale (germes/ml)	1260	0
Corrosion acier (µ/an)	N.D.	15
Corrosion laiton (µ/an)	N.D.	33

*Tableau 8: Résultats moyens de la campagne "chlore"*

Quelques conclusions importantes se dégagent des résultats :

1. L'augmentation en organo-halogénés adsorbables (AOX) est de l'ordre de 350 %. Dans le cas fort probable où les AOX deviendront, dans les années à venir, un paramètre d'environnement; de tels niveaux de concentration risquent de se situer largement au-dessus des normes de rejet.
2. L'injection de chlore telle que réalisée maîtrise totalement la croissance bactérienne.
3. L'augmentation en carbone organique total dissous (DOC) est de l'ordre de 150 %, elle s'explique par la dégradation des slimes de *Sphaerotilus natans*.
4. Les vitesses de corrosion de l'acier au carbone et du laiton restent faibles. On observe cependant que la corrosion de l'acier n'est pas uniforme.
- 5.

## VII.2. Suivi de l'injection d'ozone

Lors de la première mise en service de l'injection d'ozone, est apparue la nécessité de suivre les principaux paramètres destinés à mesurer l'efficacité du traitement en plusieurs points de l'installation. En effet, contrairement au chlore, les concentrations en ozone injecté sont relativement faibles, de l'ordre de dix fois plus faibles (0.4 mg O<sub>3</sub>/l).

L'ozone est produit directement à partir d'oxygène gazeux. Il est injecté dans le circuit principal grâce à un éjecteur.

La figure 4 fournit le schéma de principe de l'injection d'ozone.

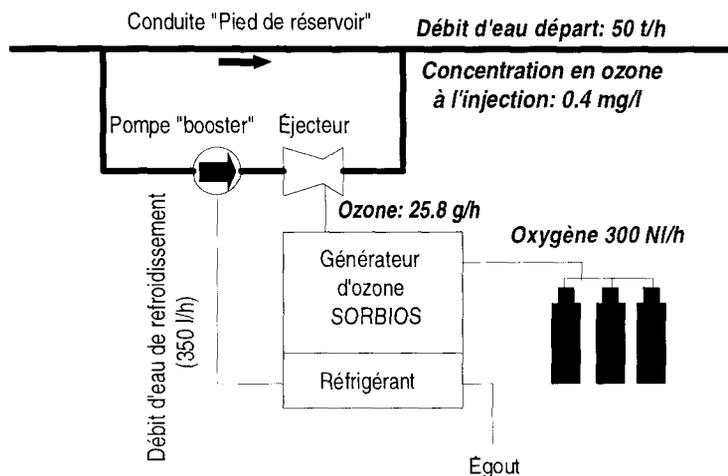


Figure 4: Schéma de principe de la production et de l'injection d'ozone

Le tableau 9 fournit les résultats moyens des déterminations réalisées lors d'une campagne d'essais de deux mois.

	Avant ozone	Echantillon "barillet A"	Echantillon "labo"
Ozone (mg/l)	0	0.124	0.023
pH à 25 °C	6.84	7.00	6.89
Carbone organique total dissous (mg C/l)	1.74	1.80	1.90
Organo-halogénés adsorbables (µg Cl/l)	67.6	42.5	41.4
Flore totale (germes/ml)	1205	120	570
Corrosion acier (µ/an)	N.D.	N.D.	33
Corrosion laiton (µ/an)	N.D.	N.D.	52

Tableau 9: Résultats moyens de la campagne d'injection d'ozone

La consommation d'oxygène varie entre 250 et 300 NI/h. Le rendement en poids est de 6 %. Les consommations énergétiques horaires, correspondant à des injections de 0.3 et 0.4 mg O<sub>3</sub>/l, sont respectivement de 1.4 kWh et de 1.7 kWh. Cette consommation couvre la génération d'ozone et l'alimentation de la pompe "booster". La production d'un gramme d'ozone nécessite de l'ordre de 20 Wh.

Tous ces résultats sont supérieurs à ce que les constructeurs d'ozoneurs avancent généralement. Ceci peut s'expliquer par le fait que le générateur d'ozone utilisé n'est pas un appareil industriel. Les installations industrielles permettent d'atteindre des rendements en poids de l'ordre de 10 %. Et la consommation énergétique du générateur est d'environ 10 Wh/g O<sub>3</sub>.

Les résultats repris au tableau 9 permettent de tirer un ensemble de conclusions importantes:

1. L'ozone injecté en continu à une concentration de 0.4 mg/l permet de maintenir la propreté du circuit et d'éviter les problèmes d'exploitation.
2. L'ozone diminue d'environ 30 % la concentration en organo-halogénés adsorbables.
3. Comme dans le cas de l'injection de chlore, le DOC est légèrement plus élevé après l'injection d'ozone.
4. Les vitesses de corrosion de l'acier au carbone et du laiton sont légèrement plus élevées que lors de l'essai d'injection de chlore.
5. Au niveau de l'exploitation, aucune salissure ni colmatage n'ont été observés. Les exploitants considèrent le conditionnement à l'ozone plus sécurisant que le traitement au chlore.

### VIII. Conclusions

Les *Sphaerotilus natans* sont des ferrobactéries qui oxydent les sels de fer et de manganèse bivalents. En présence de calcium et avec des concentrations en oxygène de l'ordre de 5 mg/l, elles forment des gaines conduisant rapidement à la formation de slimes. Ces slimes peuvent atteindre rapidement des épaisseurs de plusieurs centimètres et colmater les échangeurs, les filtres, ...

Ces bactéries corrodent également l'acier au carbone. Lorsqu'elles sont présentes dans le milieu, la vitesse de corrosion localisée de l'acier au carbone est de l'ordre de 10 fois plus élevée.

Les biocides oxydants chlorés comme la monochloramine ou l'hypochlorite de sodium permettent de contrôler efficacement la croissance des *Sphaerotilus natans*.

Les biocides organiques sont nettement moins efficaces.

Industriellement, l'ozone donne de bons résultats à très faible concentration.

### Bibliographie

- [1] Norman C. DONDERO  
"The *Sphaerotilus-Leptothrix* group"  
Ann. Rev. Microbiol., 1975, vol. 29, p 408-427
- [2] BERGEY  
"Manual of Determinative Bacteriology", Ninth Edition  
Williams and Wilkins Editors, 1993
- [3] L.DUVIVIER, J. BRIQUET, R. VAN MAELE  
"Centrale de BAUDOUR - Circuit des puits artésiens - Présence de bactéries du type *Sphaerotilus natans*"  
Rapport interne LABORELEC n° C03/12064 du 30/3/92

- [4] DUVIVER, P. DEJONCKHEERE  
“Centrale de BAUDOUR - Utilisation de l’ozone pour le conditionnement du circuit de réfrigération auxiliaire”  
Rapport interne LABORELEC n° C03-200-94-034/LDU du 29/8/94
  
- [5] STOKES, M.A. ROUF  
Arch. Mikrobiol. 49 : 132-149 (1964)
  
- [6] OLSEN, W. SZYBALSKI  
Acta Chem. Scand. 3 : 1094-1105 (1949)
  
- [7] OLSEN, W. SZYBALSKI  
*Ibid*, 1106-1116
  
- [8] CHANTERAU  
“Corrosion bactérienne-Bactéries de la corrosion”  
Technique et Documentation, 1980



## Chapitre 20

### Étude de cas de corrosion bactérienne dans les industries nucléaires

Didier NOËL

**Résumé.** De nombreuses avaries survenues dans l'industrie nucléaire aux États-Unis ont été attribuées à la corrosion bactérienne. Les matériels concernés sont des systèmes de servitude ou de transport d'eau brute, des échangeurs de chaleur, circuits anti-incendie, déminéraliseurs, condenseurs. Les matériaux concernés sont variables : aciers inoxydables AISI 304 ou 316, aciers au carbone, alliages cupronickel. Les attaques se produisent en général sur les soudures et surviennent lorsque le matériel est soumis à de longues périodes, intermittentes ou non, de maintien en eau stagnante ou quasi-stagnante. La deuxième partie présente des cas de corrosion bactérienne qui se sont produits en France dans les circuits auxiliaires d'une centrale nucléaire ainsi que les études qui ont été effectuées à cette occasion. Les différentes expertises effectuées à l'époque des incidents avaient abouti à envisager l'hypothèse d'une corrosion accélérée par la présence de bactéries. Afin d'évaluer le bien fondé de cette hypothèse, une boucle de corrosion a été réalisée pour comparer le comportement de 2 circuits identiques en acier inoxydable Z2 CN 18-10, l'un alimenté en eau brute de la Moselle, l'autre avec cette même eau rendue stérile. Après un an d'essai, une corrosion plus importante, par piqûres ou crevasses, apparaît dans le circuit contenant l'eau brute. Elle affecte exclusivement les zones soudées. La morphologie des piqûres (attaque sélective par endroits de la ferrite) obtenues uniquement en milieu non stérile, et leur étendue, paraissent signer une influence bactérienne. Les mesures électrochimiques ont par ailleurs mis en évidence une différence de comportement entre milieu stérile et non stérile. Le rôle néfaste des bactéries ne semble pas impliquer directement l'action de bactéries sulfato-réductrices, et le mécanisme reste à préciser. Cette étude prouve donc que la présence de bactéries peut induire ou accélérer la corrosion par piqûres et n'est pas simplement un phénomène associé indépendant.

#### 1. Introduction

En Amérique du nord, la corrosion bactérienne a été identifiée depuis plusieurs années dans les installations de servitude des centrales nucléaires et semble être un sujet de préoccupation non négligeable. En France, la corrosion bactérienne dans les centrales nucléaires est une question posée depuis plusieurs années, pour certains équipements de servitude alimentés en eau brute et qui affectent les parties classiques de ces centrales. Ce chapitre présente ces cas de corrosion, et pour lequel l'expertise menée à l'époque avait évoqué, sans conclure, la possibilité d'une corrosion assistée par les bactéries. Pour trancher, une étude analytique sur boucles d'essai a été effectuée. Les résultats, résumés plus loin, ont permis d'identifier l'action néfaste des bactéries.

#### 2. Corrosion dans l'industrie nucléaire hors de France

Hors de France, la corrosion bactérienne fait l'objet d'une préoccupation particulière en Amérique du nord depuis environ 10 ans, et les autorités de sûreté de ce pays ont attiré l'attention sur la nécessité de lutter contre ce phénomène. Les matériels concernés sont

diverses installations des centrales qui ne présentent pas de lien particulier avec l'aspect nucléaire : systèmes de servitude ou de transports d'eau brute, échangeurs de chaleur, circuits anti-incendie, déminéraliseurs, condenseurs. Les matériaux concernés sont également très variables : aciers inoxydables AISI 304 ou 316, aciers au carbone, alliages cupronickel. Les attaques se produisent presque toujours sur les soudures et surviennent lorsque le matériel est soumis à de longues périodes, intermittentes ou non, de maintien en eau stagnante ou quasi-stagnante. Le tableau I résume quelques uns des cas identifiés.

Pour les aciers au carbone, la cause de la défaillance est généralement un percement par piqûre ou une obstruction partielle des tuyauteries. L'obstruction est due à la formation de dépôts épais et peu denses (jusqu'au dixième de la densité du métal de base). Les dépôts sont généralement composés de produits de corrosions (hydrates ferriques) et d'un mélange de produits organiques issus de l'activité bactérienne. On y trouve souvent du soufre (quelques pour cent), sous forme de sulfate ou de sulfure. Lorsque les bactéries sont identifiées, on trouve fréquemment des bactéries sulfato-réductrices.

Les alliages cupronickel sont percés par des piqûres qui n'affectent pas spécialement les zones soudées. Ces cas ont été attribués à la corrosion bactérienne, mais les éléments de preuve ne sont, à notre avis, pas suffisants. Les bactéries identifiées dans ce dépôt sans que les bactéries sulfato-réductrices.

Les aciers inoxydables sont percés par piqûres, toujours dans les zones de soudure. Le métal d'apport est toujours corrodé et plus rarement le métal de base dans la zone affectée thermiquement. La piqûre est généralement étroite en surface et plus développée sous la surface. Elle peut attaquer sélectivement l'austénite ou la ferrite. Les bactéries identifiées dans les dépôts sont selon les cas des pseudomonas, gallionelles, bactéries sulfato-réductrices ou ferro-oxydantes.

Les remèdes adoptés pour lutter contre ces phénomènes sont variés (Tableau I). Pour les aciers au carbone, le simple enlèvement des dépôts associé à un traitement bactéricide de l'eau ne suffit pas, et les phénomènes reprennent souvent rapidement. Pour les autres remèdes indiqués dans le tableau I, il est difficile de juger de leur efficacité réelle, compte tenu du temps d'incubation parfois long et de l'imprécision des données disponibles.

Si nombres d'études ou de rapports sur des cas de corrosion évoquent l'influence des bactéries, il est généralement très difficile d'obtenir la preuve formelle que la corrosion est bien due à leur présence. La conclusion est généralement étayée par le fait que les zones soudées sont attaquées, ou par des caractéristiques morphologiques (forme des piqûres, attaque sélective) ou encore par la présence de bactéries dans les dépôts ou dans l'eau. La plupart du temps, le rôle réel des bactéries n'est pas démontré. L'étude présentée ci-après présente un cas où on a démontré que les bactéries ont un rôle néfaste.

### **3. Cas de corrosion rapide à la centrale de Cattenom**

La centrale de Cattenom a connu des percements rapides, par corrosion, de différents circuits en acier inoxydable Z2 CN18-10 remplis avec de l'eau brute de la Moselle. Les tuyauteries affectées par la corrosion localisée sont situées principalement sur les circuits incendie de l'îlot nucléaire (JPI) et de traitement des effluents des réservoirs de santé (TER). Ces deux

circuits sont réalisés en acier inoxydable Z2 CN 18-10. Ils sont composés de tronçons droits de tubes roulés-soudés et de coudes faits de deux demi-coquilles soudées. Les circuits sont assemblés par des soudures TIG avec métal d'apport.

**Tableau I.** Résumé de quelques cas de corrosion survenus dans l'industrie nucléaire.

Composant	Matériau	Milieu	Durée de service (ans)	Forme de corrosion	Remède
Systèmes de servitude	acier au carbone	eau de rivière	8	généralisée, obstruction partielle	revêtement en ciment, passage à l'acier 316
Échangeur de chaleur	acier au carbone	eau de rivière	10	généralisée, obstruction partielle	acier inoxydable
Circuit incendie	acier au carbone	eau de rivière	10	généralisée, obstruction partielle	acier inoxydable
Circuit incendie	acier au carbone	eau de réservoir	-	perçement par piqûres	pH < 10,5 biocide non oxydant
Échangeur circuit de stator	cupronickel (90-10)	eau de rivière décantée	pré-service	perçement par piqûres	traitement HC10 10 min 2 fois par jour
Réservoir, tuyaux d'aspersion	304-316	eau de réservoir	-	perçement par piqûres, attaque de l'austénite	pH < 10
Réservoir de refroidissement	304	eau de lac artificiel, bactéries ferro-oxydantes et sulfato-réductrice	-	perçement par piqûres, attaque de la ferrite	flux périodique, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10 ppm) mesures inefficaces
Réseau de déminéralisation	304	eau de source 80 °C	1,5	perçement par piqûres, attaque de la ferrite	flux périodique avec eau + ozone, pH > 10,5

Sur le circuit JPI, les premiers signes de corrosion sont apparus au droit ou au voisinage de plusieurs soudures du circuit un an après leur mise en eau. Le percement de la paroi de tuyauteries horizontales a nécessité leur remplacement. Deux ans plus tard, la présence de piqûres traversantes a de nouveau été observée au voisinage des soudures de raccordement des tronçons de nouvelles tuyauteries.

Les tuyauteries du circuit TER sont normalement conservées vides en service. Lors d'essais initiaux, le circuit est rempli d'eau brute puis vidangé, mais des zones horizontales sont susceptibles de permettre une rétention d'eau stagnante. Un an après ces essais, plusieurs soudures horizontales étaient percées.

Les différentes expertises effectuées sur ces circuits ont montré que :

- Les corrosions sont localisées dans la plupart des cas au droit du métal d'apport ou au voisinage des soudures circonférentielles (figure 1).
- Le principal mécanisme semble être une corrosion par piqûres en milieu chloruré stagnant. Cette forme de corrosion est obtenue après mise en eau brute pour des épreuves hydrauliques

ou en service après perte du conditionnement en eau phosphatée du circuit par des soutirages d'eau intempestifs. L'analyse de dépôts de corrosion au droit des piqûres a indiqué des teneurs élevées en fluorures + acétates (1000 ppm) et en sulfates (38 000 ppm), et faibles en chlorures (120 ppm). Cette composition ne reflète pas celle de l'eau brute (Moselle) qui contient environ 300 à 500 ppm de chlorure, 100 ppm de sulfate et moins de 1 ppm de fluorures. Il y a donc eu un mécanisme de concentration sélectif. Par ailleurs, une corrosion sélective a été identifiée dans le fond des piqûres : l'austénite est attaquée et la ferrite apparaît "en nid d'abeille". Une corrosion sélective de la ferrite paraît s'être produite aussi dans quelques cas.

Une de ces expertises a également mis en évidence la présence de bactéries sulfato-réductrices dans des dépôts recueillis notamment à l'intérieur du circuit JPI. Cela, joint au fait que la corrosion s'est produite dans ou au voisinage des soudures, a conduit à envisager l'hypothèse que des bactéries ont pu contribuer à l'initiation et l'accélération des phénomènes observés. Afin de vérifier ce point, des essais sur une boucle alimentée en eau de la Moselle ont finalement été entrepris.



**Figure 1.** Piqûre observée sur le circuit JPI de Cattenom.

## **4. Conditions expérimentales**

### **4.1. Réalisation de la boucle**

L'objectif était d'étudier l'effet de la présence de bactéries sur le comportement à la corrosion par piqûres des soudures en acier inoxydable Z2 CN18-10 dans l'eau de la Moselle. Les conditions retenues visent à simuler la stagnation et le renouvellement partiel d'eau brute.

Dans ce but, EDF a fait concevoir et réaliser une boucle d'essai par l'IRH de Nancy, avec l'aide du CEBELCOR. La boucle comprend deux circuits identiques et indépendants. L'un était rempli d'eau brute, l'autre de cette même eau rendue stérile. Les circuits sont en acier Z2 CN18-10 d'épaisseur 1,5 à 2 mm et ont un volume intérieur de 30 l, rempli de 20 l d'eau. La figure 2 montre une vue d'ensemble de la boucle d'essai installée à l'IRH. Les soudures ont été réalisées par procédé TIG sous argon et avec métal d'apport. Une partie des éléments de la boucle ont été laissés bruts de soudage, d'autres ont été décupés et passivés à l'aide d'une pâte HF (5 %) et  $\text{HNO}_3$  (22 %) puis rincées.

Tous les éléments de base du circuit stérile ont été stérilisés avant montage, soit par stérilisation en chaleur sèche (4 heures à 180°C), soit par tyndallisation, (3 cycles successifs comprenant chacun une montée en température de 12 heures jusqu'à 60 ou 80 °C et un refroidissement lent pendant environ 24 heures). Le circuit stérile a été assemblé sous atmosphère stérile, puis stérilisé après montage par une solution d'eau de formaldéhyde. L'absence de bactéries et de formaldéhyde dans la dernière eau de rinçage a été vérifiée.

#### 4.2. Conditions expérimentales

Les essais ont duré environ 300 jours. Ils étaient constitués de 6 cycles successifs comportant le remplissage initial ou l'appoint en eau, une circulation pendant une heure puis une période de stagnation d'un mois. Dans les deux circuits, une zone est restée fermée par des vannes et l'eau n'a pas été renouvelée pendant la totalité des essais. Après 6 cycles, les deux circuits ont été maintenus en eau stagnante, sans renouvellement d'eau, pendant une durée complémentaire d'environ 4 mois (110 jours).

Le remplissage initial des circuits et les appoints ont été effectués avec de l'eau de la Moselle, brute ou stérilisée. L'eau d'appoint se caractérise par un pH légèrement alcalin (7,5-7,9), et une teneur importante en chlorures (de 300 à 500 ppm), en sulfates (env. 100 ppm) et carbonates (env. 100 ppm). Il y a peu de nitrates (de 5 à 20 ppm) et moins de 1 ppm de fluorures. Les principaux cations sont le calcium et le sodium.

Les analyses bactériologiques effectuées par IRH ont permis de compter les bactéries aérobies, anaérobies, sulfato-réductrices, et de distinguer les bactéries totales (bactéries mortes ou incubation dans un milieu de culture spécifique), par comptage statistique à l'aide d'un microscope optique équipé d'un éclairage à épifluorescence. Le potentiel de corrosion de la boucle a été mesuré en seize points à l'aide d'électrodes de référence (15 sur le circuit non stérile, 1 sur le circuit stérile). Les électrodes de référence étaient de type Ag/AgCl, soit saturé, soit avec une activité en chlorure fixée par l'eau de la Moselle. Les résultats sont indiqués avec correction de potentiel.

### 5. Résultats

#### 5.1. Milieux d'essai

Pour le circuit non stérile, les bactéries actives représentent quelques pour cent du total. Les bactéries aérobies sont prédominantes et ne se développent peu ou pas en cours d'essai. Les bactéries anaérobies croissent modérément. Les bactéries sulfato-réductrices (BSR) sont présentes dans l'eau d'appoint, mais *n'apparaissent dans les prélèvements sur le circuit*

qu'après les 3 premiers cycles d'essai et leur nombre montre qu'elles ne se sont pas développées. On note également l'apport de ferro-bactéries à partir du 3<sup>ème</sup> cycle de l'essai. Le biofilm formé sur des plaquettes en acier en l'état brut et passivé placées dans le circuit non stérile a été analysé périodiquement. Il est présent dès le premier cycle, paraît peu évoluer ensuite, et ne contient pas ou très peu de bactéries sulfato-réductrices : 0 par cm<sup>2</sup> initialement, 1 à 3 par cm<sup>2</sup> au delà du premier cycle. Il paraît donc difficile de leur imputer les phénomènes de corrosion.

Les analyses de l'eau du circuit stérile ont démontré le maintien de la stérilité, et les analyses chimiques de l'eau des circuits (Tableau II) ont montré que :

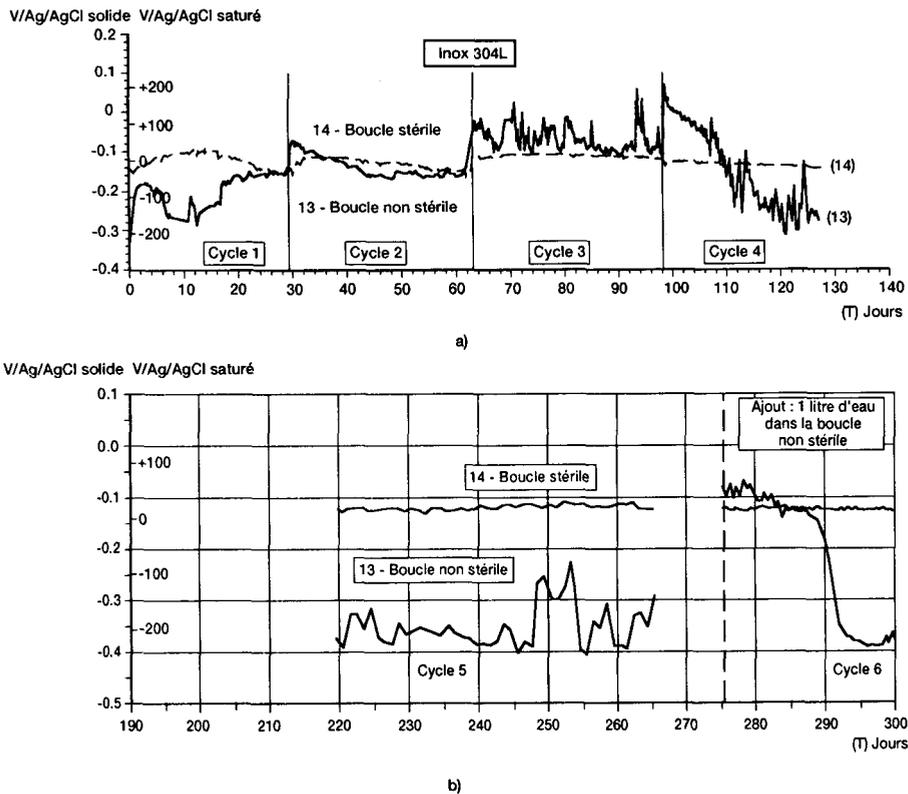
- le pH de l'eau varie généralement peu par rapport à sa valeur initiale.
- la concentration en nitrates, nitrites, et phosphates diminue dès le premier cycle dans le milieu non stérile, mais pas en milieu stérile. Cette baisse est généralement corrélée à l'activité des bactéries anaérobies.
- Le milieu non stérile présente une croissance modérée de la teneur en fer à partir du 3<sup>ème</sup> cycle et importante de la teneur en nickel dès le 2<sup>ème</sup> cycle, ce qui traduit la présence d'une corrosion. Ceci n'apparaît pas en milieu stérile.
- l'eau du milieu stérile ne contient pas d'hydrogène sulfuré. L'eau du milieu non stérile en contient, mais uniquement dans une zone fermée laissée stagnante du début à la fin de l'essai. Une odeur forte d'hydrogène sulfuré a d'ailleurs été détectée au démontage, et ceci est l'indice d'une activité bactérienne du type sulfato-réductrice. Dans l'eau renouvelée et corrélativement à la non production de H<sub>2</sub>S, on ne remarque pas de variation significative de la quantité de sulfates.

**Tableau II.** Mesures de pH et analyses en fin d'essais.

Circuit repère	Nature du prélèvement	Valeur du pH	Teneur en O <sub>2</sub> (mg/l)	Teneur en HS <sup>-</sup> (mg/l)
stérile (S)	valeur initiale	7,7 à 8,0	-	-
	eau stagnante	6,84	-	0
	eau renouvelée	7,05	5	0
non stérile (NS)	valeur initiale	7,6 à 7,9	-	-
	eau stagnante	6,68	-	3,2
	eau renouvelée	7,45	1,9	0

## 5.2. Évolution des potentiels électrochimiques

La figure 2 permet de comparer les mesures obtenues en des point équivalents sur les circuits stériles et non stériles. En milieu non stérile, on constate des variations de potentiel liées tout d'abord aux conditions d'aération du milieu (figure 2). Le potentiel augmente lors des appoints d'eau aérée, et décroît au cours de chaque cycle, vraisemblablement par consommation de l'oxygène disponible.



**Figure 2.** Comparaison des potentiels mesurés sur les circuits stérile et non stérile. a) cycles 1 à 4, b) cycles 5 et 6.

Le potentiel du circuit stérile est stable, contrairement à celui du circuit non stérile. Ce potentiel est par ailleurs nettement plus élevé après le quatrième cycle que dans le circuit non stérile. L'absence de bactéries se traduit donc par un effet électrochimique net. Les différences de teneur en oxygène des deux milieux ne peuvent en effet expliquer cette différence de comportement.

### 5.3. Expertise finale des circuits

#### 5.3.1. Circuit non stérile

En fin d'essai, une corrosion traversante identifiée par une tache de rouille externe apparaît sur le circuit non stérile au droit d'une soudure. Elle correspond à trois piqûres initiées en peau interne. Les piqûres sont profondes et affectent le métal sur une zone bien plus étendue que l'ouverture visible en surface (figure 3). La corrosion est localisée dans la soudure et

paraît s'être initiée dans une zone proche de la liaison avec le métal de base. En fond de piqûre, la corrosion se propage sélectivement le long des dendrites de ferrites. Près de la surface, la corrosion s'étend à l'austénite et n'est plus sélective.



a)



b)

**Figure 3.** Piqûre observée au droit d'une soudure, a)  $\times 16$ , b)  $\times 100$  (détail).

Deux autres corrosions importantes affectent la soudure de raccordement d'une bride (figure 4), dans la partie externe d'une zone en contact avec une autre bride. Il ne s'agit pas de corrosion caverneuse mais plusieurs éléments ne concordent pas : elle est initiée sur la partie externe de la zone de contact des deux brides et non à l'intérieur, il y a attaque ramifiée et sélective de l'austénite (et non de la ferrite) en fond du défaut. La profondeur maximale des crevasses est de l'ordre de quelques millimètres. Enfin et surtout, la corrosion la plus



c)

**Figure 3 (suite).** Piqûre observée au droit d'une soudure, c)  $\times 200$  (attaque sélective de la ferrite).

importante (figure 4) est surmontée d'un chancre coloré qui présente en coupe un aspect stratifié. La partie externe est de couleur rouille, une strate intermédiaire présente une couleur noire, et la couche interne au contact direct de la crevasse est un mélange de marron et de vert. La composition chimique du chancre est indiquée dans le tableau III. On observe, par comparaison avec la teneur moyenne de l'eau brute, une forte concentration en nitrates et en fluorures ou acétates\* qui ne peut être due à une simple concentration de l'eau brute par assèchement : les chlorures et sulfates devraient en effet être concentrés en proportion, ce qui n'est pas le cas. Il y a bien donc eu, comme à Cattenom, un mécanisme de concentration sélective de certains ions, probablement par activité bactérienne spécifique.

**Tableau III.** Composition chimique (ppm) du tubercule de corrosion formé sur la soudure de la bride NB3. Analyse par chromatographie ionique.

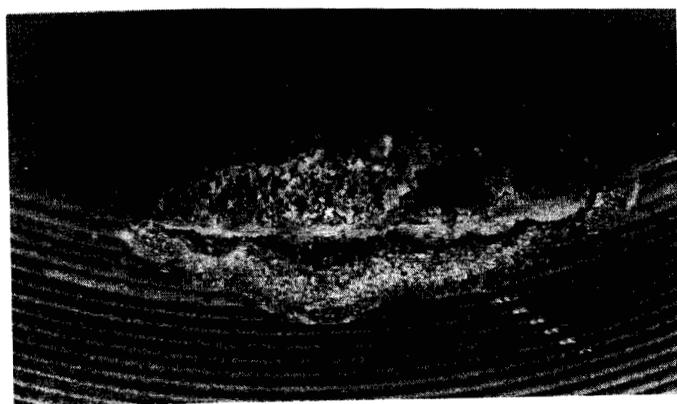
	F ou acétates*		Cl	NO <sub>3</sub>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
Tubercule	610	8500	1910	405	330
Eau de la Moselle (teneur moyenne)	< 1	-	environ 450	5-20	environ 100

À l'ouverture de la partie stagnante du circuit, s'échappe une forte odeur d'hydrogène sulfuré. Les pièces métalliques sont recouvertes d'un dépôt noir, couleur des sulfures de fer et de nickel. Aucune corrosion notable n'est identifiée.

\* La technique d'analyse, par chromatographie ionique, ne permettait pas de distinguer fluorures et acétates.



a)



b)

Figure 4. Corrosion observée sur la soudure d'une bride de raccordement, a)  $\times 0,7$  (vue générale), b)  $\times 3,5$  (détail d'une pustule).

Enfin, une différence remarquable d'aspect apparaît dans le circuit entre les deux états de surface. Les surfaces *brutes de soudage* sont recouvertes d'un dépôt gélatineux de couleur rouille d'épaisseur 1 mm environ. Par contre, celles des tubulures *décapées et passivées* présentent un aspect métallique mat. Le biofilm se développe donc très différemment selon l'état de surface initial.

### 5.3.2. Circuit stérile

Le circuit est propre et ne présente pas de voile biologique. La seule corrosion observée est une piqûre sur les cordons de soudure inférieurs de l'élément. La corrosion s'est amorcée au droit d'un défaut de soudure apparaissant sous forme d'une sphérule et ne présente pas l'aspect caractéristique d'une piqûre. L'attaque reste localisée au pourtour de ce défaut, n'est pas sélective et paraît donc très spécifique à ce défaut de soudage.

L'ouverture du défaut en surface préexistait, créant par cet interstice les conditions favorables à une corrosion cavernreuse. Aucune corrosion n'a été observée dans la partie isolée et stagnante du circuit.

## 6. Discussion

L'ensemble de cette étude permet de dégager un certain nombre d'éléments qui tendent à prouver que la présence de bactéries n'est pas neutre pour la corrosion :

- \* le comportement électrochimique en milieu non stérile n'est pas le même qu'en milieu stérile.
- \* les faciès des piqûres sont très ramifiées et l'attaque est sélective. Or, les piqûres généralement obtenues lors de tests de corrosion par piqûres, électrochimiques ou non, sont toujours de forme compacte et ne présentent pas cet aspect ramifié.
- \* la présence d'une pustule a été observée sur un point de corrosion d'une bride. Elle est durcie en surface, présente une stratification en couleurs (rouille, noir et vert) et une concentration sélective en fluorures et nitrates qui paraît signer une influence bactérienne [6].

Dans le cas de cette étude, il est difficile de trancher sur le mécanisme de l'accélération de la corrosion par les bactéries mais on peut relever que *la corrosion ne semble pas due dans ce cas particulier, à l'activité des bactéries sulfato-réductrices*. Les analyses bactériologiques montrent leur quasi-absence dans la partie non stagnante du circuit, aussi bien dans l'eau que dans le biofilm. Ceci n'a pas empêché la corrosion de se produire. *A contrario*, la partie stagnante a connu une forte colonisation par les bactéries sulfato-réductrices sans produire de corrosion particulière.

## 7. Conclusion

De nombreuses avaries survenues sur des installations nucléaires aux États-Unis ont été attribués à la corrosion bactérienne. Diverses installations des centrales en contact avec des eaux non traitées sont concernées, et les matériaux affectés sont très variables : aciers

inoxydables, aciers au carbone, alliages cupronickel. Il est cependant généralement difficile d'avoir une certitude sur le rôle réel des bactéries dans la plupart des cas concernés.

Une étude détaillée a cependant été entreprise en France, à la suite de défaillance sur des circuits annexes de centrale, pour évaluer l'effet de l'activité des bactéries sur la corrosion de l'acier inoxydable dans des circuits contenant de l'eau brute de rivière. Les essais ont permis de comparer le comportement de 2 circuits identiques en acier inoxydable Z2 CN18-10, l'un alimenté en eau brute de la Moselle, l'autre avec cette même eau rendue stérile. Après environ un an d'essai, l'expertise a mis en évidence une corrosion plus importante dans le circuit contenant l'eau brute. Elle affecte exclusivement les zones soudées, et la morphologie des piqûres obtenues en milieu non stérile (attaque sélective par endroits de la ferrite), leur étendue ainsi que l'identification de concentrations sélectives d'ions particuliers dans un tubercule associé à la corrosion paraît signer une influence bactérienne. Les mesures électrochimiques ont par ailleurs mis en évidence une différence nette de comportement entre milieu stérile et non stérile. Les analyses bactériologiques montrent que l'action de bactéries sulfato-réductrices n'est pas impliquée dans le cas présent. L'ensemble de l'étude confirme donc que la présence de bactéries peut induire ou accélérer la corrosion par piqûres au voisinage des soudures.

Remerciements : Les études en boucle ont été accomplies avec la participation Mme Jourdain et M. d'Ambrosio de l'IRH de Nancy ainsi que M. Pourbaix (Cebelcor) pour les aspects électrochimiques.

## Références

- [1] D'AMBROSIO G., JOURDAIN M.J., "Contribution des phénomènes microbiologiques à la corrosion localisée des aciers inoxydables : application aux tuyauteries & eau brute de la centrale de Cattenom", Rapport de l'Institut de Recherches Hydrologiques de Nancy' RH 92- 162, (1992)
- [2] LICINA G., "Sourcebook for microbiologically influenced corrosion in nuclear power plants", Ed.EPRI, (1988).
- [3] LICINA G., "detection and control of microbiologically influenced corrosion", Ed. EPRI, 1990).
- [4] BORENSTEIN S.W., "Microbiologically influenced corrosion handbook" Industrial Press Incorporated, 1994, Woodhead Publishing.
- [5] SINHA U. P. et al., " Microbially influenced corrosion of stainless steels in nuclear power plants", Congrès Microbially Corrosion and deterioration, Knoxville, USA, 10/07/90.

## ADRESSES DES AUTEURS

**ABOU AKAR A.**

BRGM

Avenue de Concyr  
45060 ORLEANS Cedex 2  
Tél. : 02 38 64 35 59

**AMALHAY M.**

BRGM

Avenue de Concyr  
45060 ORLEANS Cedex 2  
Tél. : 02 38 64 35 59

**BEECH Iwona B.**

University of Portsmouth  
School of Pharmacy -Biomedical Science  
Chemistry-Physics and Radiography  
St Michael's Building, White Swan Road,  
PORTSMOUTH PO1 2DT- UK

**BENAÏSSA Brahim**

STCPMVN

Service électromécanique  
2 boulevard Gambetta  
60206 COMPIEGNE  
Tél. : 03 44 92 60 57  
Fax : 03 44 20 06 75

**BÉRANGER Gérard**

Université de Technologie de Compiègne  
Département de Génie Mécanique  
Centre de Recherches, BP 649  
60206 COMPIEGNE Cedex  
Tél. : 03 44 23 45 34  
Fax : 03 44 20 48 13  
E-mail : gerard.beranger@utc.fr

**COMPÈRE Chantal**

IFREMER

Laboratoire Matériaux Marins  
BP 70  
29280 PLOUZANE  
Tél. : 02 98 22 41 74  
Fax : 02 98 22 45 35  
E-mail : Chantal.Compere@ifremer.fr

**CORDONNIER Jean**

CIRSEE

Lyonnaise de Eaux  
Avenue du Président Wilson  
78230 LE PECQ  
Tél. : 01 34 80 23 71  
Fax : 01 34 80 09 01

**COTICHE C.**

BRGM

Avenue de Concyr  
45060 ORLEANS Cedex 2  
Tél. : 02 38 64 35 59

**CROLET Jean-Louis**

ELF AQUITAINE

Avenue Larribau  
64018 PAU Cedex  
Tél. : 05 59 83 45 59  
Fax : 05 59 83 69 56  
E-mail : crolet/pau@elf-p.fr

**DESLOUIS Claude**

Université P. et M. CURIE  
UPR 15 du CNRS « Physique des liquides  
et électrochimie »  
T 22 - 5ème étage, 4-place Jussieu  
75252 PARIS Cedex 05

**DEVILLE Jean-Paul**

Institut de Physique et chimie  
23 rue de Loess  
67037 STRASBOURG  
Tél. : 03 88 10 70 99  
Fax : 03 88 10 72 48  
E-mail : jeanpaul@gsi.u-strasbg.fr

**DUVIVIER Léon Gérard**

LABORELEC  
Eaux de réfrigération et effluents liquides  
Rue de Rhode, 125  
B-1630 LINKEBEEK - Belgique  
Tél. : 00 32 2 382 04 29  
Fax : 00 32 2 382 02 41

**DEJONCKHEERE Pierre**

ELECTRABEL  
Conduite de la centrale électrique de  
Baudour  
Rue d'hautroye, 87  
B-7331 BAUDOUR - Belgique  
Tél. : 00 32 2 65 375 231  
Fax : 00 32 2 65 64 23 07

**FÉRON Damien**

CEA  
LPCC, BP 6  
92265 FONTENAY AUX ROSES Cedex  
Tél. : 01 46 54 77 67  
Fax : 01 46 54 88 51

**FESTY Dominique**

IFREMER  
Laboratoire Matériaux  
BP 70  
29280 PLOUZANE  
Tél. : 02 98 22 41 52  
Fax : 02 98 22 45 35  
E-mail : dfesty@ifremer.fr

**FLEMMING Hans-Curt**

Lehrstuhl für Wassergüte  
und Abfallwirtschaft der TU München  
Am Coulombwall  
D-80748 Garching  
Tel. : 00 89 3209 3708  
Fax : 00 89 3209 3718

**GAYLARDEL Christine**

University of Portsmouth  
School of Pharmacy -Biomedical Science  
Chemistry-Physics and Radiography  
St Michael's Building, White Swan Road,  
PORTSMOUTH PO1 2DT- UK

**GOUDIAKAS Jean**

ELF ATOCHEM  
C.R.D.E  
BP 61005  
57501 SAINT-AVOLD  
Tél. : 03 87 91 78 55  
Fax : 03 87 91 78 47  
E-mail : jean.Goudiakas@caldcrd.elf-  
atochem.fr

**HILAIRE Didier**

DGA  
Centre d'études du Bouchet  
Laboratoire de Microbiologie  
91710 VERT-LE-PETIT  
Tél. : 01 69 90 83 23  
Fax : 01 64 93 52 66

**IGNATIADIS Ioannis**

BRGM  
Avenue de Concyr  
45060 ORLEANS Cedex 2  
Tél. : 02 38 64 35 59

**LEMAITRE Christian**

Université de Technologie de Compiègne  
Division Matériaux  
Centre de Recherches  
BP 649  
60206 COMPIEGNE Cedex  
Tél. : 03 44 23 45 32  
Fax : 03 44 20 48 13  
E-mail : christian.lemaitre@utc.fr

**LEMOINE Lionel**

IFREMER  
Centre de Brest  
Laboratoire matériaux Marins  
BP 70  
29280 PLOUZANE  
E-mail : Lionel.Lemoine@ifremer.fr

**LÉVI Yves**  
**CIRSEE**  
 Lyonnaise de Eaux  
 Avenue du Président Wilson  
 78230 LE PECQ  
 Tél. : 01 34 80 23 71  
 Fax : 01 34 80 09 01

**MAGOT Michel**  
**SANOFI RECHERCHE**  
 (Groupe Elf Aquitaine)  
 Centre de Labège  
 Unité de Microbiologie - BP 137  
 31676 LABÈGE Cedex  
 Tél. : 05 61 00 40 66  
 Fax : 05 61 00 40 01  
 E-mail : michel.magot@tls1.elfsanofi.fr

**MICHAUT Cécile**  
 5 rue de Coupière  
 91190 Gif-sur-Yvette  
 Tél. : 01 69 07 02 46

**NOËL Didier**  
**EDF/DER-RNE/EMA**  
 1 avenue du Général de Gaulle  
 92141 CLAMART Cedex  
 Tél. : 01 60 73 63 19  
 Fax : 01 60 73 68 89

**PÈBÈRE Nadine**  
 École Nationale Supérieure de Chimie  
 CNRS Laboratoire des Matériaux  
 118 route de Narbonne  
 31077 TOULOUSE Cedex  
 Tél. : 05 61 17 56 65  
 Fax : 05 61 17 56 00

**ROQUEBERT Marie-France**  
 Muséum National d'Histoire Naturelle  
 Laboratoire de Cryptogamie  
 12 rue Buffon  
 75005 PARIS  
 Tél. : 01 40 79 31 94  
 fax : 01 40 79 35 94  
 E-mail : roqueber.@mnhn.fr

**SCHWARTZ F.**  
 Elf Atochem  
 C.R.D.E  
 BP 61005  
 57501 SAINT-AVOLD Cedex  
 Tél. : 03 87 91 74 61  
 Fax 03 87 91 78 47

**SEBELIN A.**  
 Elf Atochem  
 C.R.D.E, BP 61005  
 57501 SAINT-AVOLD Cedex  
 Tél. : 03 87 91 74 81  
 Fax : 03 87 91 78 47

**TACHÉ Guy**  
**CEBTP**  
 Département Matériaux  
 Domaine de Saint Paul, BP 37  
 78470 SAINT-REMY-LES-CHEVREUSE  
 Tél. : 01 30 85 21 18  
 Fax : 01 30 85 21 83

**TAPPER Rudy**  
 University of Portsmouth  
 School of Pharmacy -Biomedical Science  
 Chemistry-Physics and Radiography  
 St Michael's Building, White Swan Road,  
 PORTSMOUTH PO1 2DT- UK

**THIERRY Dominique**  
**SCI**  
 Roslagsvagen 101, Hus n°25  
 S-10405 STOCKHOLM  
 SUEDE

**TRÉMILLON Jean-Michel**  
**ALPHACAN**  
 Elysée 2 - BP n°2  
 12-18 avenue de la Jonchère  
 78170 LA CELLE- SAINT-CLOUD  
 Tél. : 01 30 82 59 53  
 Fax : 01 30 82 59 42

**VANMAELE P.**  
**LABORELEC**  
 Eaux de réfrigération et effluents liquides  
 Rue de Rhode, 125  
 B-1630 LINKEBEEK-Belgique  
 Tél. : 00 32 2 382 04 29  
 Fax : 00 32 2 382 02 41

---

© EDP Sciences 1998

---

Imprimé en France.- JOUVE, 18 rue Saint-Denis, 75001 PARIS  
Dépôt légal : mai 1998